

N-3계 지방산 적절 함량 식이의 docosahexaenoic acid 첨가가 기억력 관련 뇌 기능에 미치는 영향

임 선 영*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received March 2, 2009 / Accepted May 19, 2009

Effect of Treatment with Docosahexaenoic Acid into N-3 Fatty Acid Adequate Diet on Learning Related Brain Function in Rat. Sun-Young Lim*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan, 609-761, Korea* - The effect of adding docosahexaenoic acid into an n-3 fatty acid adequate diet on the improvement of learning related brain function was investigated. On the second day after conception, Sprague Dawley strain dams were subjected to a diet containing either n-3 fatty acid adequate (Adq, 3.4% linolenic acid) or n-3 fatty acid adequate+docosahexaenoic acid (Adq+DHA, 3.31% linolenic acid plus 9.65% DHA). After weaning, male pups were fed on the same diet of their respective dams until adulthood. Motor activity and Morris water maze tests were measured at 10 weeks. In the motor activity test, there were no statistically significant differences in moving time and moving distance between the Adq and Adq+DHA diet groups. The n-3 fatty acid adequate with DHA (Adq+DHA) group tended to show a shorter escape latency, swimming time and swimming distance compared to the n-3 fatty acid adequate group (Adq), but the differences were not statistically significant. There was no difference in resting time, but the Adq+DHA group showed a higher swimming speed compared to the Adq group. In memory retention trials, the numbers of crossing of the platform position (region A), in which the hidden platform was placed, were significantly greater than those of other regions for both Adq and Adq+DHA groups. Based on these results, adding DHA into the n-3 fatty acid adequate diet from gestation to adulthood tended to induce better spatial learning performance in Sprague Dawley rats as assessed by the Morris water maze test, although the difference was not significant.

Key words : Brain function, docosahexaenoic acid, Morris water maze, n-3 fatty acid, spatial learning

서 론

뇌 및 망막을 포함하는 신경계의 인지질막에는 고도로 불포화된 지방산들이 풍부하며 그 중 n-3계 지방산인 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3)의 함량이 높으며 이것은 특히 등 푸른 생선에 많이 함유되어 있어 현대인들의 웰빙 건강식으로 이들의 섭취가 권장되고 있다. 뇌의 적절한 DHA 함량 유지와 기억, 학습 등 지능 및 사고와 관련된 뇌 기능 향상성에 대해서 이미 많은 연구자들에 의해 보고되었다[5,10,13,15,25]. 이들 연구들의 접근방식은 신경계에서 DHA의 역할을 알아보기 위하여 DHA가 결핍된 식이로 2-3세대 동안 사육한 후 뇌의 DHA 함량이 극히 낮은 동물을 생성하여 이들의 뇌 기능 장애를 밝히는 것이다. 한 예로 3 세대동안 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 동물군은 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이로 사육된 동물군보다 공간 기억학습 능력이 떨어짐이 보고[10]되었고, Greiner 등[5]의 연구에서도 후각을 기초로 한 기억학습 실험에서 3세대동안 n-3 지방산 결핍은 냄새의 구별에 있어서

기억 학습장애가 나타났음이 보고되었다. G-protein에 의한 신호전달에 미치는 효과에 관한 연구[13]에서 장기간 n-3 지방산 결핍은 망막 내 rhodopsin 활성화 감소 및 rhodopsin-transduction coupling 활성 감소를 보여 망막 내 신호전달 체계의 결함을 야기시켰고 이밖에도 electroretinogram을 이용한 망막의 활성 실험[25]에서도 신경계 기능 향상성에서 DHA 역할의 중요성을 부각시켰다. 또 다른 연구 방식으로 n-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA의 보충에 의한 뇌 기능 개선효과에 대한 연구들로 Willatts 등[26]은 신생아 대상 연구에서 DHA가 함유된 분유를 섭취한 유아의 경우 다가불포화지방산이 결핍된 대조군에 비하여 문제 해결능력이 우수함을 보고하였다. Lim과 Suzuki [8]의 연구에서도 노령 마우스에 2% DHA를 첨가한 식이로 4개월간 사육한 후 미로 기억 학습 능력을 측정된 결과 n-3 지방산이 결핍된 식이군에 비하여 물이 있는 출구까지 걸리는 시간이 짧았으며 미로 중간 블록에 들어가 머무는 횟수도 적었다고 보고하였다. Gamoh 등[3]도 만성적인 DHA 섭취는 기억력을 개선시키고 오히려 뇌의 지질과산화물 함량을 감소시켜 신경조직의 환경을 바람직하게 유지시킨다고 보고하였고 Lim의 연구[9]에서도 임신에서부터 성인이 될 때까지 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 쥐와

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

비교할 때 DHA가 첨가된 식이로 사육된 쥐의 경우 우수한 공간 기억 학습능력을 나타냄을 보고하였다. 이상의 연구들은 3세대 동안 n-3 지방산이 결핍된 동물의 뇌 기능 장애와 n-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA를 보충하므로써 뇌 기능 개선 효과에 관하여 살펴 본 것이다.

