

# Ácidos grasos n-3 y n-6 en plasma al nacer y al año de edad y relación con el tipo de alimentación

P. Sanjurjo Crespo, N. Trebolazabala Quirante, L. Aldámiz-Echevarría Azuara, L. Castaño González, J.A. Prieto Perera y F. Andrade Lodeiro

Departamento de Pediatría. Hospital de Cruces. Barakaldo. Vizcaya. España.

## Objetivo

Comparar las variaciones de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA) al nacer y al año de edad en niños alimentados con lactancia materna prolongada, lactancia materna de duración media y fórmula artificial.

## Pacientes

Un total de 77 niños sanos a término con alimentación conocida fueron divididos en grupos: el grupo A (n = 25) había recibido lactancia prolongada (más de 6 meses); el B (n = 26), lactancia media (más de 3 meses y menos de 5), y el C (n = 26), cuyos sujetos fueron alimentados únicamente con fórmula artificial. Se midió la proporción de ácidos grasos plasmáticos al nacer y al primer año de vida.

## Resultados

No existen diferencias en el momento del nacimiento. Sin embargo, hay una disminución significativa de la proporción de los principales LCPUFA, ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido araquidónico (AA), entre el nacimiento y el primer año de vida. Al año, el porcentaje de DHA varía significativamente entre el grupo A y los otros dos:  $2,46 \pm 0,84$  frente a  $1,80 \pm 0,48$  y  $1,89 \pm 0,75$  ( $p < 0,01$ ).

## Conclusiones

1. Al nacer no existen diferencias en el contenido de LCPUFA. 2. Se observa una disminución significativa de los principales LCPUFA con la edad. 3. El grupo con lactancia materna prolongada posee mayores proporciones de DHA que los otros dos. Por consiguiente, la lactancia durante más de 6 meses es necesaria para obtener valores más elevados de DHA.

## Palabras clave:

*Lactancia materna. Lactancia artificial. Ácido docosahexaenoico. Ácido araquidónico.*

## N-3 AND N-6 FATTY ACIDS IN PLASMA AT BIRTH AND ONE YEAR OF AGE AND RELATIONSHIP WITH FEEDING

### Aim

Compare the variations of long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) levels at birth and at the first year of age in children on extended breast-feeding, medium term breast-feeding and formula feeding.

### Patients

77 healthy term infants divided in three groups: A (N = 25): extended breast-feeding (more than 6 months), B (N = 26): medium term breast-feeding (more than 3 and less than 5 months) and C (N = 26): exclusive formula feeding. Fatty acids in plasma were measured at birth and at the first year of age.

### Results

There were no differences in the levels at birth. However, there is a significant decrease in the proportion of the main LCPUFA, docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (AA), between birth and the first year of age. At one year of age, the percentage of DHA in Group A differs significantly between the other two:  $2.46 \pm 0.84$  vs.  $1.80 \pm 0.48$  and  $1.89 \pm 0.75$  ( $p < 0.01$ ).

### Conclusions

1. At birth, there are no differences in LCPUFA. 2. A significant decrease in the main LCPUFA is observed with age. 3. The extended breast-feeding group shows higher DHA levels than the other two. Therefore, breast-feeding for more than 6 months is required to achieve higher plasma DHA values.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos RGDM (G03/212) y RCMN (G03/08) del Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Sanidad.

**Correspondencia:** Dr. P. Sanjurjo Crespo.  
Departamento de Pediatría. Hospital de Cruces.  
Plaza de Cruces, s/n. 48903 Barakaldo. Vizcaya. España.  
Correo electrónico: labmetabolismo@hcr.osakidetza.net

Recibido en febrero de 2007.

Aceptado para su publicación en marzo de 2008.

**Key words:**

*Breast-feeding. Formula feeding. Docosahexaenoic acid. Arachidonic acid.*

**INTRODUCCIÓN**

La importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de larga cadena (LCPUFA) en la nutrición infantil no sólo se debe al progresivo enriquecimiento del sistema nervioso central en estos ácidos<sup>1,2</sup>, sino también de la función bioactiva de los eicosanoides, derivados de la familia n-3 y n-6 de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA)<sup>3,4</sup>. La controversia nutricional sobre si se debe añadir o no LCPUFA n-3 y n-6 a la dieta del lactante se está inclinando hacia la primera opción. Esto no sólo se debe al hecho de que la leche materna los contiene<sup>5</sup>, sino a que la adición de precursores exclusivos en la fórmula artificial acarrea unos patrones bioquímicos de membrana (incluyendo el cerebro) diferentes de los de la lactancia materna<sup>3</sup>, y también diferencias favorables en su uso en algunos estudios funcionales<sup>6-14</sup>. La conclusión podría ser que existen diferencias entre una nutrición posiblemente inadecuada (uso exclusivo de precursores), nutrición adecuada (uso de fórmula suplementada con LCPUFA) y nutrición óptima (lactancia materna).

