

IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 NOS TRANSTORNOS DO ESPECTRO AUTISTA: REVISÃO SISTEMÁTICA BASEADA EM ENSAIOS CLÍNICOS RANDOMIZADOS E CONTROLADOS

IMPACT OF OMEGA-3 FATTY ACIDS SUPPLEMENTATION ON AUTISM SPECTRUM DISORDERS: SYSTEMATIC REVIEW BASED ON RANDOMIZED CONTROLLED CLINICAL TRIALS

RESUMO

Os transtornos do espectro autista (TEAs) são disfunções do desenvolvimento neurológico associadas à alteração de diversos sintomas comportamentais, nos quais se destacam a redução de interações sociais e a execução de atividades repetitivas. Atualmente, o tratamento farmacológico é limitado e parece contribuir para o desenvolvimento de morbidades cardiovasculares. Associado a esse perfil, o restrito e seletivo padrão alimentar, promove o desenvolvimento de diversas deficiências nutricionais, entre as quais, os ácidos graxos essenciais como o ômega-3 (ω -3). Nesta revisão sistemática, baseada em estudos randomizados e controlados, foram selecionados estudos realizados nos últimos 10 anos. Os resultados mostram que a heterogeneidade das populações estudadas com grande variação na dose e tipo de ω -3 administrados em tempos distintos de seguimento dificultam a avaliação precisa da eficácia da intervenção baseada no uso de ω -3. Desta forma, o uso de ω -3 como terapia adjuvante no tratamento de TEA não deve ser recomendado rotineiramente na prática clínica, apesar de sua essencialidade para o adequado desenvolvimento neurológico.

Descritores: Transtorno do Espectro Autista; Ácidos Graxos Ômega-3; Doenças Cardiovasculares; Estado Nutricional.

ABSTRACT

Autism spectrum disorders (ASDs) are neurodevelopmental dysfunctions associated with a number of altered behavioral symptoms, including reduced social interactions and the performance of repetitive activities. Pharmacological treatment is currently limited, and appears to contribute to the development of cardiovascular morbidity. Associated with this profile, a restricted and selective dietary pattern promotes the development of several nutritional deficiencies, including essential fatty acids, such as omega-3 (ω -3). In this systematic review, based on randomized controlled trials, studies performed in the last 10 years were selected. The results show that the heterogeneity of the populations studied, with wide variation in the dose and type of ω -3 administered at different times during follow-up, hinder more precise assessment of the effectiveness of the intervention based on the use of ω -3. Thus, the use of ω -3 as adjuvant therapy in the treatment of ASDs should not be routinely recommended in clinical practice, even though it is essential for proper neurological development.

Keywords: Autism Spectrum Disorders; Fatty Acids, Omega-3; Cardiovascular Diseases; Nutritional Status.

Maria Clara Hutsch Balboni¹
Marcia Maria Godoy
Gowdak²
Ismênia Marques de Souza¹
Nágila Raquel Teixeira
Damasceno¹

1. Departamento de Nutrição,
Universidade de São Paulo,
São Paulo, SP, Brasil.
2. Nutricionista do Programa de
Educação Nutricional da Escola Vera
Cruz. São Paulo, SP, Brasil.

Correspondente:

Profa Dra Nágila Raquel Teixeira
Damasceno, Departamento de
Nutrição, Faculdade de Saúde
Pública, Universidade de São Paulo,
Av. Dr Arnaldo, 715, Cerqueira César,
CEP 03178200, São Paulo, São Paulo,
nagila@usp.br

Recebido em 31/08/2018,
Aceito em 02/03/2019

INTRODUÇÃO

Os chamados Transtornos do Espectro Autista (TEA) são um grupo de doenças associadas ao neurodesenvolvimento que podem causar graves comprometimentos na socialização, comunicação e comportamento do indivíduo. O termo "autista"

foi utilizado pela primeira vez em 1908 pelo psiquiatra suíço Eugen Bleuler para descrever uma doença caracterizada pelo isolamento social de pacientes.¹ O autismo começou a ser tratado de forma oficial em 1952, após a publicação da primeira edição do Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos

Mentais (DSM-I),² que reuniu a nomenclatura padrão e critérios para o diagnóstico de transtornos mentais. Na sua terceira edição, em 1980, o autismo passou a ter uma categoria de diagnóstico separada. Em 1995, foram acrescentados ao documento diversos subtipos ao “espectro do autismo”, tais como a Síndrome de Asperger, Transtorno de Rett, Síndrome de Heller e Transtornos Invasivos do Desenvolvimento Sem Outra Especificação.² Em 2013, os TEA passaram a ser classificados pelo grau de severidade: nível 1 - necessidade de suporte, nível 2 - exigência de um apoio substancial e nível 3 - exigência de um apoio muito substancial.²

Desta forma, a doença apresenta anormalidades qualitativas nas interações sociais recíprocas e em padrões de comunicação, além de um repertório de interesses e atividades restritos, estereotipados e repetitivos.² A etiologia da doença ainda não é conhecida, mas acredita-se que seja multifatorial, resultante da interação de fatores ambientais e genéticos.^{3,4} Embora os fatores etiológicos associados aos TEA permaneçam um desafio, é crescente o número de estudos que relacionam esses transtornos com a maior incidência de diabetes mellitus, obesidade e dislipidemias.⁵ No estudo de De Vinck-Baroody et al⁶ observou-se um risco de obesidade 16% maior em indivíduos com TEA. Reforçando o potencial maior risco cardiovascular dos indivíduos com TEA, o estudo de Tyler et al⁷ monitorou 108 adultos com TEA e mostrou que 34,9% eram obesos, 31,5% tinham dislipidemias e 19,4% eram hipertensos. Essas associações foram recentemente confirmadas no estudo de base populacional realizado em Taiwan, onde adolescentes e adultos jovens com TEA mostraram incidência de 2,7 e 5,3 maiores para diabetes *mellitus*, respectivamente, que a população geral.⁸ Esses autores especularam ainda a existência de uma possível conexão fisiopatológica entre as doenças.

