



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en Óptica y Optometría

MEMORIA TRABAJO FIN DE GRADO TITULADO

Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

Presentado por Silvia Hernando Sancho
Tutelado por Raquel Muñoz Martínez

Tipo de TFG: Revisión

En Valladolid a 28 de mayo de 2020

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN	2
1. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y SUS DERIVADOS.....	3
2. ESTRUCTURA DE LA RETINA Y EL PROCESO DE TRANSDUCCIÓN VISUAL.....	6
2.1. ESTRUCTURA DE LA RETINA.....	6
2.1.1. Fotorreceptores.....	7
2.2. EL PROCESO DE TRANSDUCCIÓN VISUAL EN LOS BASTONES...8	
2.2.1. Estructura de la rodopsina.....	8
2.2.2. Isomerización del 11-cis-retinal y activación de la rodopsina.....9	
2.2.3. La cascada de señalización visual.....	10
3. EL ÁCIDO DOCOSAHEXANOICO (DHA) EN EL OJO.....	11
3.1. EL DHA EN EL OJO: SU INCORPORACIÓN Y TRANSPORTE.....	11
3.2. EL TRANSPORTE DE DHA DE LA MADRE AL FETO.....	12
4. EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 EN LA VISIÓN.....	14
4.1. EFECTOS DEL DHA EN LA TRANSDUCCIÓN VISUAL.....	14
4.2. BENEFICIOS DEL DHA EN LA VISIÓN DURANTE LA GESTACIÓN Y LA INFANCIA.....	15
CONCLUSIONES.....	18
BIBLIOGRAFÍA.....	19

RESUMEN

El α -linolénico y el linoleico son ácidos grasos esenciales y se tienen que obtener en la dieta. A partir de ellos se forman otros ácidos grasos poliinsaturados en el hígado. El ácido docosahexanoico (22:6 ($\Delta^{4,7,10,13,16,19}$), ω -3, DHA) se forma a partir del ácido graso α -linolénico y también lo ingerimos con el alimento. El DHA se incorpora en fosfolípidos de las membranas celulares, y en respuesta a señales puede emplearse en la formación de mediadores citosólicos con papeles anti-inflamatorios.

La madre aporta al feto y al recién nacido, ácidos grasos esenciales y DHA a través de la placenta y de la lactancia. Durante el desarrollo del cerebro y del ojo, el DHA se acumula en una cantidad considerable en la corteza visual del cerebro y en los discos membranosos de los fotorreceptores de la retina. En la membrana de estos discos se localiza el pigmento visual rodopsina, constituido por la proteína opsina y el cromóforo 11-cis-retinal. Cuando la rodopsina absorbe un fotón, se produce la fotoisomerización del 11-cis-retinal a todo-trans-retinal y la rodopsina se activa, iniciándose el proceso de transducción visual que señala al cerebro. El DHA, por su elevado grado de insaturación (6 dobles enlaces), y su elevada concentración, aporta una gran fluidez a la membrana de los discos, favoreciendo el proceso de fototransducción. Una alteración en el contenido de DHA puede producir una alteración de la capacidad visual.

Se ha determinado experimentalmente que los recién nacidos prematuros presentan un déficit importante de DHA, que no puede compensarse con la lactancia materna. La suplementación prolongada con fórmulas enriquecidas en DHA, tras el nacimiento, les permitió adquirir una función y agudeza visual semejantes a las de un adulto normal.

Una forma de evaluar la función visual es a través del empleo del electroretinograma (ERG), y de la determinación de la agudeza visual, mediante la agudeza de rejilla, siguiendo métodos conductuales o mediante la determinación de los potenciales visuales evocados.

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

INTRODUCCIÓN/ JUSTIFICACIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3, y en concreto el ácido docosahexanoico ((22:6 ($\Delta^{4,7,10,13,16,19}$), ω -3, DHA), presentan una función esencial en el desarrollo de la visión y del sistema nervioso durante la gestación y en los primeros años de vida.

El DHA presenta una concentración muy elevada en la retina y en el cerebro, en comparación con otras partes del organismo, lo que indica una acumulación preferente y selectiva en estas localizaciones. El epitelio pigmentario de la retina tiene un papel importante en el mantenimiento de los niveles de DHA en las membranas discuales de los segmentos externos de los fotorreceptores de la retina. El DHA aporta a estas membranas una gran fluidez, lo que favorece la activación de la rodopsina y el proceso de fototransducción que finaliza con la señalización al cerebro.

Una alteración en el contenido de DHA durante la gestación o en la primera infancia, puede producir una alteración de la función y la agudeza visual. Este hecho se ha comprobado con bebés prematuros.

Por tanto, la revisión de este tema puede facilitar al óptico-optometrista la comprensión de los mecanismos llevados a cabo durante la transducción visual, los cuales están favorecidos con la presencia de niveles adecuados de DHA en la retina. Así, como conocer la importancia, de la transferencia de nutrientes materno-fetal en la gestación y durante la lactancia, para el desarrollo del sistema visual del niño. De esta forma se podría recomendar a las pacientes gestantes, durante el último trimestre del embarazo y a las madres lactantes durante las primeras 18 semanas de vida tras el nacimiento del bebé, consumir una dieta rica y equilibrada de ácidos grasos poliinsaturados y explicarles la relación entre su consumo y la función visual del feto o del niño en sus primeros años.

1. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y SUS DERIVADOS

Los ácidos grasos son biomoléculas lipídicas cuya fórmula básica es: $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$. Son moléculas anfipáticas, ya que están formadas por una cadena hidrocarbonada apolar hidrófoba, que repele el agua, y un grupo carboxilo terminal, que es la parte hidrófila que interactúa con el agua.

A partir del ácido graso saturado palmítico 16:0 (Figura 1), los humanos podemos formar los ácidos grasos mono-insaturados: palmitoleico 16:1(Δ^9) y oleico 18:1(Δ^9), pertenecientes a la familia de ácidos grasos omega-9 (ω -9), cuyo primer doble enlace está entre los carbonos 9 y 10, contados a partir del carbono del grupo metilo de la cadena, que es el carbono más alejado del grupo funcional carboxílico. El ácido graso α -linolénico 18:3 ($\Delta^{9,12,15}$) y el linoleico 18:2 ($\Delta^{9,12}$) (Figura 1) son ácidos grasos poli-insaturados pertenecientes a las familias de ácidos grasos omega 3 (ω -3) y omega 6 (ω -6) respectivamente, al presentar su primer doble enlace entre el tercer carbono y el cuarto y entre el sexto y el séptimo carbono desde el metilo terminal de la cadena. El α -linolénico y el linoleico son ácidos grasos esenciales para el ser humano, ya que no los puede sintetizar, al carecer de las enzimas específicas para introducir insaturaciones en las posiciones ω -3 y ω -6, por lo que deben ser obtenidos a través de la dieta (Tabla 1).^{1,2}

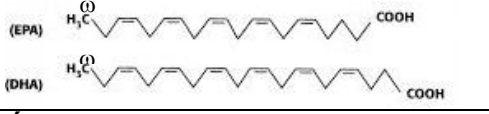
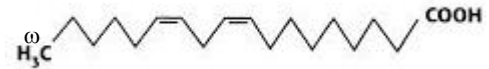

TIPO DE ÁCIDO GRASO	FUENTE ALIMENTARIA
Ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico 	Pescado azul (atún, salmón, sardina, arenque, anchoa) Aceite de pescado Plancton Crustáceos planctónicos
Ácido linoleico 	Margarina Aceites vegetales (maíz, girasol o soja) Semillas y frutos Verduras de hoja verde
Ácido araquidónico 	Hígado Carne (grasas animales) Huevos Pescado