La biodisponibilidad de los LCPUFA durante el segundo semestre de vida puede estar comprometida, ya que es común la combinación indeseada de que muchos lactantes son alimentados con leche materna durante solamente durante un corto período de tiempo, e inician la alimentación complementaria con alimentos que contengan LCPUFA preformado (huevos, vísceras, pescado graso) muy tarde. Esto da lugar a una brecha entre los 3 meses y el año de vida de ingesta directa de LCPUFA.

En este sentido, sólo se han publicado dos estudios bioquímicos<sup>9,11</sup>. El primero, realizado en niños normales tras 6 semanas de lactancia materna exclusiva, se aleatorizó en dos grupos con diferente alimentación hasta el primer año de vida: fórmula suplementada con LCPUFA y fórmula convencional. Se encontraron diferencias bioquímicas entre los grupos a las 17 y 52 semanas de edad, con valores de ácido docosahexaenoico (DHA) más elevados en el grupo alimentado con fórmula suplementada. Además, se encontraron diferencias funcionales, como la agudeza visual a las 17 semanas, pero no a las 52 semanas de edad. El segundo estudio se llevó a cabo en recién nacidos a término que se alimentaron con lactancia materna hasta los 4-6 meses de edad, y posteriormente se aleatorizó a alimentación con fórmula convencional o suplementada con LCPUFA hasta el año de edad. El resultado mostró una reducción del 50% del contenido de DHA en eritrocitos de los niños alimentados con fórmula convencional.

El presente trabajo es un estudio bioquímico nuevo, ya que realizamos los análisis al nacer y al año de edad, y se conoce el tipo de alimentación seguida. El objetivo es

realizar un estudio sobre la relación entre la lactancia y las estructuras que contienen LCPUFA en este período en que la nutrición es tan importante y, sin embargo, se encuentra poco estudiada, es decir, el estado de los LCPUFA en el primer año de edad y la correlación individual con los valores al nacimiento. Este trabajo trata también de conocer si la lactancia materna prolongada es decisiva en los valores plasmáticos de LCPUFA al año de edad, teniendo en cuenta que la toma de otros alimentos que contienen LCPUFA, como pescado, huevos y vísceras, se ha trasladado más allá del año de edad, según las recomendaciones de la Sociedad Pediátrica Europea de Gastroenterología y Nutrición (ESPGAN)<sup>15</sup>.

**MATERIALES Y MÉTODOS****Sujetos**

La declaración de Helsinki no permite la obtención de muestras de niños sanos, de ahí la dificultad de obtenerlas para este tipo de estudios. Nuestras muestras fueron obtenidas merced a la existencia de una seroteca creada para el "estudio de la etiología de la diabetes mellitus y el tipo de lactancia" para el que se obtuvieron los permisos y el consentimiento ético necesarios<sup>16</sup>. Este banco contenía muestras de 300 niños al nacer y al año de vida, y su perfil nutricional era conocido; sin embargo, no se conocen los datos auxológicos. Se eligieron 77 muestras que correspondían a niños sanos con historia de gestación normal y un peso adecuado, que puede representar nuestra población media. Así, se establecieron tres grupos. El grupo A (n = 25) había recibido lactancia materna prolongada (más de 6 meses); el grupo B, lactancia media (más de 3 y menos de 5 meses), y el grupo C alimentación con fórmula artificial convencional. Este estudio fue aprobado por el comité ético del hospital, y se obtuvo consentimiento informado por escrito de los padres o tutores.