Evidências científicas sugerem que injúrias no pré e pós-natal, situações de privações ou problemas nutricionais, disfunções mitocondriais, estresse oxidativo, doenças gastrintestinais e disfunções imunológicas podem ter participação no desenvolvimento dos transtornos de espectro autista.⁹ De acordo com algumas investigações, a patogênese do autismo e as disfunções neurológicas e comportamentais podem estar associadas com anormalidades metabólicas maternas registradas antes e durante a gestação.¹⁰ Adicionalmente, determinadas condições congênitas parecem aumentar o risco de TEA, conforme evidenciado no estudo de Jaworski et al.¹¹, que acompanhou 198 crianças com doença cardíaca congênita durante quatro anos. Essas crianças apresentaram elevado risco de serem portadoras de TEA quando comparadas com a população pediátrica geral após a aplicação de múltiplos questionários médicos e comportamentais. Posteriormente, Tsao et al.¹², confirmaram a associação entre TEA e doença cardíaca congênita.

Nas últimas duas décadas, a incidência dos TEA tem aumentado de forma acelerada, atingindo 1 a 2% das crianças ao nível mundial.¹³ Estudos mostram que para cada três casos identificados, existem dois indivíduos não diagnosticados.¹⁴ Nos Estados Unidos, uma em cada 68 pessoas recebem o diagnóstico, enquanto que, na Coreia, a proporção é de 1:30.⁴ A prevalência é mais comum no sexo masculino, podendo afetar crianças de diferentes etnias e

condições socioeconômicas.⁴ Crianças do sexo masculino apresentam duas a três vezes maior incidência de terem TEA, sendo possivelmente o sexo um determinante da resposta genética, epigenética, endócrina e ambiental envolvida na fisiopatologia dessa desordem de neurodesenvolvimento.¹⁵ Esse aumento se deve, possivelmente, a alteração do padrão da dieta, em que há um aumento do consumo de produtos processados, industrializados e ácidos graxos saturados¹⁴ e ao desenvolvimento de critérios de diagnóstico mais amplos, tais como, limiares mais baixos para o diagnóstico clínico e idade avançada dos pais.¹⁶

Entre os comprometimentos comportamentais que caracterizam a doença, destaca-se a seletividade, recusa e indisciplina alimentar. Sabe-se que, comparado a outras populações, crianças autistas possuem cinco vezes mais seletividade alimentar.¹⁷ A alta prevalência de restrição alimentar nesta população pode trazer impactos negativos tanto para a criança, quanto para a sua família. Há relatos constantes de preocupações por parte dos pais em relação aos hábitos alimentares dos filhos,¹⁸ que podem ser acompanhados de estresse no ambiente familiar.¹⁹

Além das características de desenvolvimento da linguagem e interação social, as crianças autistas podem apresentar distúrbios gastrointestinais, como a diminuição da produção de enzimas digestivas, inflamação da parede intestinal, e alteração da permeabilidade intestinal.

Embora as pesquisas não sejam conclusivas, diversos estudos mostram que crianças autistas podem ter um risco nutricional elevado devido a essa baixa variedade alimentar. A deficiência de magnésio, vitamina B6 e ácidos graxos essenciais podem ser encontradas nestas crianças²⁰⁻²³. Na literatura, a seletividade e a falta de variedade dos alimentos têm sido relacionados com agressividade, internalização e externalização de comportamentos repetitivos, ansiedade e reatividade sensorial.^{24,25} Associa-se a esse perfil, a seletividade por determinadas pessoas e a pouca relação com grupos, fato que normalmente se associa a menor sociabilização e prática de brincadeiras e jogos coletivos durante a infância e adolescência.²⁶ Esse conjunto estereotipado de comportamentos contribui para inúmeras deficiências nutricionais, além de aumentar a ocorrência de fatores de risco cardiovasculares associados ao excesso de peso e obesidade, conforme tem sido documentado por diversos estudos.²⁷ Esse perfil tem impactado diretamente na maior incidência de doença cardiovascular em indivíduos com TEA quando comparados à população geral.²⁸

A deficiência e o efeito da suplementação dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) da família ômega-3 em crianças com TEA tem sido foco de diversos estudos.^{17,24,29} O consumo alimentar ou a suplementação de ômega-3 parece trazer benefícios em transtornos de interações sociais, comportamentos estereotipados e hiperatividade, bem como na agressividade e irritabilidade.³⁰

Apesar da possível relação entre o ômega 3 e o TEA, poucos são os mecanismos propostos e estudos clínicos randomizados e controlados realizados, embora estudos com animais indiquem que vias antioxidantes³¹ e maior incorporação de ômega-3 nas membranas celulares, fato que pode otimizar a fluidez e funcionalidade celular.³² Destaca-se o

reduzido número de estudos baseados no uso de marcadores bioquímicos e parâmetros clínicos, indicativos de eficácia da intervenção com ômega-3.

Diante do potencial risco que indivíduos com TEA apresentam para desenvolver múltiplos fatores de risco cardiovascular, o objetivo desta revisão sistemática foi identificar o estado da arte relativo ao impacto da intervenção com ácidos graxos ômega-3 sobre características cognitivas, comportamentais e fatores de risco cardiovascular de indivíduos com transtorno de espectro autista.

MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura incluindo estudos clínicos, controlados e aleatorizados desenvolvido no período de 2007 a 2017. Para a realização desta revisão foram utilizadas as bases de dados PubMed, Scielo e Lilacs e os seguintes descritores: Transtorno do Espectro Autista, ômega-3, docosahexaenoico (DHA), eicosapentaenoico (EPA), eicosapentaenoico, docosahexaenoico, ácido linolênico, autismo, crianças e adolescentes. Foram aceitos os estudos publicados em inglês, português e espanhol. Os pressupostos para identificação e seleção dos artigos baseou-se nos critérios estabelecidos pelo PRISMA (Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises)³³ e a avaliação qualitativa e crítica baseou-se nos critérios PICO (Participantes, Intervenção, Controle e Resultados – do inglês Outcomes),³⁴ descritos no Quadro 1.

RESULTADOS

A Figura 1 descreve o fluxo de artigos selecionados para a presente revisão sistemática, indicando a quantidade e motivos de exclusão de cada um (n=67).

Foram selecionados 11 artigos publicados no período de 2007 a 2017, sendo que todos preencheram o critério PICO, embora com diferentes graus de detalhamento das informações. Baseando-se nos 11 artigos selecionados observou-se que o tamanho amostral variou de 10 a 57 indivíduos, a idade variou entre 2 a 28 anos, o seguimento foi de um a seis meses e as intervenções continham suplementação exclusiva de DHA (200 mg/dia), associação de EPA e DHA (EPA: 13 mg/dia a 693 mg/dia e DHA: 60 mg/dia a 840 mg/dia), bem como associação de PUFAS, conforme descrito na Tabela 1.