Tabla 1. Fuentes dietéticas de los ácidos grasos.³

A partir de los ácidos grasos esenciales α -linolénico y linoleico, tomados en la dieta, podemos formar otros ácidos grasos poli-insaturados, mediante procesos de desaturación y elongación realizados por enzimas del retículo endoplasmático liso, y a través de la participación de los peroxisomas celulares con un proceso conocido como retroconversión peroxisomal, procesos que tienen lugar principalmente en el hígado.¹ Para poder satisfacer las necesidades corporales de estos ácidos grasos poli-insaturados también se pueden obtener directamente a partir de la dieta o de suplementos alimenticios (Tabla 1).³ En la Figura 1 se muestra como el ácido α -linolénico da lugar al ácido eicosapentaenoico (20:5 ($\Delta^{5,8,11,14,17}$), ω -3, EPA) y al ácido

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

docosahexaenoico (22:6 ($\Delta^{4,7,10,13,16,19}$), ω -3, DHA). En estas conversiones participan las enzimas desaturasas $\Delta 6$ y $\Delta 5$ y elongasas. Estas mismas enzimas, también participan transformando el ácido linoleico a ácido araquidónico (20:4 ($\Delta^{5,8,11,14}$), ω -6, AA) y a ácido docosapentaenoico (22:5 ($\Delta^{7,10,13,16,19}$), ω -3, DPA). La afinidad que presenta la enzima $\Delta 6$ -desaturasa por el ácido α -linolénico ω -3 es más elevada que la que posee respecto al ácido linoleico ω -6. Por ello, si el consumo nutricional de ácido α -linolénico es muy grande, disminuye la síntesis de derivados de mayor insaturación a partir del ácido linoleico. Se estima que la proporción adecuada entre ácidos grasos ω -6 y ω -3 en la dieta debería ser de 5:1.^{1,4} En la síntesis de DHA a partir del ácido α -linolénico, el producto intermedio es el EPA, cuyas funciones fisiológicas solo parecen ser importantes cuando se consume como tal en la dieta, ya que sintetizado a partir del ácido α -linolénico su principal función es servir de intermediario para la obtención de DHA, el producto final de la vía. El producto metabólico más importante a partir del ácido linoleico es el AA. Sin embargo, en condiciones en las que exista una carencia en el consumo en la dieta de ácido α -linolénico, el producto final de la transformación del ácido linoleico es el DPA.¹

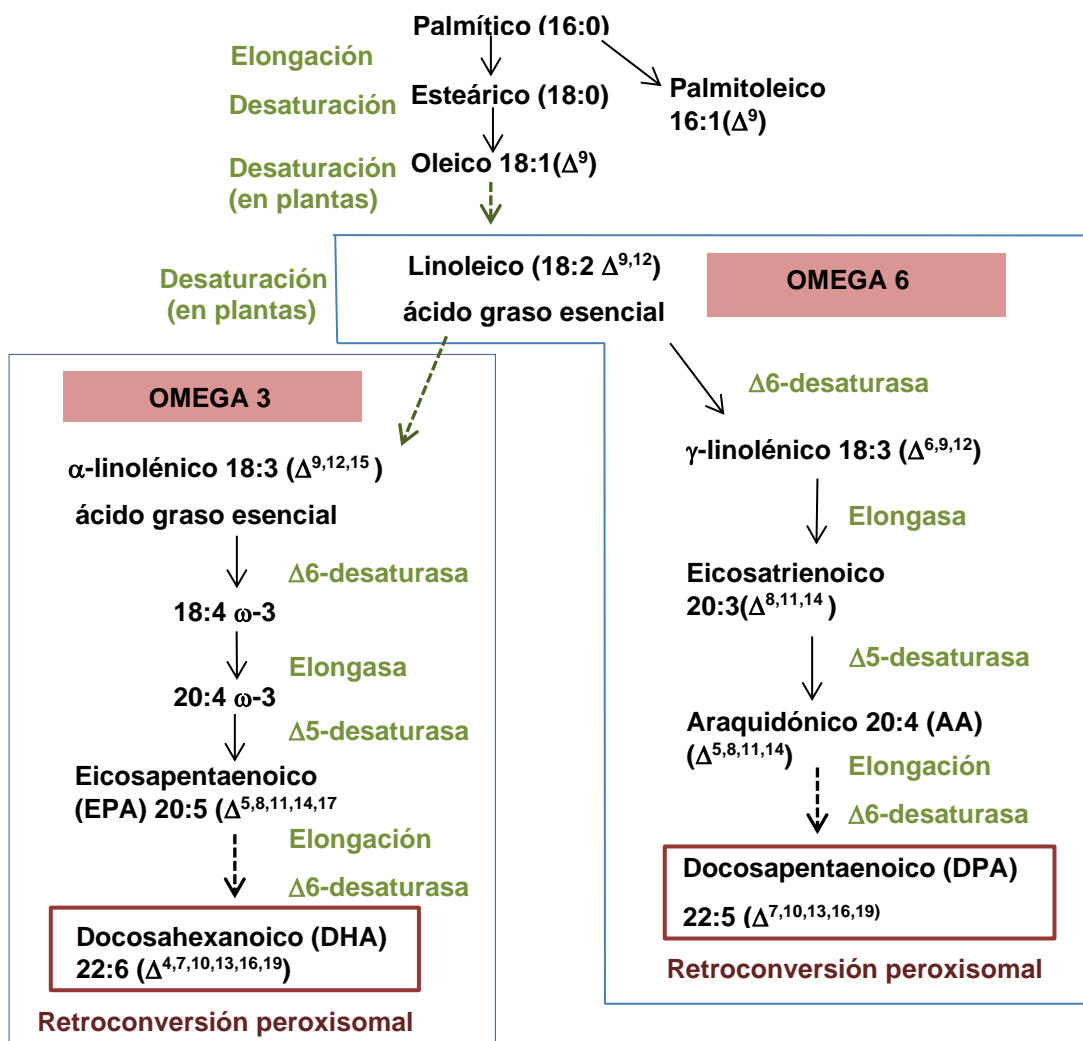


Figura 1. Síntesis de ácidos grasos insaturados y sus derivados.^{1,4}

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

Los ácidos grasos poli-insaturados, procedentes de la dieta o sintetizados “de novo” en el hígado, se incorporan en lipoproteínas que son secretadas a la sangre para su distribución a los diferentes tejidos del cuerpo.¹ En el tejido adiposo los ácidos grasos poli-insaturados se almacenan en forma de triacilglicéridos. De forma general, los ácidos grasos poli-insaturados, tras su esterificación a fosfolípidos, van a formar parte de todas las membranas celulares.^{5,6}

A partir de los ácidos grasos poli-insaturados de 20 y 22 carbonos, incluyendo el ácido graso ω -6 AA y los ácidos grasos ω -3 EPA y DHA, se pueden sintetizar mediadores lipídicos bioactivos, entre los que se encuentran, los eicosanoides: prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, producidos principalmente a partir de AA; y mediadores pro-resolutorios especializados, tales como: protectinas/neuroprotectinas y maresinas producidas a partir de DHA y resolvinas, producidas a partir de EPA y DHA, con funciones en la finalización de respuestas inflamatorias, favoreciendo la resolución y la recuperación de la homeostasis en procesos de daño tisular.^{5,6} Por su parte, los eicosanoides son moléculas de señalización, que actúan en las células donde se sintetizan y en las células adyacentes, a través de la unión a receptores específicos. La producción elevada de eicosanoides, está relacionada con muchos procesos patológicos, ya que presentan funciones en la modulación de procesos inmunológicos, en la inflamación, la contracción del músculo liso y en la función renal. Cuando aumenta la proporción de ácidos grasos poli-insaturados ω -3 DHA y EPA, que forman parte de los fosfolípidos de las membranas de las células, disminuye en consecuencia la proporción de AA en dichos fosfolípidos. En consecuencia, la síntesis de mediadores lipídicos se altera en favor de mediadores pro-resolutorios de daño tisular.⁵