**Métodos**

La extracción de los lípidos de las muestras se llevó a cabo con el método de Folch et al<sup>17</sup>. La reacción para la formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos se realizó según el método de Lepage y Roy<sup>18</sup>, utilizando ácido tridecanoico como patrón interno. Los ésteres metílicos se separaron por medio de un cromatógrafo de gases HP 5890 serie II (Palo Alto, California, EE.UU.), utilizando una columna capilar de sílice fundida SP 2330 (Supelco Inc, Bellefonte, EE.UU.) de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,20 µm de espesor de película. El tipo de detección utilizada fue ionización de llama (FID). La rampa de temperaturas comenzaba manteniendo el horno a 80 °C durante 1 min, aumentando a 50 °C/min hasta 140 °C, a 5 °C/min hasta 190 °C; esta temperatura se mantenía durante 5 min. Finalmente, se aumentaba la temperatura hasta 215 °C a 5 °C/min, y se

TABLA 1. Porcentaje en peso de los ácidos grasos al nacer (basal) y al año de vida en los sujetos del grupo A (lactancia prolongada más de 6 meses)

Ácido graso	Basal, media ± DE	1 año, media ± DE
12:0	0,05 ± 0,08	0,55 ± 0,38
14:0	0,83 ± 0,20	1,47 ± 0,79
14:1n-5	0,01 ± 0,03	0,06 ± 0,13
15:0	0,16 ± 0,04	0,19 ± 0,10
16:0	25,60 ± 1,37	21,69 ± 2,10
16:1n-7	3,27 ± 0,88	1,24 ± 0,45
17:0	0,25 ± 0,05	0,31 ± 0,08
18:0	9,32 ± 1,03	7,41 ± 0,81
18:1n-9 trans	0,11 ± 0,12	0,37 ± 0,26
18:1n-9 cis	16,73 ± 1,96	20,37 ± 5,07
18:1n-7	2,85 ± 0,48	2,02 ± 0,78
18:2n-6	11,82 ± 3,03	26,99 ± 3,70
18:3n-6	0,44 ± 0,49	0,28 ± 0,14
20:0	0,56 ± 0,12	0,35 ± 0,07
18:3n-3	0,13 ± 0,06	0,43 ± 0,15
20:1n-9	0,15 ± 0,04	0,29 ± 0,09
20:2n-6	0,30 ± 0,06	0,24 ± 0,07
20:3n-9	0,50 ± 0,32	0,14 ± 0,09
20:3n-6	3,11 ± 0,57	1,49 ± 0,34
22:0	0,97 ± 0,21	0,76 ± 0,16
20:4n-6	13,12 ± 2,54	6,67 ± 1,38
22:1n-9	0,53 ± 1,41	0,25 ± 0,40
23:0	0,15 ± 0,08	0,40 ± 0,08
20:5n-3	0,28 ± 0,14	0,44 ± 0,31
24:0	0,91 ± 0,22	0,60 ± 0,14
22:4n-6	0,64 ± 0,16	0,28 ± 0,08
24:1n-9	1,88 ± 0,49	1,56 ± 0,43
22:5n-6	0,87 ± 0,31	0,24 ± 0,09
22:5n-3	0,33 ± 0,14	0,44 ± 0,27
22:6n-3	4,87 ± 1,33	2,46 ± 0,84

DE: desviación estándar.

mantenía durante 15 min. La temperatura del inyector y del detector era de 250 °C. Se utilizó helio como gas portador a una presión de 0,5 bares. La identificación de los ácidos grasos se efectuó por comparación de los tiempos de retención con un patrón comercial (NuCheck, Elysian, EE.UU.). La cuantificación se realizó mediante integración manual. Los resultados se expresaron en valores porcentuales con respecto a la suma total de ácidos grasos.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza univariante (ANOVA), con el test de Scheffé para las poblaciones normales. Las poblaciones con distribución no normal para el test Kolmogorov-Smirnov se estudiaron mediante el test de Willcoxon y Mann-Whitney.

TABLA 2. Porcentaje en peso de los ácidos grasos al nacer (basal) y al año de vida en los sujetos del grupo B (lactancia media entre 3 y 5 meses)