Quadro 1. Critério PICO para avaliação qualitativa de ensaios clínicos controlados.

| |
|--|
| P deve fornecer informações relevantes sobre os participantes da pesquisa. Quem são os participantes da pesquisa? Sobre quem é a questão? Qual é o contexto? São pessoas enfermas? Qual é a enfermidade? Enfim, qual é a situação problema. |
| I nos informa sobre o tipo de tratamento/ação/intervenção que se está estudando, analisando. |
| C define a intervenção de comparação, que pode ser um tratamento medicamentoso, exercício físico ou suplemento nutricional. |
| O nos remete aos resultados que esperamos encontrar com o estudo. Podemos dizer que o O é o indicador clínico da modificação do estado do paciente após a intervenção. |

DISCUSSÃO

Apesar dos avanços científicos no tratamento dos transtornos de neurodesenvolvimento, estudos clínicos longitudinais ainda são escassos. Atualmente, o tratamento dos TEA é dependente de estratégias comportamentais intensivas e educacionais, introduzidas nos primeiros anos de vida.³⁵ Há mais de 50 anos, terapias psicofarmacológicas têm sido estudadas e, até o momento, somente os antipsicóticos Risperidona e o Aripiprazol foram aprovados para o controle da irritabilidade manifestada pelos indivíduos com TEA.³⁶

O uso dos antipsicóticos atípicos utilizados no tratamento dos sintomas do TEA é questionado por poderem estar associados a eventos cardiovasculares adversos.³⁷ Straus et al³⁸ realizaram uma coorte retrospectiva de sete anos de seguimento incluindo 481.744 pessoas, de 18 anos ou mais, para avaliar o risco de morte súbita associada a antipsicóticos. Os dados foram obtidos a partir das Informações Integradas da Atenção Básica (IPCI), baseados em cerca de 150 unidades hospitalares da Holanda. O estudo foi realizado antes da introdução da risperidona e, portanto, não incluiu os novos agentes atípicos. Porém, os resultados indicaram que o uso de antipsicóticos em uma população geral está associado a um risco aumentado de morte súbita cardíaca, mesmo em baixas doses e em pessoas que usam antipsicóticos para outras indicações que não a esquizofrenia.

De Winter et al³⁹ em um estudo transversal com 980 pessoas com incapacidade intelectual de *borderline* a profundo, não encontraram associação entre síndrome metabólica e o uso de antipsicóticos atípicos. Entretanto, os autores afirmaram que esses resultado provavelmente ocorreu por falta de poder estatístico, e porque não tinham informações sobre a duração do tratamento.

Numa meta-análise muito elegante de ensaios clínicos randomizados e cegos, com objetivo de comparar 15 drogas antipsicóticas e placebos no tratamento agudo da esquizofrenia (incluindo risperidona e aripiprazol), foram analisados vários desfechos, dentre eles, o ganho de peso, os efeitos colaterais extrapiramidais, o aumento de prolactina e o prolongamento do intervalo QT (duração de uma sístole elétrica). Os resultados mostraram que a paliperidona e risperidona foram associadas com aumento de prolactina em relação as outras drogas, e o aripiprazol não foi associado com prolongamento de QT. Entretanto, todos os medicamentos produziram maior ganho de peso do que o placebo.⁴⁰ Esse perfil reforça o estudo de Cashin et al⁴¹ que mostrou que indivíduos com TEA têm alta prevalência de comorbidade e risco aumentado para doenças crônicas.

Bishop-Fitzpatrick et al⁴² realizaram o primeiro estudo para caracterizar os problemas de saúde dos indivíduos com TEA usando um algoritmo de *machine learning* baseada em dados populacionais representativos de óbitos. O estudo coletou informações de 91 indivíduos com TEA falecidos e 6.186 controles comunitários que morreram desde 1979, a maioria tinha meia-idade ou eram mais adultos no momento de sua morte. Foram analisados todos os códigos CID-9, códigos V e códigos E disponíveis no setor de saúde eletrônico da Clínica Marshfield nos Estados Unidos. Os falecidos com TEA tiveram um risco aumentado de coagulopatia, insuficiência cardíaca congestiva, anemia por deficiência, distúrbios hidroeletrólitos, hipotireoidismo, paralisia, doença

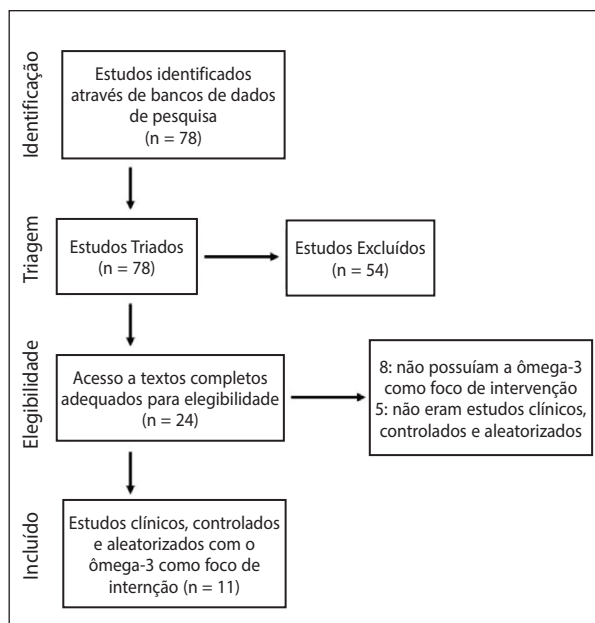


Figura 1. Fluxo de seleção de estudos aleatorizados e controlados envolvendo os transtornos do espectro autista e ácidos graxo ômega-3, segundo critérios PRISMA.

valvular e outros distúrbios neurológicos em comparação com os controles comunitários combinados. Este estudo foi de grande relevância, por ser o pioneiro na identificação de taxas elevadas de doença cardiovascular em indivíduos falecidos com TEA.