Por lo tanto, los ácidos grasos ω -3 van a tener beneficios en la salud humana. Así son beneficiosos para el corazón, presentando acciones antiinflamatorias y anticoagulantes, reduciendo el nivel de colesterol y triacilglicéridos y disminuyendo la presión sanguínea. Además, pueden reducir los riesgos y síntomas de la diabetes, del ictus, algunos cánceres, artritis reumatoide, asma, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerativa y del deterioro mental. Por tanto, es importante que todo el mundo pueda ingerirlos de forma suficiente.^{3,5}

Es importante destacar que el ácido graso ω -3 DHA, el último producto de la transformación del ácido graso esencial α -linolénico, presenta una concentración muy elevada en la retina y en el cerebro en comparación con otras partes del organismo. El DHA es el principal ácido graso presente en las membranas discales de los segmentos externos de los fotorreceptores de la retina.⁶

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

2. ESTRUCTURA DE LA RETINA Y EL PROCESO DE TRANSDUCCIÓN VISUAL

2.1 ESTRUCTURA DE LA RETINA

Para que tenga lugar el proceso de la visión, la energía luminosa debe atravesar los medios transparentes y refringentes del globo ocular y llegar a la parte posterior de la retina, o retina sensitiva, donde se transforma en señal eléctrica, que es transmitida al cerebro, a través del nervio óptico, para la percepción de los objetos.⁷

La retina sensitiva, está compuesta por el epitelio pigmentario (Figura 2), el cual, en su porción apical se relaciona estrechamente con la retina neurosensorial a través de microvellosidades que contactan con los segmentos externos de los fotorreceptores (conos y bastones), y en su porción basal, se encuentra adyacente a la coroides y separado de ella por la membrana de Bruch. La coroides, a su vez se encuentra adyacente a la esclera, la capa más externa del ojo.⁸

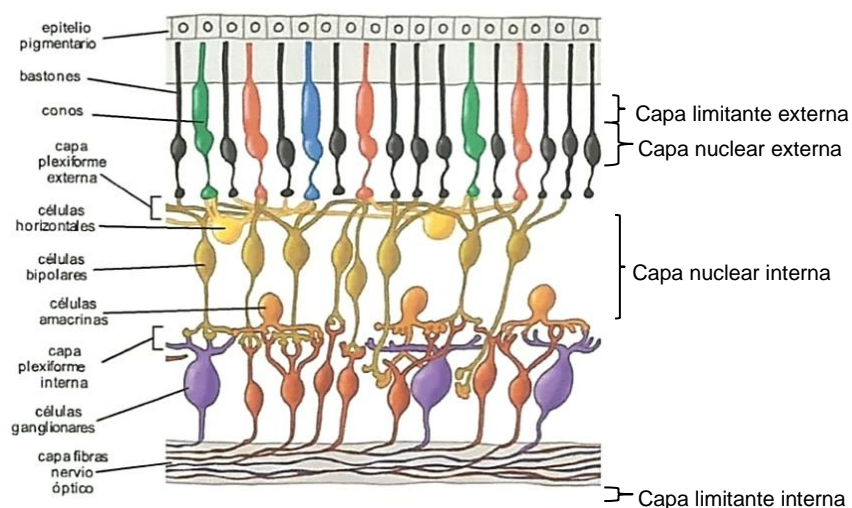


Figura 2. Esquema de las capas celulares de la retina.⁸ Con modificaciones.

La retina neurosensorial está constituida por nueve capas de células (Figura 2): capa de células fotorreceptoras (compuesta por los segmentos más externos de conos y bastones), capa limitante externa (compuesta por las uniones intercelulares entre las células fotorreceptoras y las células de Müller), capa nuclear externa (compuesta por los núcleos celulares de conos y bastones), capa plexiforme externa (en la que se localiza la conexión sináptica entre células fotorreceptoras y bipolares), capa nuclear interna (compuesta por los núcleos celulares de las células horizontales, bipolares y amacrinas), capa plexiforme interna (lugar de conexión sináptica entre células bipolares, amacrinas y ganglionares), capa de células ganglionares (compuesta por los núcleos de las células ganglionares), capa de fibras del nervio óptico (constituida por los axones de células ganglionares que componen el nervio

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

óptico, el cual sale del globo ocular y lleva la información visual al cerebro), capa limitante interna (capa de separación entre la retina y el nervio óptico).⁸

Los conos y bastones están distribuidos por toda la retina. En la porción central de la retina existen sobre todo conos, mientras que en la retina periférica predominan los bastones. La porción central de la retina, contiene la mácula, que comprende la foveola, la fovea y la región parafoveal. El área donde existe una concentración muy elevada de conos y una ausencia de bastones se conoce como fovea. Junto con estas células neuronales, encontramos tres tipos de células gliales: microglia, astrocitos y las células de Müller.⁸

2.1.1. Fotorreceptores

Las células responsables de la fotorrecepción son los conos y los bastones. En la retina, existen aproximadamente 6 millones de conos, especializados en la visión diurna y en la percepción de los colores y 120 millones de bastones, que se activan en condiciones de baja luminosidad y no perciben los colores. Los fotorreceptores, presentan en su estructura varias partes: el segmento externo, donde tiene lugar el proceso de transducción visual, un cilio de conexión, el segmento interno con gran cantidad de mitocondrias y otros orgánulos, lo que da idea de la elevada actividad metabólica de estas células, y por último el terminal sináptico que contiene numerosas vesículas sinápticas, dentro de las que se encuentran almacenados los neurotransmisores (Figura 3).^{9,10}

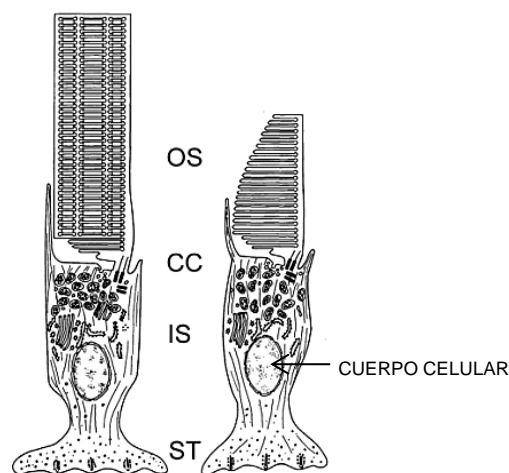


Figura 3. Morfología de bastones (izqda.) y conos (dcha.), en los cuales: OS: segmento externo; CC: cilio de conexión; IS: segmento interno; ST: terminal sináptico. Entre el terminal sináptico y el segmento interno, se localiza el cuerpo celular, que contiene el núcleo.¹⁰ Con modificaciones.