Ácido graso	Basal, media ± DE	1 año, media ± DE
12:0	0,06 ± 0,08	0,60 ± 0,58
14:0	0,80 ± 0,13	1,23 ± 0,60
14:1n-5	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,06
15:0	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,11
16:0	25,59 ± 1,35	22,47 ± 1,89
16:1n-7	3,00 ± 0,61	1,34 ± 0,53
17:0	0,25 ± 0,05	0,30 ± 0,09
18:0	9,34 ± 1,21	7,04 ± 0,82
18:1n-9 trans	0,14 ± 0,12	0,27 ± 0,18
18:1n-9 cis	17,24 ± 2,02	23,71 ± 4,00
18:1n-7	2,79 ± 0,42	2,13 ± 0,60
18:2n-6	12,56 ± 3,09	24,75 ± 3,01
18:3n-6	0,35 ± 0,09	0,27 ± 0,15
20:0	0,73 ± 0,24	0,59 ± 0,28
18:3n-3	0,15 ± 0,06	0,48 ± 0,20
20:1n-9	0,16 ± 0,04	0,30 ± 0,06
20:2n-6	0,28 ± 0,04	0,24 ± 0,04
20:3n-9	0,42 ± 0,17	0,15 ± 0,06
20:3n-6	2,90 ± 0,50	1,43 ± 0,24
22:0	0,91 ± 0,17	0,76 ± 0,16
20:4n-6	13,20 ± 2,26	6,27 ± 1,25
22:1n-9	0,46 ± 1,24	0,27 ± 0,57
23:0	0,16 ± 0,05	0,39 ± 0,10
20:5n-3	0,26 ± 0,12	0,34 ± 0,15
24:0	0,85 ± 0,19	0,58 ± 0,11
22:4n-6	0,59 ± 0,14	0,26 ± 0,06
24:1n-9	1,67 ± 0,34	1,48 ± 0,34
22:5n-6	0,79 ± 0,29	0,24 ± 0,06
22:5n-3	0,25 ± 0,08	0,38 ± 0,10
22:6n-3	4,12 ± 0,87	1,80 ± 0,49

DE: desviación estándar.

### Estudio estadístico

Las diferencias de DHA entre grupos se estudiaron utilizando un modelo general lineal. La homogeneidad de la varianza y la normalidad se establecieron mediante los test de Levene y de Shaphiro-Wilk, respectivamente. Para comparaciones *post-hoc* se utilizó el test de Sidak. El análisis ANOVA univariante se utilizó para comparar grupos al nacimiento. Se consideró un valor de p de 0,05 o menor como estadísticamente significativo. Los análisis se realizaron con el programa SPSS, versión 10.0 para Windows.

### RESULTADOS

Las tablas 1-3 muestran los valores basales y finales del perfil de ácidos grasos para los tres grupos. Como se esperaba, no existen diferencias en la situación basal de los ácidos grasos en los tres grupos, ya que todos fueron

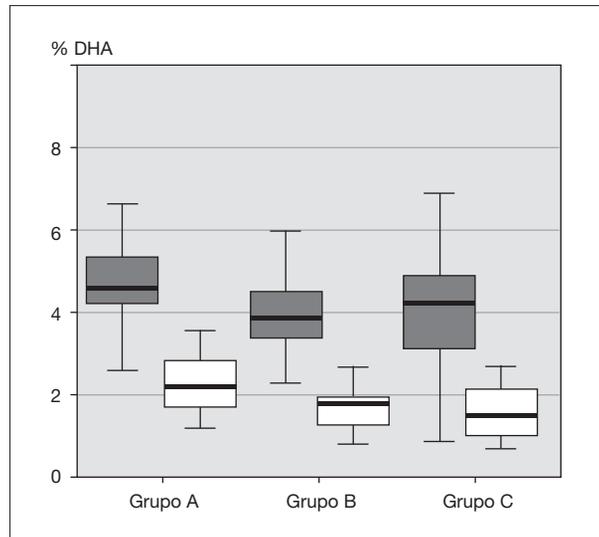
**TABLA 3. Porcentaje en peso de los ácidos grasos al nacer (basal) y al año de vida en los sujetos del grupo C (alimentación por fórmula)**