Portanto, a presente revisão reforça a importância dos estudos envolvendo tratamentos adjuvantes voltados ao controle dos TEA, que possam modificar o desenvolvimento de fatores de risco cardiovascular. A busca por alternativas para o tratamento dos TEA levantou a hipótese de que anormalidades do metabolismo de ácidos graxos poderiam estar relacionadas aos transtornos mentais. Os ácidos graxos mais investigados são os w-3 por serem considerados componentes essenciais das membranas das células nervosas e fundamentais para o desenvolvimento neurológico.⁵²

Cysneiros et al³⁷ sugerem que a suplementação com ácido graxo ômega-3 em pacientes com TEA e tratados com antipsicóticos atípicos, devido seu importante seu efeito cardioprotetor, podendo ser um importante coadjuvante no tratamento do TEA.

Neste sentido, estudos que buscam estabelecer a relação dos ácidos graxos w-3 com distúrbios de neurodesenvolvimento, tais como os TEAs, têm aumentado na literatura científica.^{36,46}

Tabela 1. Estudos selecionados para verificar o impacto da suplementação de ácidos graxos ômega-3 em indivíduos com TEA.

| Autor | Tamanho amostral | Faixa etária | Estratégia de intervenção | Seguimento | Desfechos Monitorados | Resultado |
|--------------------------------------|------------------|--------------|--|------------|--|-----------|
| amminger et al (2007) ⁴³ | 13 | 5 – 17 anos | 120mg EPA + 100mg DHA + 1mg vit. E | 6 semanas | ABC | Positivo |
| Meguid et al (2008) ⁴⁴ | 30 | 3 – 11 anos | 13mg EPA + 60mg DHA + 5mg AA + 12mg GLA | 12 semanas | CARS | Positivo |
| Meiri et al (2009) ⁴⁵ | 10 | 4 – 7 anos | 380mg EPA + 180mg DHA | 12 semanas | ATEC | Positivo |
| Bent et al (2011) ⁴⁶ | 27 | 3 – 8 anos | 350mg EPA + 230mg DHA | 12 semanas | ABC | Neutro |
| Yui et al (2011) ⁴⁷ | 13 | 6 – 28 anos | 240mg DHA + 240mg ARA + 0,96mg astaxantina | 16 semanas | ABC, ADI-R, PUFAS plasmáticos | Positivo |
| Yui et al (2012) ⁴⁸ | 13 | 6 – 28 anos | 240mg DHA + 240mg ARA + 0,96mg astaxantina | 16 semanas | ABC, SRS, transferrina plasmática e superóxido dismutase | Positivo |
| Bent et al (2014) ⁴⁹ | 57 | 5 – 8 anos | 350mg EPA + 230mg DHA | 6 semanas | ABC | Neutro |
| Voigt et al (2014) ⁵⁰ | 48 | 3 – 10 anos | 200mg DHA | 6 meses | CGI-I | Neutro |
| Mankad et al (2015) ³⁶ | 38 | 2 – 5 anos | EPA + DHA – 1500mg | 6 meses | PDDBI, BASC-2, CGI-I, VABS-II, PLS-4 | Negativo |
| Ooi et al (2015) ⁵¹ | 41 | 7 – 18 anos | 192mg EPA + 840mg DHA + 66mg AA + 144g GLA + 60mg vit. E + 3mg óleo de tomilho | 12 semanas | SRS, CBCL, amostras de sangue | Positivo |
| Parellada et al (2017) ³² | 68 | 5 – 17 anos | 693mg EPA + 462mg DHA + 2,01mg de vit. E | 8 semanas | Composição de ácidos graxos na membrana eritrocitária, antioxidantes plasmáticos, SRS, CGI-I | Positivo |

ABC: Aberrant Behavior Checklist; CARS: Childhood Autism Rating Scale; ATEC: Autism Treatment Evaluation Checklist; ADI-R: Autism Diagnostic Interview-Revised; SRS: Social Responsiveness Scale; CGI-I: Clinical Global Impression; PDDBI: Pervasive Developmental Disorders Behavioral Inventory; BASC-2: Behavior Assessment System for Children; VABS-II: Adaptive Behavior Scale; PLS-4: Preschool Language Scale; CBCL: Social and Attention Problems Syndrome Scales of the Child Behavior Checklist.

Em estudo duplo-cego, randomizado e controlado, Amminger et al⁴³ avaliaram o efeito da suplementação de 1,5g/dia de w-3 (120mg EPA/dia + 100mg DHA/dia + 1mg vit. E) em 13 crianças com TEA de 5 a 17 anos de idade, durante seis semanas. O grupo placebo recebeu cápsulas de gelatina contendo 1g de óleo de coco, 1mg de vitamina E e 1mg de óleo de peixe para mimetizar o sabor das outras intervenções. O óleo de coco foi escolhido por não conter PUFAS e não apresentar efeito no metabolismo dos ácidos graxos ômega-3. O controle foi feito através do *Aberrant Behavior Checklist* (ABC) ou Inventário de Comportamentos Autísticos (ICA), que é formado por uma lista com 57 comportamentos atípicos que são típicos dos TEA, organizados em cinco áreas: sensoriais, relacionais, imagem corporal, linguagem, interação social e autocuidado. Neste estudo, o grupo suplementado melhorou a capacidade de interação social e de argumentação. Assim, os resultados deste estudo fornecem evidência preliminar de que os ácidos graxos w-3 podem ser eficazes no tratamento de crianças com autismo.

Meguid et al⁴⁴ avaliaram o efeito da suplementação de DHA (60mg/dia), EPA (13mg/dia), AA (5mg/dia) e gama-linolênico - GLA (12mg/dia) em 30 crianças com TEA (18 meninos e 12 meninas), com idades de três a 11 anos, durante três meses. O grupo controle foi composto de 30 crianças saudáveis do mesmo sexo e idades do grupo suplementado. Para avaliar a eficácia da intervenção, foi utilizado o *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) ou Escala de Avaliação do Autismo na Infância, que contém uma escala com 15 itens e visa avaliar a interação com as pessoas, imitação, resposta emocional, uso do corpo, uso de objetos, adaptação à mudança, reação a estímulos visuais e auditivos, a resposta e uso da gustação, olfato e tato; medo ou nervosismo, comunicação verbal, comunicação não verbal, nível de atividade, o nível e a coerência da resposta intelectual e as impressões gerais. Essa ferramenta auxilia o diagnóstico e identificação de crianças com autismo, além de ser sensível na distinção entre o autismo e outros atrasos no desenvolvimento neurológico. Esse questionário tem a capacidade de diferenciar o grau de comprometimento do autismo em leve, moderado e severo. Vinte crianças do grupo suplementado apresentaram melhoras no comportamento característico do autismo, resposta considerada clinicamente relevante.