El segmento externo de los bastones tiene una estructura cilíndrica, y está formado por un apilamiento de discos rodeados por membrana y libres en el citoplasma; en la membrana de estos discos se localiza el pigmento visual rodopsina, constituido por la proteína opsina y el cromóforo derivado de la vitamina A, 11-cis-retinal, que presenta una longitud de onda de absorción (λ) de entre 400 a 600 nm. El segmento externo de los conos, tiene una estructura

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

cónica y está constituido por discos apilados, que son repliegues de la membrana plasmática con la que mantienen continuidad. Podemos distinguir tres tipos de conos en función del tipo de proteína fotorreceptora (opsina): uno que absorbe luz azul (λ máxima de 455nm), otro que absorbe luz verde (λ máxima de 530nm) y el tercero, que absorbe luz roja (λ máxima de 625nm). En todos ellos, el cromóforo es el 11-cis-retinal.^{9,11}

El segmento externo se encuentra unido al segmento interno a través del cilio de conexión, que tiene un papel importante en la morfogénesis de los discos membranosos. Los discos de los fotorreceptores se forman por evaginación de la membrana plasmática a nivel del cilio de conexión. La rodopsina, opsinas y otras proteínas, formadas en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi del segmento interno, se transportan en vesículas y se fusionan con la membrana plasmática recién sintetizada a nivel del cilio de conexión.^{10,12} La renovación de los discos membranosos de los fotorreceptores se consigue mediante dos procesos opuestos, que se llevan a cabo de forma continuada, la morfogénesis en el cilio de conexión y un desprendimiento del extremo apical del segmento externo de los fotorreceptores, seguida de su fagocitosis por las células del epitelio pigmentario de la retina.¹⁰ La renovación completa de los segmentos externos de los bastones lleva entre 9 y 10 días. En el caso de los conos, aunque la fagocitosis de los segmentos externos ocurre de manera similar, sus membranas y las proteínas integrales de membrana son más estables y la renovación se realiza en la oscuridad.¹²

2.2 EL PROCESO DE TRANSDUCCIÓN VISUAL EN LOS BASTONES

2.2.1 Estructura de la rodopsina

La rodopsina, pigmento visual de los bastones, es una proteína transmembrana compleja, formada por una fracción proteica de 348 aminoácidos (la opsina), que está unida a su grupo prostético, 11-cis-retinal, el cual proporciona el color rojizo a la rodopsina. La rodopsina pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G que se caracterizan por presentar en su estructura un dominio transmembrana, formado por siete hélices α -helicoidales que atraviesan la membrana (cilindros amarillos Figura 4a), un dominio citoplasmático, que pertenece al extremo C-terminal y un dominio localizado en la luz del disco membranoso, que pertenece al extremo N-terminal.^{13,14} La unión de la opsina con su grupo prostético es esencial para su actividad. Para esta unión, el grupo amino de una lisina de la proteína (Lys-296) reacciona con el grupo carbonilo del 11-cis-retinal formando una base de Schiff. El 11-cis-retinal se localiza orientado horizontalmente en la membrana del disco para optimizar la interacción con los fotones (Figura 4b).^{14,15}

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

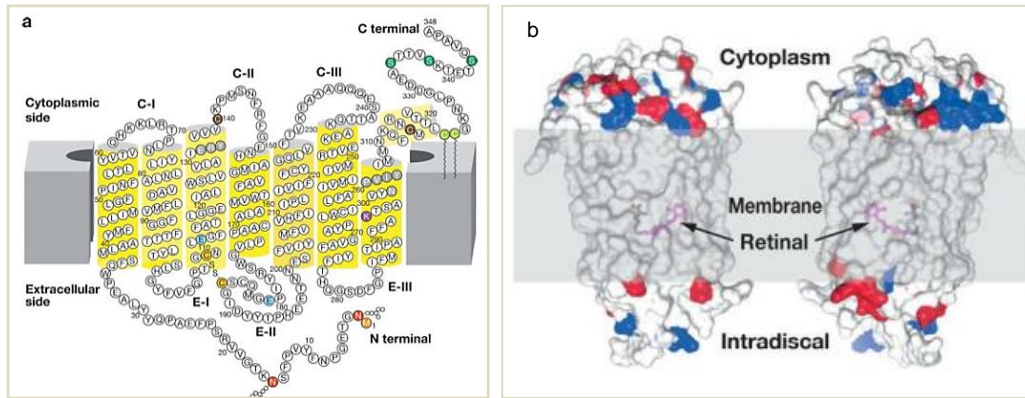


Figura 4. (a) Estructura bidimensional de la rodopsina. C-I, C-II, y C-III corresponden a los bucles citoplasmáticos, y E-I, E-II y E-III corresponden a bucles extracelulares. (b) Ubicación del 11-cis-retinal en relación con la bicapa de la membrana.¹⁴ Con modificaciones.

2.2.2 Isomerización del 11-cis-retinal y activación de la rodopsina.

En la oscuridad, la rodopsina contiene el cromóforo 11-cis-retinal unido a la Lys-296 en un enlace de base de Schiff protonado. Cuando la rodopsina absorbe un fotón, se produce la fotoisomerización del 11-cis-retinal a todo-trans-retinal (Figura 5a). Este cambio en la estructura del cromóforo provoca cambios en la conformación de la rodopsina, que la convierten en su forma activa. La reacción de fotoisomerización es extremadamente rápida y produce una serie de intermediarios estructurales: batorodopsina, lumirrodopsina, metarrodopsina I (Figura 5b), que culminan en la formación de la conformación activa de la rodopsina denominada metarrodopsina II. Durante la transición de metarrodopsina I a II se produce la desprotonación de la base de Schiff. La metarrodopsina II es muy inestable y finalmente se produce la disociación del todo-trans-retinal de la opsina.^{16,17}

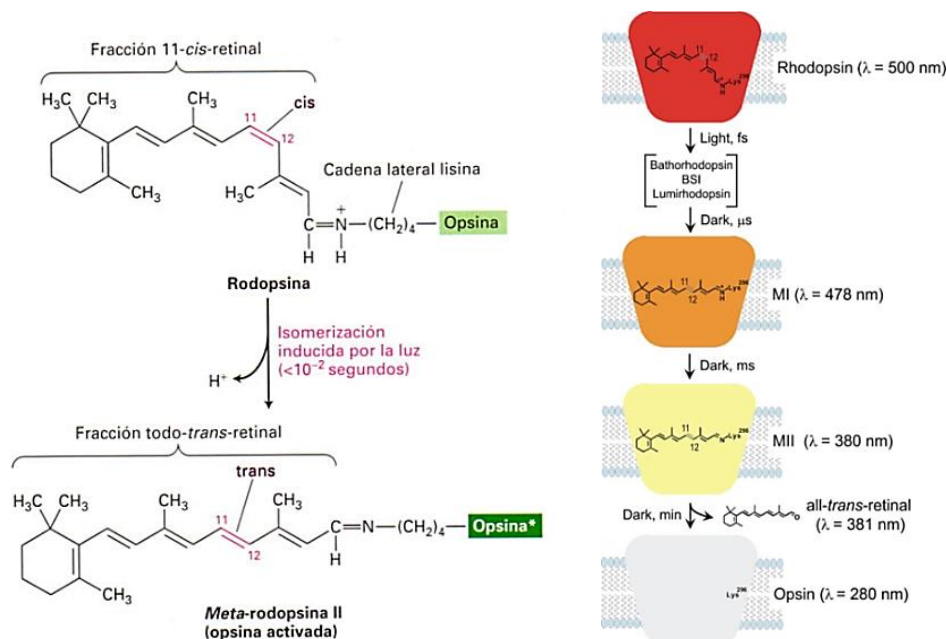


Figura 5. a) Fotoisomerización del cromóforo 11-cis retinal a todo-trans-retinal y activación de la rodopsina. b) Representación esquemática de los diferentes intermediarios formados durante la activación de la rodopsina por un fotón de luz.^{13,17}

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

2.2.3 La cascada de señalización visual

En la cascada de señalización visual (Figura 6), la rodopsina activada (Metarodopsina II), interacciona con la transducina, proteína G con 3 subunidades (α, β, γ), y permite el intercambio del nucleótido GDP, unido a la subunidad α , por GTP, lo que conlleva la separación de las subunidades β y γ . La subunidad α de la transducina unida a GTP, activa a la enzima fosfodiesterasa que cataliza la hidrólisis del nucleótido cíclico cGMP a GMP. Debido a ello, los niveles de cGMP disminuyen, lo que provoca el cierre de los canales iónicos de entrada de Na^+ y Ca^{2+} , regulados por cGMP, y localizados en la membrana del segmento externo de los bastones, dando lugar a un cambio en el potencial de membrana, que se hiperpolariza.¹⁶ Como resultado, se inicia la respuesta visual, disminuye la secreción del neurotransmisor glutamato en la zona sináptica del bastón, por lo que se deja de inhibir a las células bipolares. Como la sinapsis con las células bipolares es inhibitoria, se forma un impulso nervioso que luego es modulado por las células horizontales, y es transmitido a las células amacrinas y ganglionares para ser procesado. Por último, a través de los axones de las células ganglionares, que constituyen el nervio óptico, se transmite al cuerpo geniculado lateral y a la corteza visual del lóbulo occipital, donde se procesa la imagen. En los conos, el proceso de señalización se lleva a cabo de forma semejante.^{9,11}