Ácido graso	Basal, media $\pm$ DE	1 año, media $\pm$ DE
12:0	0,05 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,42
14:0	0,81 $\pm$ 0,18	1,08 $\pm$ 0,43
14:1n-5	0,01 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,08
15:0	0,16 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,10
16:0	26,20 $\pm$ 1,71	22,64 $\pm$ 3,00
16:1n-7	3,37 $\pm$ 0,87	1,46 $\pm$ 0,47
17:0	0,24 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,13
18:0	8,70 $\pm$ 1,05	7,16 $\pm$ 1,33
18:1n-9 trans	0,13 $\pm$ 0,06	0,27 $\pm$ 0,18
18:1n-9 cis	16,71 $\pm$ 2,39	22,46 $\pm$ 5,22
18:1n-7	2,91 $\pm$ 0,50	2,25 $\pm$ 0,76
18:2n-6	13,17 $\pm$ 3,69	25,72 $\pm$ 4,27
18:3n-6	0,35 $\pm$ 0,09	0,35 $\pm$ 0,15
20:0	0,51 $\pm$ 0,12	0,36 $\pm$ 0,07
18:3n-3	0,15 $\pm$ 0,08	0,49 $\pm$ 0,18
20:1n-9	0,16 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,07
20:2n-6	0,30 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,04
20:3n-9	0,36 $\pm$ 0,21	0,16 $\pm$ 0,09
20:3n-6	2,85 $\pm$ 0,75	1,64 $\pm$ 0,38
22:0	0,81 $\pm$ 0,21	0,76 $\pm$ 0,31
20:4n-6	13,12 $\pm$ 2,80	6,34 $\pm$ 1,12
22:1n-9	0,27 $\pm$ 0,21	0,30 $\pm$ 0,66
23:0	0,13 $\pm$ 0,06	0,64 $\pm$ 1,31
20:5n-3	0,26 $\pm$ 0,10	0,42 $\pm$ 0,33
24:0	0,71 $\pm$ 0,24	0,56 $\pm$ 0,22
22:4n-6	0,56 $\pm$ 0,14	0,28 $\pm$ 0,08
24:1n-9	1,71 $\pm$ 0,45	1,53 $\pm$ 0,34
22:5n-6	0,75 $\pm$ 0,25	0,28 $\pm$ 0,08
22:5n-3	0,25 $\pm$ 0,10	0,44 $\pm$ 0,12
22:6n-3	4,31 $\pm$ 1,20	1,89 $\pm$ 0,75

DE: desviación estándar.

obtenidos de neonatos sanos al nacimiento. Sin embargo, el grupo A muestra valores de DHA (fig. 1) significativamente mayores que los otros dos grupos al año de vida ( $2,46 \pm 0,84$  frente a  $1,80 \pm 0,48$  y  $1,89 \pm 0,75$ ;  $p < 0,01$ ). El tipo de alimentación explicaba el 14% de la variabilidad de DHA.

También podemos observar una reducción notable de la concentración de DHA y ácido araquidónico (AA) entre los neonatos y el primer año de vida en los tres grupos. Por lo tanto, el porcentaje de AA y DHA de 0 a 1 año de vida descende de  $13,12 \pm 2,54$  a  $6,67 \pm 1,38$  ( $p < 0,001$ ); y de  $4,87 \pm 1,33$  a  $2,46 \pm 0,84$  ( $p < 0,001$ ) en el grupo A. En el grupo B, de  $13,20 \pm 2,26$  a  $6,27 \pm 1,25$  ( $p < 0,001$ ) y de  $4,12 \pm 0,87$  a  $1,80 \pm 0,49$  ( $p < 0,001$ ). Finalmente, el grupo C desde  $13,12 \pm 2,80$  a  $6,34 \pm 1,12$  ( $p < 0,001$ ) y desde  $4,31 \pm 1,20$  a  $1,89 \pm 0,75$  ( $p < 0,001$ ). No existía correla-



**Figura 1.** Porcentajes de ácido docosahexaenoico (DHA) al nacer (color gris) y al año de edad (color blanco) en los tres tipos de alimentación: lactancia materna prolongada (A), lactancia materna de duración media (B) y fórmula artificial (C).

ción positiva entre los valores individuales al nacimiento y al primer año de vida en ninguno de los grupos estudiados.

## DISCUSIÓN

Este trabajo se trata de un estudio bioquímico basado en la existencia de una seroteca que contiene muestras pareadas (0-1 años de edad) y datos nutricionales, pero no existe un seguimiento directo de la población estudiada. Por esta razón, desafortunadamente no poseemos datos auxológicos que es la limitación más importante de este estudio.

Nuestros resultados muestran que los tres grupos estudiados (lactancia materna prolongada, media y alimentación con fórmula artificial), como se esperaba, comienzan con unos valores de DHA y AA similares (sangre del cordón umbilical), y que al año de edad, el grupo que siguió lactancia materna durante más de 6 meses presentaba una proporción mayor de DHA que los otros dos, cuyos valores no son significativamente diferentes. Además, la disminución de la proporción de ambos ácidos grasos desde el nacimiento hasta el primer año de edad puede ser considerada fisiológica.