No estudo de Meiri et al⁴⁵ 10 crianças (quatro a sete anos de idade) com TEA foram suplementadas com duas cápsulas de 500mg/dia de ácidos graxos w-3, contendo 190mg de EPA e 90mg de DHA durante 12 semanas. O controle foi feito pelo *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC) ou Formulário para Avaliação de Tratamento do Autismo, composto por 77 itens divididos em quatro partes que abordam as áreas da linguagem, da sociabilidade, da percepção sensorial/cognitiva e da saúde/comportamental. Das nove crianças que completaram o estudo, oito apresentaram melhoras em 33% dos sintomas de acordo com avaliação do formulário aplicado.

Bent et al⁴⁶ realizaram um estudo piloto aleatorizado e controlado para determinar a viabilidade, segurança inicial e eficácia dos ácidos graxos w-3 administrado por meio do consumo de pudins com sabor de laranja, contendo 350mg de EPA e 230mg de DHA, totalizando 1,3g w-3/dia. Foram incluídas 27 crianças, de três a oito anos de idade com TEA e sintomas de hiperatividade. Após 12 semanas de intervenção,

através do *Aberrant Behavior Checklist* (escala ABC) que apresenta 58 itens divididos em cinco subescalas: I – irritabilidade, agitação e choro (15 itens); II – letargia e esquiva social (16 itens); III – comportamento estereotipado (7 itens); IV – hiperatividade (16 itens); V – fala inapropriada (4 itens); observou-se melhora na hiperatividade do grupo que recebeu a suplementação, fato que foi correlacionado ao aumento, já esperado, na porcentagem de ácidos graxos w-3 no soro das crianças suplementadas. Entretanto, quando comparado ao grupo controle não observou-se diferença significativa.

Em 2011, Yui et al⁴⁷ analisaram a eficácia da suplementação de PUFAS (AA e DHA) para melhora do comportamento repetitivo e estereotipado em indivíduos com TEA através de estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, com duração de 16 semanas, em 13 indivíduos com TEA, de seis a 28 anos de idade. O grupo suplementado (n=7) recebeu seis cápsulas diárias de *SUNTGAS20* contendo 40mg/cápsula de DHA, 40mg/cápsula de AA e 0,16mg/cápsula de astaxantina, enquanto que o grupo controle (n=6) recebeu seis cápsulas diárias idênticas, contendo apenas azeite de oliva. Os resultados foram avaliados utilizando o *Aberrant Behavior Checklist* (escala ABC), e os subdomínios de comportamento repetitivo pelo *Autism Diagnostic Interview-Revised* (ADI-R) ou Entrevista Diagnóstica para o Autismo Revisada, que constitui uma entrevista diagnóstica semi-estruturada composta por cinco seções: perguntas introdutórias; questões sobre comunicação; desenvolvimento social e o brincar; investigação sobre comportamentos repetitivos e restritos, e um número reduzido de questões relativas a problemas de comportamento em geral. Para estudar os mecanismos subjacentes aos efeitos da suplementação, foram examinados os níveis plasmáticos dos principais PUFAS (EPA, DHA e AA). Houve melhora significativa no isolamento social medido pelo ABC e o subdomínio ADI-R C3 (maneirismos motores estereotipados e repetitivos). Seus escores do subdomínio ADI-R C3 correlacionaram-se significativamente com a fala inadequada mensurada pelo ABC. As alterações nos níveis plasmáticos de AA no final do estudo foram significativamente aumentadas no grupo suplementado. Assim, foi sugerido que as melhoras observadas na interação social e no comportamento estereotipado repetitivo, foram induzidas pela suplementação, possivelmente por meio da regulação da transdução de sinal relacionada ao AA.

Yui et al⁴⁸, realizaram outro estudo que avaliou o efeito da suplementação com altas doses de AA adicionado ao DHA no comprometimento social em indivíduos com TEA. O estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, que durou 16 semanas, avaliou em 13 indivíduos de seis a 28 anos de idade o efeito da suplementação diária de seis cápsulas contendo 40mg/cápsula de DHA e AA e 0,16mg/cápsula de astaxantina, comparado com o placebo contendo azeite de oliva. O acompanhamento foi realizado através da *Aberrant Behavior Checklist* (escala ABC) e da *Social Responsiveness Scale* (SRS), que avalia a consciência, a cognição, a comunicação, a motivação e os comportamentos estereotipados. Para determinar os mecanismos subjacentes ao efeito da suplementação, foram examinados os níveis plasmáticos de transferrina e superóxido dismutase, marcadores úteis de transdução de sinal. Os resultados sugeriram que a intervenção melhorou o isolamento social pela escala ABC

e a comunicação pela SRS no grupo suplementado. Houve diferença significativa na mudança dos níveis plasmáticos de transferrina e tendência a diferença significativa na mudança nos níveis plasmáticos de superóxido dismutase entre os dois grupos. Este estudo sugere que a suplementação com doses altas de AA adicionadas ao DHA melhora a interação social em indivíduos com transtorno do espectro autista, regulando positivamente a transdução de sinal.

Bent et al⁴⁹ reportaram um estudo clínico aleatorizado e controlado para analisar a eficácia da suplementação diária de 1,3g de w-3 (350 mg EPA + 230mg DHA) nos sintomas de hiperatividade de 57 crianças autistas, durante seis semanas. As crianças que foram suplementadas tiveram redução da hiperatividade (-5,3 pontos), em comparação com o grupo placebo (-2,6 pontos), embora a diferença não tenha sido significativa.

Neste mesmo ano, Voigt et al⁵⁰ estudaram 48 crianças de 3 a 10 anos de idade, que receberam diariamente suplementação com 200 mg de DHA durante seis meses. As possíveis mudanças no comportamento das crianças foram listadas pelos pais, professores e investigadores. A adesão ao tratamento foi avaliada pelo aumento de 431% do nível plasmático de DHA. Nesta investigação, não houve diferença no relato de alteração de sintomas das crianças que receberam a suplementação, de acordo com a *Clinical Global Impression (CGI-I)*. Os investigadores citaram o tamanho da amostra como uma possível limitação do estudo. Além disso, o mesmo utilizou crianças que não apresentavam deficiência nos níveis séricos de DHA, sendo uma possível explicação para o resultado neutro.