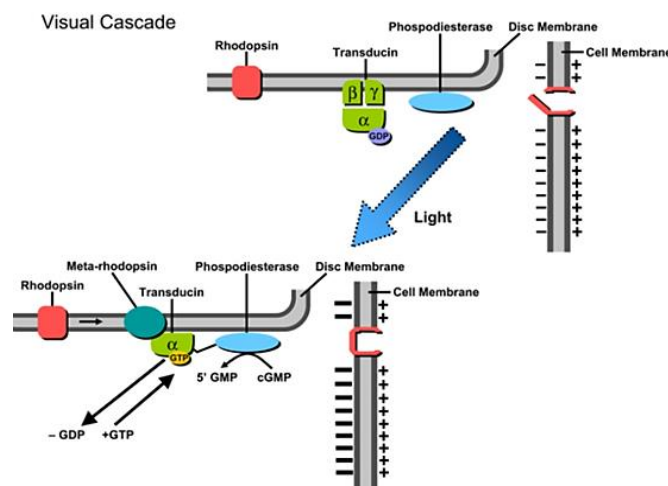


Figura 6. Cascada de señalización visual.¹¹

Una vez realizado el proceso, el fotorreceptor vuelve a su estado de reposo, a través de una reacción que permite la inactivación de la rodopsina. La subunidad α de la transducina unida a GTP, hidroliza el GTP a GDP y se une con las subunidades β y γ , formando la transducina inactiva inicial, y por otra parte la rodopsina es inactivada a través de una serie de reacciones bioquímicas que conducen a la separación del todo-trans-retinal de la opsina.^{9,18} El todo-trans-retinal sale del segmento externo del bastón y se desplaza a través de la matriz interfotorreceptora al epitelio pigmentario de la retina donde se transformará en 11-cis-retinal. El 11-cis-retinal formado es transportado de vuelta a los bastones, donde se une a la opsina para formar el pigmento visual, rodopsina. De esta forma el fotorreceptor vuelve a su estado inicial y puede comenzar un nuevo ciclo visual.^{19, 20}

3. EL ÁCIDO DOCOSAHEXANOICO (DHA) EN EL OJO

3.1 EL DHA EN EL OJO: SU INCORPORACIÓN Y TRANSPORTE

El DHA circula por la sangre formando parte de lipoproteínas, o como un ácido graso libre. Se localiza también en todas las membranas de las células formando parte de lípidos complejos, tales como fosfolípidos, que presentan un alto contenido de DHA.⁵ En los mamíferos, el DHA se acumula en concentraciones altas en determinados tejidos. Así, es el principal ácido graso presente en los discos membranosos de los segmentos externos de los fotorreceptores de la retina. En estas membranas, el DHA puede formar parte de aproximadamente el 50% de sus fosfolípidos, y una vez incorporado, es retenido tenazmente.²¹

Los ácidos grasos que forman parte de nuestras células pueden ser de origen dietético o de origen celular. Los ácidos grasos esenciales y poliinsaturados de cadena larga, de origen dietético, se encuentran esterificados en los alimentos como triacilgliceroles (grasas). En el proceso de digestión, los ácidos grasos se hidrolizan de los triacilgliceroles por acción de la lipasa pancreática, y se produce la absorción de estos lípidos de la dieta por los enterocitos, que tapizan el epitelio intestinal. Los ácidos grasos esenciales y poliinsaturados de cadena larga, entre los que se encuentra el DHA, se reesterifican formando triacilglicéridos y fosfolípidos dentro de los enterocitos y se integran, junto con otros lípidos de la dieta, en los quilomicrones, que son secretados al sistema linfático, y pasan a la circulación sanguínea dirigiéndose a tejidos, en los que se liberan ácidos grasos para servir como fuente de energía o para el almacenamiento. Los quilomicrones retornan finalmente al hígado como remanentes de quilomicron. En cuanto al DHA de origen celular se sintetiza principalmente dentro del hígado a partir del ácido α -linolénico 18:3 ($\Delta^{9,12,15}$). En el hígado, el DHA, sintetizado *de novo*, junto con el DHA procedente de la dieta, y descargado al hígado en los remanentes de quilomicron, se esterifica en fosfolípidos y triacilgliceroles que son empaquetados en lipoproteínas de muy baja densidad VLDL, que se transportan y distribuyen en el organismo a través de la circulación sanguínea.^{5,22}

En la Figura 7 se muestra el transporte del DHA, procedente de la dieta y el formado por el hígado, a la retina dentro de las lipoproteínas; a este circuito de transporte de DHA se le denomina *bucle largo*. El DHA es tomado selectivamente, en la superficie basal de las células del RPE, a través de una proteína integral de membrana, recientemente encontrada, la adipo R1.²³ El DHA se puede almacenar temporalmente en el interior de las células del RPE o se libera a la matriz interfotorreceptora donde se une a proteínas y se transporta a los segmentos internos de los fotorreceptores; a este circuito de transporte de DHA se le denomina *bucle corto* (Figura 7). La proteína de membrana adipo R1 permite la entrada selectiva del DHA al segmento interno de los fotorreceptores.⁵ Dentro del segmento interno, el DHA se esterifica en fosfolípidos, que son empleados para formar los discos membranosos, en los que se integran la rodopsina y otras proteínas. La formación de los discos membranosos se produce a nivel del cilio de conexión, tal como se había

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

explicado en el apartado 2.1.1. El ácido graso DHA representa una proporción mayor del 50% del total de ácidos grasos que forman los fosfolípidos de las membranas discales.²³ Con el tiempo, los discos se trasladan a la punta apical del segmento externo y son fagocitados por las células del RPE, cuya principal función es el mantenimiento de los fotorreceptores (Figura 7). De esta forma, el DHA procedente de la degradación de los fosfolípidos, ricos en DHA contenidos en los fagosomas, se reintroduce inmediatamente en la ruta de reciclaje, junto con el DHA procedente del *bucle largo*, para ser reutilizado. Las células del epitelio pigmentario de la retina tienen un papel muy importante en permitir la entrada selectiva de DHA dentro de la retina, de liberarlo a los fotorreceptores y de conservarlo a través del reciclaje.²³

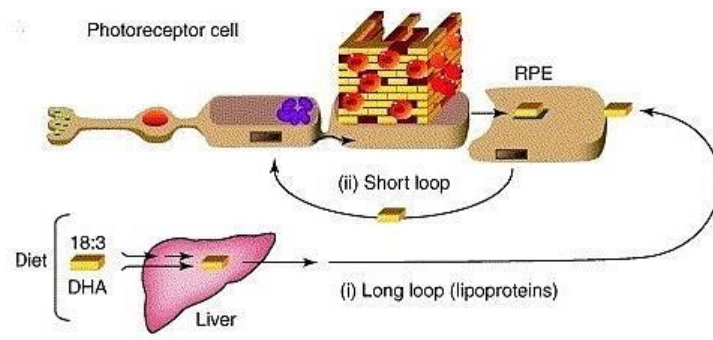


Figura 7. Entrada y conservación del DHA en los fotorreceptores. Los discos membranosos del segmento externo de los fotorreceptores se representan como apilamientos de ladrillos de DHA, en los que se encuentra inmersa la proteína rodopsina (rojo).²² Con modificaciones.