Tomando las tres poblaciones como una sola, no existe correlación entre los valores individuales iniciales en el cordón umbilical y al año de edad, lo que indica que los factores ambientales tienen un papel decisivo en el establecimiento de los valores al año de edad. Es sorprendente el hecho de que la toma de LCPUFA preformado en la leche materna durante 3-5 meses no tiene ninguna proyección en los valores al año de edad cuando éstos son

comparados con los valores de los niños alimentados con fórmula convencional. Este hallazgo se encuentra en aparente controversia con el estudio llevado a cabo en Francia sobre niños sanos<sup>19</sup> en los que se encontró una proyección entre los valores de los ácidos grasos al nacer y los que presentaban a los dos meses de edad (tiempo medio del destete en Francia). Es posible que el estado de los LCPUFA en el neonato no se proyecte más allá del primer trimestre de vida y que, más tarde, los factores ambientales (la toma de LCPUFA preformado o no) no parecen ser importantes, como muestra nuestro estudio.

En cualquier caso, el uso exclusivo de los precursores (ácido linoleico y ácido  $\alpha$ -linolénico) presentes en fórmula convencional está aparentemente adaptado para mantener la concentración de n-6 LCPUFA (ya que no existe ninguna diferencia en la concentración de AA entre los grupos a cualquier edad) pero no mantienen los niveles de n-3 LCPUFA, ya que se encuentran diferencias en los niveles de DHA al año de edad en el grupo con lactancia prolongada.

Es difícil comparar nuestros resultados con los únicos estudios funcionales y bioquímicos encontrados en la bibliografía durante este período de vida<sup>9,11,14</sup> ya que el diseño es diferente. Estos trabajos incluyen valores de DHA y AA al año de edad, pero no al nacer, ya que la aleatorización de los grupos (fórmula suplementada con LCPUFA o fórmula convencional) comienza a las 6 semanas en el primer estudio, y entre los 4 y los 6 meses de edad en el segundo, después de un período de lactancia inicial en todos los casos. Además, el primer estudio bioquímico tiene lugar a las 17 semanas, y sus resultados se expresan como concentraciones, mientras que los nuestros lo hacen en porcentaje. Otros estudios, que se ocupan en la evaluación de la agudeza visual o de otros parámetros en niños, incluyen la alimentación con fórmula artificial suplementada con DHA y AA, pero no incluyen valores al nacer, y por tanto, tampoco son comparables<sup>7,20,21</sup>.

Nuestros resultados señalan la necesidad de mantener la toma de DHA preformado durante el primer año de vida si deseamos obtener valores más elevados al año de edad. Dado que es lo que se obtiene con la lactancia materna, debe ser considerado óptimo. A la vista de los resultados, los pediatras tenemos una razón más para recomendar la lactancia materna prolongada tanto tiempo como sea posible. La lactancia media de entre 3 a 5 meses, no garantiza el adecuado estado de DHA al primer año de vida (similar a los valores obtenidos tras lactancia artificial), probablemente debido a tres causas: 1. la toma de DHA preformado cesa al interrumpirse la lactancia; 2. es difícil sintetizar DHA a partir de su precursor, el ácido  $\alpha$ -linolénico, tanto en animales como en humanos<sup>22-26</sup>, y 3. la toma de DHA de la dieta está restringida, ya que las guías recientes de la ESPGAN recomiendan la supresión del huevo y del pescado durante el primer año de vida debido a problemas alérgicos.

Por consiguiente, si el destete tiene lugar hacia el quinto mes de vida, la dieta infantil idealmente debe incluir DHA, y puesto que su aporte no es posible por medio del beikost, al estar retardada por las recomendaciones de la ESPGAN, sería necesaria la disponibilidad de DHA mediante una fórmula suplementada tipo 2 (para el segundo semestre de vida).