Em 2015, Mankad et al³⁶ realizaram estudo aleatorizado e controlado com 38 crianças (28 meninos e 10 meninas) de dois a cinco anos com TEA e suplementação diária de EPA e DHA, que foi aumentando gradualmente, sempre na razão de 3:1 (EPA/DHA), até alcançar a suplementação final de 1,5g/dia de w-3 durante seis meses. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em grupos caso e placebo na proporção de 1:1, sendo esses pareados quanto a severidade dos sintomas autistas, funções adaptativas ou ganhos de linguagem. Neste estudo, houve melhora nos sintomas de externalização no grupo placebo em relação ao grupo que recebeu a suplementação. Segundo os autores, a baixa idade (até cinco anos), o elevado grau de limitação verbal e a presença de estresse podem ter colaborado para os resultados inesperados. Desta forma, o estudo não suporta a hipótese de que a suplementação de ácidos graxos w-3 em crianças com TEA promove benefícios em relação ao quadro de sintomas ou funções adaptativas. Ainda, sugere que altas doses de ácidos graxos w-3 poderiam prejudicar a externalização de comportamentos, sendo necessários mais estudos na área.

Estudo recente conduzido por Ooi et al⁵¹ avaliou o efeito da suplementação de 1g/dia de w-3 (840mg DHA, 192mg EPA, 66mg AA, 144g GLA, 60mg vit. E, 3mg óleo de tomilho) em 41 crianças autistas com idades entre sete a 18 anos (36 meninos e cinco meninas), durante o período de 12 semanas. Foram encontradas melhoras significativas relacionadas aos problemas sociais e de atenção destas crianças, através dos questionários *Social Responsiveness Scale – SRS* (comunicação e comportamento) e *Social and Attention Problems Syndrome Scales of the Child Behavior Checklist - CBCL*

(rastreamento de comportamentos problemáticos). Através do SRS, notou-se melhora em todos os aspectos analisados (consciência, cognição, comunicação, motivação e comportamentos estereotipados). Ainda, pelo CBCL, os problemas sociais e de atenção também melhoraram. No estudo, foram coletadas amostras de sangue de todas as crianças antes e depois da suplementação e após o tratamento foi verificada as mudanças na razão de w-6/w-3 e AA/EPA e um possível aumento do nível de ácidos graxos w-3 em geral. O DHA foi o w-3 que mais aumentou no plasma das crianças. Assim, os resultados subjetivos foram reforçados pela correlação significativa entre a concentração plasmática de ácidos graxos e as variações dos principais sintomas dos TEAs. A concentração basal de ácidos graxos foi preditiva de resposta ao tratamento, ou seja, as melhores respostas foram observadas nas crianças que apresentavam conteúdo inicialmente de w-3 mais baixos. Os resultados deste estudo fortalecem a hipótese de que as crianças com TEA podem se beneficiar com a suplementação de w-3.

Em 2017, Parellada et al³² realizaram estudo randomizado, duplo-cego, cruzado, controlado por placebo com 68 crianças e adolescentes e idades de cinco a 17 anos durante oito semanas, com o objetivo de investigar se a suplementação de w-3 melhora a razão w-3/w-6 na membrana eritrocitária, o status antioxidante plasmático e os comportamentos característicos autistas. Crianças de cinco a 11 anos receberam uma cápsula/dia (577,5 mg EPA, 385 mg DHA e 1,6 mg de vitamina E), enquanto que as de 12 a 17 anos também receberam uma cápsula/dia, porém com doses superiores de w-3 (693 mg EPA, 462 mg DHA e 2,01 mg de vitamina E). O grupo placebo recebeu uma cápsula idêntica contendo parafina líquida e vitamina E nas mesmas doses que o grupo suplementado. Os desfechos primários foram analisados através da medida da composição de ácidos graxos na membrana eritrocitária e status antioxidante plasmático. Os parâmetros secundários foram avaliados pelos questionários *Social Responsiveness Scale (SRS)* e o *Clinical Global Impression (CGI-I)*. A suplementação com w-3 melhorou a razão w-3/w-6 na membrana eritrocitária, sem alterar o status antioxidante plasmático. Houve, também no grupo suplementado, melhora significativa nos escores das subescalas de motivação social e comunicação pelo SRS, mas nenhum efeito do tratamento (tratamento-placebo ordem). Os efeitos *carry over* não podem ser descartados nesses resultados. Assim, os autores sugerem que a suplementação com w-3 deve ser estudada como um complemento em terapias comportamentais nos TEA e o tempo ideal de tratamento requer investigação adicional.

A grande heterogenicidade de fenótipos e etiologias dos TEA demonstra que é realmente improvável que um determinado tratamento apresente os mesmos efeitos em todos os pacientes. Soma-se a isso a falta de estudos com seguimentos e tamanho amostral maiores e com a utilização de doses padronizadas de suplementação de w-3 em crianças portadoras de TEA.

Ainda, algumas questões específicas em relação ao uso da suplementação de w-3 em crianças autistas devem ser feitas: I - qual é a dose administrada de w-3 capaz de modificar as concentrações plasmáticas? II - Qual é a quantidade de w-3 que atravessa a barreira hemato-encefálica? III - Quais são

as áreas específicas do cérebro que mais se beneficiam com a suplementação desse ácido graxo? IV - A suplementação com altas doses de w-3 é livre de efeitos tóxicos e pode ser administrada em crianças?

Além das respostas a estas questões, faltam estudos voltados à identificação das causas externas e metabólicas responsáveis pela deficiência de w-3 em crianças com TEA.^{17,24,29}

CONCLUSÃO

O TEA, especialmente em crianças, corresponde a um quadro de extrema complexidade, exigindo que abordagens multidisciplinares sejam efetivadas, visando-se não somente, a questão educacional e o quadro de sintomas, mas, principalmente, a identificação de etiologias e prevenção e manejo de morbidades que possam aumentar o risco cardiovascular desses indivíduos na vida adulta.

As revisões atuais discutem a necessidade da inclusão de um marcador de gravidade baseada nos graus de deficiência nos domínios da comunicação social e comportamentos restritos e repetitivos. Desta forma, discute-se a necessidade da elaboração de métodos quantitativos e recomendações práticas para a discriminação dos níveis de classificação.