3.2 EL TRANSPORTE DE DHA DE LA MADRE AL FETO

La madre, en el período de gestación y tras el nacimiento, es la encargada de aportar los ácidos grasos esenciales, en especial poliinsaturados de cadena larga, a través de la placenta, al feto y a través de la lactancia al recién nacido.^{5,24}

Durante las primeras semanas de gestación se produce una acumulación lenta de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en el feto, que aumenta rápidamente en el último trimestre.²⁵ Durante el desarrollo del cerebro y del ojo, el único ácido graso poli-insaturado ω 3, que se acumula en una cantidad considerable es el DHA y lo hace principalmente en los fotorreceptores de la retina y en la corteza visual del cerebro. El desarrollo del cerebro y del tejido visual es, por lo tanto, especialmente sensible a una malnutrición en el último trimestre del embarazo y durante las primeras 18 semanas de vida tras el nacimiento, correspondientes al periodo de lactancia.²⁵

En la Figura 8, se muestra la concentración de DHA (como % de ácidos grasos totales) en los lípidos del plasma sanguíneo de la madre al final del embarazo y en el plasma sanguíneo del cordón umbilical en el nacimiento. El aumento en la concentración de DHA en el plasma sanguíneo fetal con respecto a la que existe en la sangre materna, se conoce como biomagnificación. El proceso de biomagnificación comienza en la semana 20 de gestación, justo en el momento de mayor demanda de DHA por el feto, a

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

partir del cual el DHA aumenta exponencialmente en la sangre del feto.⁵ El proceso de biomagnificación va acompañado de cambios adaptativos en la placenta, con el fin de garantizar el paso de DHA a la circulación fetal, y consisten en la modificación del flujo sanguíneo del cordón umbilical en función del peso del feto, mediante la formación de vellosidades intermedias al final del segundo trimestre, y de vellosidades terminales, unas semanas después, lugar fundamental del intercambio materno-fetal.²⁶ El hígado del feto y del recién nacido sí puede sintetizar DHA a partir del ácido graso poli-insaturado α -linolénico. Sin embargo, la velocidad de formación no es suficiente, para cubrir todos los requerimientos fisiológicos, debido a la inmadurez del órgano.²⁴

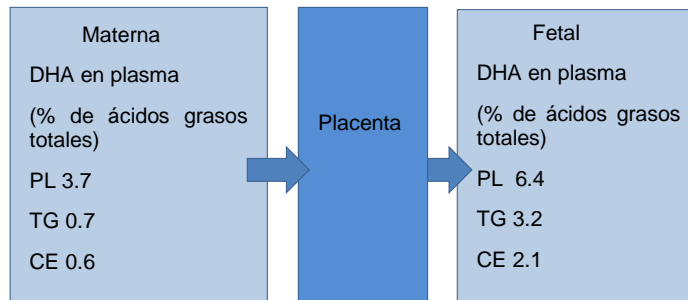


Figura 8. Concentración de DHA (como % de ácidos grasos totales) en los lípidos del plasma sanguíneo de la madre al final del embarazo y en el plasma sanguíneo del cordón umbilical en el nacimiento. PL = fosfolípidos; TG = triglicéridos; CE = éster de colesterol.⁵ Con modificaciones personales.

Si en la alimentación de la madre, hay un consumo adecuado de ácidos grasos esenciales, con una relación óptima de $\omega 6/\omega 3$, podrá aportar al feto a través de la placenta, y al recién nacido a través de la lactancia, la cantidad necesaria de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga para un desarrollo óptimo de su sistema nervioso y visual.²⁴

Los recién nacidos prematuros presentan un déficit importante de DHA. Se ha comprobado que este déficit por prematuridad no puede compensarse con el DHA proveniente de la lactancia materna. Para completar ese requerimiento, lo más aconsejable, aunque todavía debatido, podría ser incrementar el contenido de DHA en la leche materna, a través de un consumo abundante de ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ (alto consumo de pescado) por la madre o a través de una suplementación de DHA, o añadiendo dosis adecuadas de DHA directamente a la leche.²⁴

4. EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 EN LA VISIÓN

4.1 EFECTOS DEL DHA EN LA TRANSDUCCIÓN VISUAL

En el apartado 3.1 se ha explicado como el ácido graso poli-insaturado DHA (22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$) es incorporado y retenido de una forma selectiva en la retina. Las membranas de los discos del segmento externo de los fotorreceptores contienen la proporción más elevada de DHA del cuerpo. Los discos contienen también la proteína rodopsina.

Del total de lípidos que forman las membranas de los discos de los fotorreceptores, un 80-90% son fosfolípidos, el colesterol solo representa un 8-10%. El DHA está esterificado en fosfolípidos y es el ácido graso más abundante. El DHA, gracias a su elevado grado de insaturación (6 dobles enlaces) y su elevada concentración aporta una gran fluidez a la membrana de los discos, necesaria para que la rodopsina pueda sufrir, en respuesta a la luz, el cambio conformacional a Metarodopsina II activa, suceso que inicia la transducción visual.²¹

Experimentalmente se ha comprobado que la capacidad de la rodopsina para activarse a Metarodopsina II y unirse a la transducina, depende principalmente de dos características de la composición de la membrana: la presencia de lípidos con cadenas poli-insaturadas que favorecen su activación y la presencia de colesterol que estabiliza el estado inactivo de la rodopsina.^{21,27} La elevada presencia de DHA en las membranas discuales podría permitir la organización de los componentes de membrana en dominios, formando lugares óptimos para la actividad de la rodopsina y del resto de proteínas. Así, en la Figura 9 se muestra una distribución hipotética en dominios de membrana ricos en DHA y pobres en colesterol, y dominios pobres en DHA y ricos en colesterol. La rodopsina se rodea de fosfolípidos ricos en DHA que influyen favorablemente en su actividad.^{21,27}

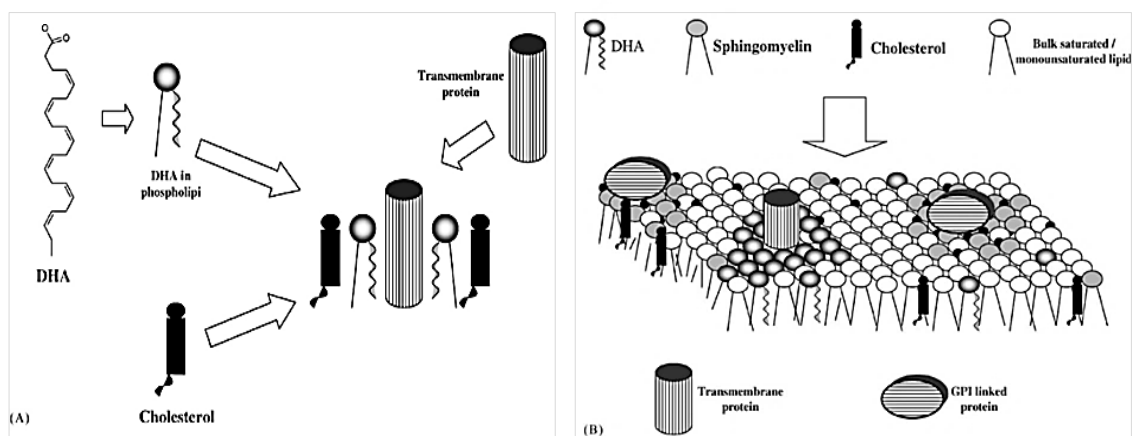


Figura 9. (A) Incorporación del DHA en la cadena de un fosfolípido, y la interacción del fosfolípido con el colesterol. (B) Formación de dominios dentro de la membrana. Interacción de la rodopsina (proteína transmembrana), con los fosfolípidos ricos en DHA.²¹ Con modificaciones.