## BIBLIOGRAFÍA

- Clandinin MT, Chapell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion in human brain: Implications for fatty acids requirements. *Early Hum Dev.* 1980;4: 121-9.
- Martínez M. Developmental profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain of normal infants and patients with peroxisomal diseases: Severe deficiency of docosahexanoic acid in Zellweger's and pseudoZellweger syndromes. En: Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, Barlow SM, editors. *Health effects of omega-3 PUFA in seafoods.* Basel: Karger Publishers; 1991. p. 87-102.
- Gautheron P, Renaud S. Hyperlipidemia induced hypercoagulable state in rat. Role of an increased activity of platelet phosphatidylserina in response to certain dietary fatty acids. *Thromb Res.* 1972;1:353-70.
- Needleman P, Raz A, Minkes MS, Ferrendeli JA, Sprecher H. Triene prostaglandins: Prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979;76:944-8.
- Koletzko B, Thiel I, Abiodun PO. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr.* 1992;120: S62-70.
- Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Giovannini M. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: The role of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res.* 1995;38:262-6.
- Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid in the diet of term infant. *Pediatr Res.* 1998;44:201-9.
- Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev Med Child Neurol.* 2000;42:174-81.
- Birch EE, Hoffman DR, Castañeda YS, Fawcett SL, Birch DG, Uauy RD. A randomized controlled trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula in term infants after weaning at 6 week of age. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:570-80.
- Hoffman DR, Birch EE, Birch DG, Uauy R, Castaneda YS, Lapus MG, et al. Impact of early dietary intake and blood lipid composition of long-chain polyunsaturated fatty acids on later visual development. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;31: 540-53.
- Hoffman DR, Birch EE, Castaneda YS, Fawcett SL, Wheaton DH, Birch DG, et al. Visual function in breast-fed term infants weaned to formula with or without long-chain polyunsaturates at 4 to 6 months: A randomized clinical trial. *J Pediatr.* 2003; 142:669-77.
- Willatts P, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Influence of long-chain polyunsaturated fatty acids on infant cognitive function. *Lipids.* 1998;33:973-80.
- Willatts P, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. *Lancet.* 1998;352:688-91.

14. Birch EE, Garfield S, Castañeda Y, Hughbanks-Wheaton D, Uauy R, Hoffman D. Visual acuity and cognitive outcomes at 4 years of age in a double-blind, randomized trial of long-chain polyunsaturated fatty acid-supplemented infant formula. *Early Hum Dev.* 2007;83:279-84.
15. Aggett PJ, Haschke F, Heine W, Hernell O, Koletzko B, Luaniala K, et al. ESPGAN Committee on Nutrition. Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. *Acta Paediatr Scand.* 1991;80:887-96 (Committee Report).
16. Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, Núñez J, Bilbao JR, Rica I, et al. Prospective population screening for celiac disease: High prevalence of the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004;39:80-4.
17. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226:497-509.
18. Lepage G, Roy CG. Direct transesterification of all classes of lipids in a one step reaction. *J Lipid Res.* 1986;27:114-20.
19. Guesnet P, Pugo-Gunsam P, Maurage C, Pinault M, Giraudeau B, Alessandri JM, et al. Blood lipids concentrations of docosahexaenoic and arachidonic acids at birth determine their relative postnatal changes in term infants fed breast milk or formula. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:292-8.
20. Auestad N, Montalto MB, Hall RT, Fitzgerald KM, Wheeler RE, Connor WE, et al. Visual acuity, erythrocyte fatty acid composition, and growth in term infants fed formulas with long chain polyunsaturated fatty acids for one year. *Pediatr Res.* 1997;41:1-10.
21. Auestad N, Halter R, Hall RT, Blatter M, Bogle ML, Burks W, et al. Growth and development in term infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: A double-masked, randomized, parallel, prospective, multivariate study. *Pediatrics.* 2001;108:372-81.
22. Abedin L, Lien EL, Vingrys AJ, Sinclair AJ. The effects of dietary alpha-linolenic acid compared with docosahexaenoic acid on brain, retina, liver and heart in the guinea pig. *Lipids.* 1999;34:475-82.
23. Bowens RA, Clandinin MT. High dietary 18:3n-3 increases the 18:3n-3 but not the 22:6n-3 content in the whole body, brain, skin, epididymal fat pads, and muscles of suckling rat pups. *Lipids.* 2000;35:389-94.
24. Szitanyi P, Koletzko B, Mydilova A, Demmelmair H. Metabolism of <sup>13</sup>C-labeled linoleic acid in newborn infants during the first week of life. *Pediatr Res.* 1999;45:669-73.
25. Woods J, Ward G, Selem N. Is docosahexaenoic acid necessary in infant formula? Evaluation of high linolenate diets in the neonatal rat. *Pediatr Res.* 1996;40:687-94.
26. Caspi A, Williams B, Kim-Cohen J, Craig IW, Milne BJ, Poulton R, et al. Moderation of breastfeeding effects on the IQ by genetic variation in fatty acid metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:18860-5.