A ausência da classificação do grau de severidade do autismo representa uma das grandes limitações dos estudos de intervenção, pois o impacto de intervenções baseadas em fármacos ou nutrientes pode ter sua resposta inibida ou potencializada pela severidade da doença. O autismo é uma condição complexa, na qual a nutrição e os fatores ambientais desempenham papéis primordiais para a melhoria da qualidade de vida do indivíduo e redução das morbidades associadas. Por fim, fica a necessidade urgente para uma metodologia mais rigorosa nos estudos, ensaios controlados com placebo para fornecer orientação baseada em evidências científicas para as famílias, comunidade científica e clínica, sobre métodos de intervenção alternativos e complementares de tratamento. Na ausência destes estudos, a eficácia do w-3 como terapia adjuvante no tratamento dos TEA em crianças permanece indefinida.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não possuir conflitos de interesse na realização deste trabalho.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES: MCHB: aquisição, análise, interpretação dos dados, redação do trabalho e revisão crítica do seu conteúdo intelectual; IMC: redação do trabalho e revisão crítica do seu conteúdo intelectual.

REFERÊNCIAS

- Evans B. How autism became autism: The radical transformation of a central concept of child development in Britain. *Hist Human Sci.* 2013;26(3):3-31.
- Vahia VN. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5: A quick glance. *Indian J Psychiatry.* 2013;55(3):220-3.
- Tordjman S, Somogyi E, Coulon N, Kermarrec S, Cohen D, Bronsard G, et al. Gene x Environment interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms. *Front Psychiatry.* 2014;5:53.
- MacFabe DF. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis.* 2015;26:28177.
- Egan AM, Dreyer ML, Odar CC, Beckwith M, Garrison CB. Obesity in young children with autism spectrum disorders: prevalence and associated factors. *Child Obes.* 2013;9(2):125-31.
- de Vinck-Baroody O, Shui A, Macklin EA, Hyman SL, Leventhal JM, Weitzman C. Overweight and Obesity in a Sample of Children With Autism Spectrum Disorder. *Acad Pediatr.* 2015;15(4):396-404.
- Tyler CV, Schramm SC, Karafa M, Tang AS, Jain AK. Chronic disease risks in young adults with autism spectrum disorder: forewarned is forearmed. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2011;116(5):371-80.
- Chen MH, Lan WH, Hsu JW, Huang KL, Su TP, Li CT, et al. Risk of Developing Type 2 Diabetes in Adolescents and Young Adults With Autism Spectrum Disorder: A Nationwide Longitudinal Study. *Diabetes Care.* 2016;39(5):788-93.
- Esparham AE, Smith T, Belmont JM, Haden M, Wagner LE, Evans RG, et al. Nutritional and Metabolic Biomarkers in Autism Spectrum Disorders: An Exploratory Study. *Integr Med (Encinitas).* 2015;14(2):40-53.
- Kawicka A, Regulaska-Ilow B. How nutritional status, diet and dietary supplements can affect autism. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2013;64(1):1-12.
- Bean Jaworski JL, Flynn T, Burnham N, Chittams JL, Sammarco T, Gerdes M, et al. Rates of autism and potential risk factors in children with congenital heart defects. *Congenit Heart Dis.* 2017;12(4):421-9.
- Tsao PC, Lee YS, Jeng MJ, Hsu JW, Huang KL, Tsai SJ, et al. Additive effect of congenital heart disease and early developmental disorders on attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder: a nationwide population-based longitudinal study. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2017;26(11):1351-9.
- Investigators DDMNSYP, (CDC) CfDCaP. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR Surveill Summ.* 2014;63(2):1-21.
- Baron-Cohen S, Scott FJ, Allison C, Williams J, Bolton P, Matthews FE, et al. Prevalence of autism-spectrum conditions: UK school-based population study. *Br J Psychiatry.* 2009;194(6):500-9.
- Baird G, Douglas HR, Murphy MS. Recognising and diagnosing autism in children and young people: summary of NICE guidance. *BMJ.* 2011;343:d6360.
- Weintraub K. The prevalence puzzle: Autism counts. *Nature.* 2011;479(7371):22-4.
- Sharp WG, Berry RC, McCracken C, Nuhu NN, Marvel E, Saulnier CA, et al. Feeding problems and nutrient intake in children with autism spectrum disorders: a meta-analysis and comprehensive review of the literature. *J Autism Dev Disord.* 2013;43(9):2159-73.
- Bicer AH, Alsaif AA. Body mass index, dietary intake and feeding problems of Turkish children with autism spectrum disorder (ASD). *Res Dev Disabil.* 2013;34(11):3978-87.
- Anderson SE, Must A, Curtin C, Bandini LG. Meals in Our Household: reliability and initial validation of a questionnaire to assess child mealtime behaviors and family mealtime environments. *J Acad Nutr Diet.* 2012;112(2):276-84.
- Emond A, Emmett P, Steer C, Golding J. Feeding symptoms, dietary