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

Además del papel de DHA en las propiedades físicas de la membrana, que favorecen la activación de la rodopsina, se ha comprobado, mediante simulaciones computacionales dinámicas, que el DHA se une directamente a la rodopsina en regiones específicas y modula su estructura, facilitando su fotoactivación.²⁷

Por lo tanto, para una activación óptima de la rodopsina y la posterior señalización a la proteína G transducina, inducida por un fotón de luz, se necesita un nivel elevado de DHA en los fosfolípidos de las membranas discales. Por lo que una alteración en el contenido de DHA produciría una alteración de la capacidad visual.^{28,29}

4.2 BENEFICIOS DEL DHA EN LA VISIÓN DURANTE LA GESTACIÓN Y LA INFANCIA

El DHA, tal como se ha indicado en el apartado 3.2, se acumula en los fotorreceptores de la retina y en la corteza visual del cerebro, durante el último trimestre de gestación y a lo largo de la etapa postnatal hasta las primeras 18 semanas de vida, lo que tiene un papel esencial en el buen funcionamiento visual del recién nacido.

Una forma de evaluar la función visual es a través del empleo del electroretinograma (ERG). El electroretinograma es una prueba de diagnóstico que mide el cambio de potencial eléctrico que se genera íntegramente en la retina debido a la incidencia de un estímulo rápido de luz, y que puede también registrarse en la superficie de la córnea. En la Figura 10 se muestra el electroretinograma, a la llegada de un destello blanco brillante en el tiempo 0. El ERG se realizó a un mono bebe de 4 meses de edad. La hiperpolarización generada en los fotorreceptores queda reflejada en el ERG en una onda a, inicial, negativa, seguida por una onda b, positiva, de mayor tamaño, originada por la retina interna. En los análisis de ERG, es necesario aislar la respuesta de conos y bastones. Las respuestas de los conos se pueden aislar presentando estímulos de luz en condiciones fotópicas sobre un fondo que se adapta a la luz, o mediante repeticiones rápidas (> 25 Hz), que los bastones no pueden seguir porque necesitan más tiempo para recuperarse. El aislamiento de las respuestas de los bastones se facilita por su adaptación a la oscuridad y se realiza en condiciones escotópicas mediante el uso de estímulos de luz de onda corta (azul), a la que los conos son relativamente insensibles. Para aislar completamente la respuesta de la interferencia de las señales de los conos, se debe presentar el mismo destello azul, después de un estímulo brillante que sature la respuesta de los bastones, o mediante un estímulo rojo ligado fotométricamente con el destello azul, y sustraer la señal del ERG obtenido en estas condiciones, del obtenido con un destello único de luz azul (Figura 10).^{30,31}

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

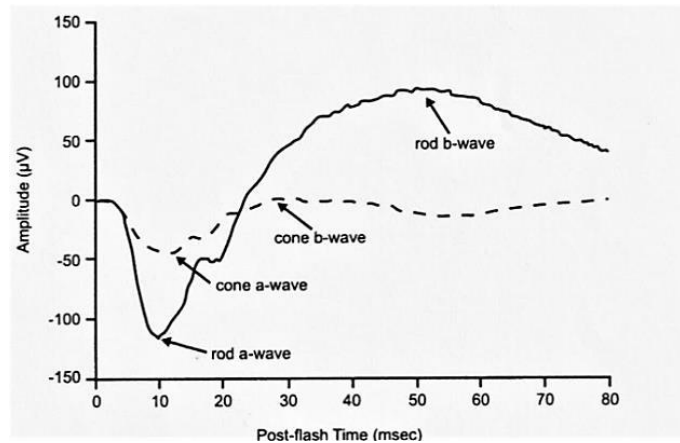


Figura 10. Representación de ERG con formas de onda aisladas de bastones (línea continua) y conos (línea discontinua). La respuesta de los conos presenta menor amplitud por haber menos conos que bastones en la retina, pero la onda b de los conos es más rápida que la de los bastones.³¹

Por otra parte, es preciso considerar la agudeza visual, que se define como la capacidad para percibir y diferenciar dos estímulos visuales separados por un ángulo (α), que indica el tamaño angular del detalle más pequeño que el sujeto puede identificar en el optotipo. La agudeza visual depende de la función de la fóvea, área muy pequeña ($\cong 1 \text{ mm}^2$) de la porción central de la retina donde existe una concentración muy elevada de conos y una ausencia de bastones. La fóvea representa menos del 1% de la superficie de la retina y, por lo tanto, contribuye escasamente al ERG de campo completo, incluso cuando se aíslan las respuestas de los conos. Por lo que, para el análisis de la función visual, hay que complementar el ERG con el estudio de la agudeza visual. La agudeza de rejilla, el umbral del espacio necesario para percibir rayas oscuras y claras, permite determinar la agudeza visual siguiendo métodos conductuales o mediante la determinación de los potenciales visuales evocados. Los métodos conductuales se basan en la preferencia del bebé para observar patrones de alto contraste y permiten determinar las rayas más pequeñas que pueden ser detectadas. Los potenciales visuales evocados corticales miden la respuesta de la corteza visual, mediante la utilización de pequeños electrodos de disco, colocados en la cabeza, que registran las señales en respuesta a un estímulo visual cambiante. Ambos métodos dependen de la transmisión de información de la retina a la corteza visual.^{30,31}

En la Figura 11 se muestran electroretinogramas representativos realizados a bebés prematuros, a las 36 y 57 semanas tras el nacimiento y bajo suplementación con leche de fórmula rica en DHA y a adultos normales. En cada caso, se observan 5 ondas diferentes que de arriba abajo corresponden a: respuesta de bastones a un destello azul de media intensidad; respuesta de conos y bastones a un destello blanco brillante estándar en oscuridad; potenciales oscilatorios aislados por destello brillante estándar; respuestas de cono a destello brillante estándar sobre fondo que suprime las respuestas de bastones; y respuestas de conos al parpadeo de luz a 30 Hz en un fondo de adaptación. La captación de DHA, por parte del feto, y su incorporación en la retina, aumenta en el último trimestre de embarazo, eso explica que la cantidad de DHA en niños prematuros sea menor. La suplementación tras el nacimiento

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

a través del consumo de leche de fórmula que contenía DHA, y el seguimiento de la función visual a través de ERG, permitió comprobar que, tras 36 semanas de consumo de la suplementación, la función visual de los bebés todavía era menor que en adultos normales. Sin embargo, tras un consumo continuado de la suplementación durante 57 semanas, tras el nacimiento, los niños adquirieron una función visual semejante a la de un adulto normal.^{30,32}

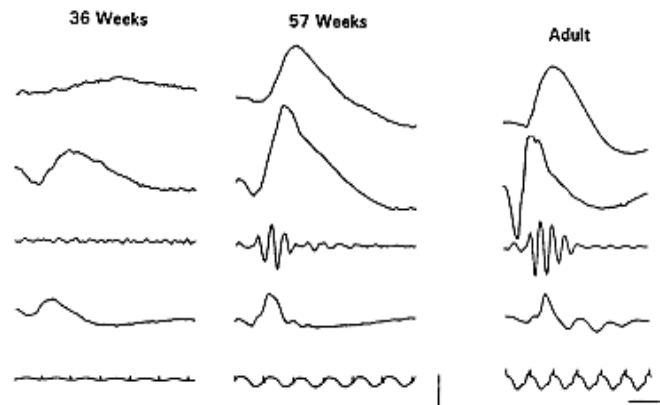


Figura 11. Ejemplos de respuestas de electroretinograma en bebés prematuros a las 36 y 57 semanas de vida tras haber seguido una suplementación con leche de fórmula rica en DHA desde el nacimiento y en adultos normales.³²