- patterns, and growth in young children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*. 2010;126(2):e337-42.
21. Hyman SL, Stewart PA, Schmidt B, Cain U, Lemcke N, Foley JT, et al. Nutrient intake from food in children with autism. *Pediatrics*. 2012;130 Suppl 2:S145-53.
 22. Zimmer MH, Hart LC, Manning-Courtney P, Murray DS, Bing NM, Summer S. Food variety as a predictor of nutritional status among children with autism. *J Autism Dev Disord*. 2012;42(4):549-56.
 23. Brigandi SA, Shao H, Qian SY, Shen Y, Wu BL, Kang JX. Autistic children exhibit decreased levels of essential fatty acids in red blood cells. *Int J Mol Sci*. 2015;16(5):10061-76.
 24. Johnson CR, Turner K, Stewart PA, Schmidt B, Shui A, Macklin E, et al. Relationships between feeding problems, behavioral characteristics and nutritional quality in children with ASD. *J Autism Dev Disord*. 2014;44(9):2175-84.
 25. Nadon G, Feldman DE, Dunn W, Gisel E. Association of sensory processing and eating problems in children with autism spectrum disorders. *Autism Res Treat*. 2011;2011:541926.
 26. Tyler K, MacDonald M, Menear K. Physical activity and physical fitness of school-aged children and youth with autism spectrum disorders. *Autism Res Treat*. 2014;2014:312163.
 27. Croen LA, Zerbo O, Qian Y, Massolo ML, Rich S, Sidney S, et al. The health status of adults on the autism spectrum. *Autism*. 2015;19(7):814-23.
 28. Bilder D, Botts EL, Smith KR, Pimentel R, Farley M, Visckochil J, et al. Excess mortality and causes of death in autism spectrum disorders: a follow up of the 1980s Utah/UCLA autism epidemiologic study. *J Autism Dev Disord*. 2013;43(5):1196-204.
 29. Kral TV, Eriksen WT, Souders MC, Pinto-Martin JA. Eating behaviors, diet quality, and gastrointestinal symptoms in children with autism spectrum disorders: a brief review. *J Pediatr Nurs*. 2013;28(6):548-56.
 30. Tanner K, Case-Smith J, Nahikian-Nelms M, Ratliff-Schaub K, Spees C, Darragh AR. Behavioral and Physiological Factors Associated With Selective Eating in Children With Autism Spectrum Disorder. *Am J Occup Ther*. 2015;69(6):6906180030p1-8.
 31. Alfawaz H, Al-Onazi M, Bukhari SI, Binobead M, Othman N, Algahtani N, et al. The Independent and Combined Effects of Omega-3 and Vitamin B12 in Ameliorating Propionic Acid Induced Biochemical Features in Juvenile Rats as Rodent Model of Autism. *J Mol Neurosci*. 2018;66(3):403-13.
 32. Parellada M, Llorente C, Calvo R, Gutierrez S, Lázaro L, Graell M, et al. Randomized trial of omega-3 for autism spectrum disorders: Effect on cell membrane composition and behavior. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2017;27(12):1319-30.
 33. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009;6(7):e1000097.
 34. Methley AM, Campbell S, Chew-Graham C, McNally R, Cheraghi-Sohi S. PICO, PICOS and SPIDER: a comparison study of specificity and sensitivity in three search tools for qualitative systematic reviews. *BMC Health Serv Res*. 2014;14:579.
 35. Morton RC, Gadke DL. A Comparison of Math Cover, Copy, Compare Intervention Procedures for Children with Autism Spectrum Disorder. *Behav Anal Pract*. 2018;11(1):80-4.
 36. Mankad D, Dupuis A, Smile S, Roberts W, Brian J, Lui T, et al. A randomized, placebo controlled trial of omega-3 fatty acids in the treatment of young children with autism. *Mol Autism*. 2015;6:18.
 37. Cysneiros RM, Terra VC, Machado HR, Arida RM, Schwartzman JS, Cavalheiro EA, et al. May the best friend be an enemy if not recognized early: possible role of omega-3 against cardiovascular abnormalities due to antipsychotics in the treatment of autism. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009;67(3B):922-6.
 38. Straus SM, Bleumink GS, Dieleman JP, van der Lei J, 't Jong GW, Kingma JH, et al. Antipsychotics and the risk of sudden cardiac death. *Arch Intern Med*. 2004;164(12):1293-7.
 39. de Winter CF, Bastiaanse LP, Hilgenkamp TI, Evenhuis HM, Ehteld MA. Cardiovascular risk factors (diabetes, hypertension, hypercholesterolemia and metabolic syndrome) in older people with intellectual disability: results of the HA-ID study. *Res Dev Disabil*. 2012;33(6):1722-31.
 40. Leucht S, Cipriani A, Spineli L, Mavridis D, Orey D, Richter F, et al. Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: a multiple-treatments meta-analysis. *Lancet*. 2013;382(9896):951-62.
 41. Cashin A, Buckley T, Trollor JN, Lennox N. A scoping review of what is known of the physical health of adults with autism spectrum disorder. *J Intellect Disabil*. 2018;22(1):96-108.
 42. Bishop-Fitzpatrick L, Movaghar A, Greenberg JS, Page D, DaWalt LS, Brilliant MH, et al. Using machine learning to identify patterns of lifetime health problems in decedents with autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2018;11(8):1120-8.
 43. Amminger GP, Berger GE, Schäfer MR, Klier C, Friedrich MH, Feucht M. Omega-3 fatty acids supplementation in children with autism: a double-blind randomized, placebo-controlled pilot study. *Biol Psychiatry*. 2007;61(4):551-3.
 44. Meguid NA, Atta HM, Gouda AS, Khalil RO. Role of polyunsaturated fatty acids in the management of Egyptian children with autism. *Clin Biochem*. 2008;41(13):1044-48.
 45. Meiri G, Bichovsky Y, Belmaker RH. Omega 3 fatty acid treatment in autism. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2009;19(4):449-51.
 46. Bent S, Bertoglio K, Ashwood P, Bostrom A, Hendren RL. A pilot randomized controlled trial of omega-3 fatty acids for autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*. 2011;41(5):545-54.
 47. Yui K, Koshiba M, Nakamura S, Onishi M. [Therapeutic effects of larger doses of arachidonic acid added to DHA on social impairment and its relation to alterations of polyunsaturated fatty acids in individuals with autism spectrum disorders]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. 2011;31(3):117-24.
 48. Yui K, Koshiba M, Nakamura S, Kobayashi Y. Effects of large doses of arachidonic acid added to docosahexaenoic acid on social impairment in individuals with autism spectrum disorders: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *J Clin Psychopharmacol*. 2012;32(2):200-6.
 49. Bent S, Hendren RL, Zandi T, Law K, Choi JE, Widjaja F, et al. Internet-based, randomized, controlled trial of omega-3 fatty acids for hyperactivity in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2014;53(6):658-66.
 50. Voigt RG, Mellon MW, Katusic SK, Weaver AL, Matern D, Mellon B, et al. Dietary docosahexaenoic acid supplementation in children with autism. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(6):715-22.
 51. Ooi YP, Weng SJ, Jang LY, Low L, Seah J, Teo S, et al. Omega-3 fatty acids in the management of autism spectrum disorders: findings from an open-label pilot study in Singapore. *Eur J Clin Nutr*. 2015;69(8):969-71.
 52. Levant B, Radel JD, Carlson SE. Reduced brain DHA content after a single reproductive cycle in female rats fed a diet deficient in N-3 polyunsaturated fatty acids. *Biol Psychiatry*. 2006;60(9):987-90.