Este ensayo experimental se realizó para determinar la importancia de los ácidos grasos omega-3 en el desarrollo de la función visual, y se llevó a cabo con 83 bebés prematuros con un peso muy bajo al nacer (entre 1000-1500 gramos) que no habían sido alimentados con leche materna. Aleatoriamente, se les dividió en tres grupos y se alimentó a cada grupo mediante: una fórmula que contenía una proporción de 0.5% de ácido α -linolénico y 24.2% de ácido linoleico; otra fórmula con 2.7% de ácido α -linolénico y 20.8% de ácido linoleico; y otra fórmula experimental con 20.4% de ácido linoleico, 1.4% de ácido α -linolénico, 0.6% de EPA y 0.4% de DHA. Se realizaron estudios de ERG, y de agudeza visual mediante potenciales visuales evocados (VEP) en cada uno de los grupos. Los mayores efectos beneficiosos de la suplementación, en cuanto a la agudeza visual, que determina la función de la corteza visual, se encontraron en el grupo de bebés alimentados con la fórmula que contenía DHA.³²

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

CONCLUSIONES

El ácido graso poli-insaturado DHA (22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$) presenta una concentración muy elevada en los discos membranosos del segmento externo de los fotorreceptores, y también en el cerebro, en comparación con otras partes del organismo, lo que indica una acumulación preferente y selectiva en estas localizaciones.

La madre aporta al feto y al recién nacido, ácidos grasos esenciales y DHA a través de la placenta y de la lactancia.

El DHA aumenta la fluidez de las membranas discales de los fotorreceptores, e interacciona de forma directa con la rodopsina, estos hechos favorecen el cambio conformacional, inducido por la luz, de la rodopsina a Metarodopsina II activa, y la capacidad de esta última para unirse a la transducina, favoreciendo la transducción visual.

El DHA, presenta una función esencial en el desarrollo de la visión durante la gestación y en los primeros años de vida. Así, se ha determinado experimentalmente, empleando las técnicas de Electrorretinograma (ERG) y estudios de la agudeza visual, que los recién nacidos prematuros presentan un déficit importante de DHA, que no puede compensarse con la lactancia materna. La suplementación prolongada con fórmulas enriquecidas en DHA, tras el nacimiento, les permitió adquirir una función y agudeza visual semejantes a las de un adulto normal.

Es importante que la madre tenga una alimentación equilibrada de ácidos poli-insaturados (relación óptima de $\omega 6/\omega 3$), para poder aportar al feto y al recién nacido, la cantidad necesaria de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga para un desarrollo óptimo de su sistema nervioso y visual.

Es importante realizar estudios sobre esta temática, que puedan ayudar a los ópticos optometristas a explicar a las pacientes gestantes, y en periodo de lactancia, la importancia de llevar una dieta equilibrada y consumir de forma suficiente y equilibrada este tipo de ácidos grasos para la salud visual de sus hijos.

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Valenzuela A, Uauy R. Funciones y metabolismo de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados activos. En: Gil Á, Fontana L, Sánchez F. Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición; Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2017: Tomo I: 305-315.
2. SanGiovanni JP, Chew EY. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2005;24:87-138.
3. National Institutes of Health. Ácidos grasos Omega-3. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-DatosEnEspañol/>. (16 de diciembre de 2019).
4. Funciones y metabolismo de los ácidos grasos esenciales y de sus derivados activos. En: Fontana L, Sánchez F, Gil A Bases fisiológicas y bioquímicas de la Nutrición; Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2017: Tomo I, pag.1-611.
5. Calder PC. Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014;116:1280-1300.
6. Calder PC. The DHA content of a cell membrane can have a significant influence on cellular behaviour and responsiveness to signals. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2016;69:8-21.
7. Serrano AP, Benítez JTC, Fonseca RDCS. Fototransducción visual. *Revista Mexicana de Oftalmología*. 2006;80:340-346.
8. Kolb H. How the Retina Works. *American Scientist*. 2003; 91:28-35.
9. Lledó M, Campos E.M, Cuenca EN. La transducción visual. *Annals d'Oftalmología*. 2010;18:130-136.
10. Goldberg AFX, Moritz OL, Williams DS. Molecular basis for photoreceptor outer segment architecture. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2016;55:52-81.
11. Lien EL, Hammond BR. Nutritional influences on visual development and function. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2011;30:188-203.
12. Biochemistry and cell biology. En: Forrester J V., Dick AD, McMenemy PG, Roberts F, Pearlman E. *The eye: Basic sciences in practice*. Elsevier; 2015: 4th ed. 244-261.
13. Stryer, Lubert. Capítulo 13: Cascadas de transducción de señales. En *Bioquímica Cuarta Edición*, Reverté S.A; 2001.
14. Palczewski K. G Protein-Coupled Receptor Rhodopsin. *Annual Review of Biochemistry*. 2006;75:743-767.
15. Tsin A, Betts-Obregon B, Grigsby J. Visual cycle proteins: Structure, function, and roles in human retinal disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293:13016-13021.
16. Niu SL, Mitchell DC, Lim SY, Wen ZM, Kim HY, Salem N, et al. Reduced G protein-coupled signaling efficiency in retinal rod outer segments in response to n-3 fatty acid deficiency. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279:31098-31104.
17. Ridge KD, Palczewski K. Visual rhodopsin sees the light: Structure and mechanism of G protein signaling. *Journal of Biological Chemistry*. 2007; 282: 9297-9301.
18. Molday RS, Moritz OL. Photoreceptors at a glance. *Journal of Cell Science*. 2015;128:4039-4045.
19. Higdon J. Vitamin A. Oregon State University. <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminA/> (15 de abril de 2020).
20. W.H. Freeman. Lehninger. Principles of Biochemistry. Macmillan;2017:6ª edición.
21. Stillwell W, Wassall SR. Docosahexaenoic acid: Membrane properties of a unique fatty acid. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2003;126:1-27.
22. Bazan NG. Cell survival matters: docosahexaenoic acid signaling, neuroprotection and photoreceptors. *Trends in Neurosciences*. 2006;29:263-71.

Hernando S. Efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en la visión, especialmente durante la infancia.

23. Bazan NG. Docosanoids and eicosanoids from omega-3 fatty acids are pro-homeostatic modulators of inflammatory responses, cell damage and neuroprotection. *Molecular Aspects of Medicine*. 2018;64:18-33.

24. Molina Montes ME, Martín Islán AP. Ácidos grasos esenciales. Omega-3 y Omega-6. *Offarm*. 2010;29:66-72.

25. Lo A, Sienna J, Mamak E, Djokanovic N, Westall C, Koren G. The Effects of Maternal Supplementation of Polyunsaturated Fatty Acids on Visual, Neurobehavioural, and Developmental Outcomes of the Child: A Systematic Review of the Randomized Trials. *Obstetrics and Gynecology International*. 2012;2012:591531.

26. Haggarty P. Fatty Acid Supply to the Human Fetus. *Annual Review of Nutrition*. 2010;30:237-255.

27. Grossfield A, Feller SE, Pitman MC. A role for direct interactions in the modulation of rhodopsin by omega-3 polyunsaturated lipids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103:4888–4893.

28. Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: Methods, results, and implications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;71:256-267.

29. Innis SM. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *The Journal of Pediatrics*. 2003;143:1-8.

30. Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;71:256-267.

31. Neuringer M, Jeffrey BG. Visual development: Neural Basis and New Assessment Methods. *The Journal of Pediatrics*. 2003;143:87-95.

32. Uauy R, Birch E, Birch D, Peirano P. Visual and brain function measurements in studies of n-3 fatty acid requirements of infants. *The Journal of Pediatrics*. 1992;120:168-180.