α -Linolenic acid (LNA)는 n-3계 필수지방산으로 생체 내에서 불포화과정(elongation-desaturation)을 거쳐 DHA로 전환된다. LNA는 뇌-혈관장벽을 쉽게 지나갈 수 있음에도 불구하고 뇌 조직에서 그 함량은 극히 미량이다[17]. Green과 Yavin[4]은 출생 전 쥐의 뇌 조직 지방산 연구에서 방사선으로 라벨된 DHA 투여는 뇌에 바로 축적되며 유리 지방산 풀에서 3분의 반감기를 가지는 반면, 라벨된 LNA는 60분의 반감기를 가졌다고 보고하였다. Sinclair [18]는 2주된 신생 쥐에 LNA와 DHA를 각각 투여했을 때 뇌 조직으로 DHA가 축적되는 속도는 LNA 형태보다는 DHA 형태로 주입했을 경우 59배로 빨랐다고 보고하였고 이러한 결과는 비비를 이용한 Su 등[20]의 연구 결과와도 일치하였다. 여기에 대한 정확한 기작은 잘 알려져 있지 않지만 아마도 혈류로부터 뇌의 DHA 선호성, 뇌에서 효율적인 DHA의 uptake와 보존, 및 LNA와 달리 DHA의 경우 추가적인 불포화작용이 필요 없기 때문이라고 여겨진다. 본 연구에서는 임신기부터 성인기까지 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군과 DHA를 첨가한 식이군으로 나누어 흰쥐를 사육한 후 성인이 되었을 때 이들 두 식이군 간의 공간 기억 학습능력을 Morris water maze test로 측정하여 DHA 첨가에 의한 뇌 기능 개선효과에 대하여 알아보려고 한다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 실험식이

본 실험에서는 임신 2일된 암컷 Sprague Dawley (SD)계 흰쥐 20 마리를 Charles River 실험실(Portage, MI)로부터 구입하여 각각 10마리씩 두 군으로 나누어 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군[n-3 Adequate (Adq) group]과 DHA가 첨가된 식이(Adq +DHA group)로 임신기간 및 수유기동안 사육하였다. 신생 흰쥐가 이유기가 되었을 때 각각 암컷 흰쥐로부터 1마리씩의 수컷 흰쥐를 취하여 어미 흰쥐의 식이와 동일한 식이로 10주령까지 사육하였다. 실험에 사용된 식이는 지방산의 양이 변형된 AIN-93G 표준식이[14]이고 실험식이와 음용수는 실험기간동안 자유 섭취방법으로 급여하였다. 적정 환경은 온도 23±1°C, 상대습도, 명암 12 시간 주기였다. N-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(n-3 Adq group)의 지방산 조성은 16.9% linoleic acid (LA), 3.4% LNA이며 DHA는 함유되어 있지 않고 DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)의 경우는 16.9% LA로 N-3 지방산이 적절히 함유된 식이군과 함량이 같으나 LNA는 3.31%를 그리고 DHA는 9.65%를 함유하였다 (Table 1).

Table 1. Diet composition and fatty acid composition of diet

Ingredient	Amount (g/100 g)	
Casein (vitamin free)	20	
Carbohydrate	60	
Corn starch	15	
Sucrose	10	
Dextros	19.9	
Maltose-dextrin	15	
Cellulose	5	
Salt mix.	3.5	
Vitamin mix.	1	
L-Cystine	0.3	
Choline bitartrate	0.25	
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.002	
Fat:	n-3 Adequate diet	n-3 Adequate + DHA diet
Hydrogenated coconut oil	6.89	5.39
Safflower oil	1.93	1.93
Oleic acid	0.6	
Flaxseed oil	0.58	0.58
DHASCO		2.1
Fatty acid composition		
∑ Saturates	67.2	56.8
∑ Monounsaturates	9.92	11.12
Polyunsaturates		
18:2n-6	16.9	16.9
18:3n-3	3.40	3.31
22:6n-3		9.65

동물의 운동성 측정 실험(Motor activity test)

실험용 흰쥐들이 10주령이 되었을 때 일련의 동물 행동 학습 실험들이 행해졌다. 먼저 motor activity 실험을 행하여 동물들의 자발적인 운동성을 측정하였다. 각각 흰쥐들을 bedding이 깔려져 있는 쥐용 case (25 cm × 45 cm × 20 cm)에 넣고 비디오파카메라를 이용하여 이들의 moving distance와 moving time를 30분간 측정하였다[10].

Morris water maze를 이용한 공간기억력 측정 실험

Morris water maze test는 쥐의 공간 기억 학습 능력을 평가하는 방법으로 널리 사용되어 왔다[12,19]. 물탱크를 임의로 4등분하여 즉 A, B, C, D의 지역으로 나누고 서로 다른 두 개의 시작 포인트를 정하였고 벽면에 있는 은박지와 전기코드가 쥐에게 방향성에 대한 신호로 작용하였다. 물의 온도는 21°C 가량이며 1일째는 수영 훈련기간으로 흰쥐를 자유 수영시켰고 2일째 가시형태의 플랫폼톱을 A 지역 중앙에 수위보다 1 cm 높게 두어 흰쥐가 수영하면서 가시형태의 플랫폼톱이 보이도록 하였다. 흰쥐가 수영해서 목적지까지 걸리는 시간과 swimming speed를 videomax를 이용하여 측정하였다 (visible trial). 3일째부터는 A 지역 중앙에 가시형의 platform 대신에 보기 힘든 플랫폼(hidden platform)으로 치환하였

고 수면에서 약 1 cm가량 아래의 높이에 두었으며 흰쥐가 목적 플랫폼까지 걸리는 시간을 측정하였다(escape latency). 흰쥐가 성공적으로 목적 플랫폼에 도착하면 30초간 그곳에서 휴식시간을 주고 만약 90초 내에 도착하지 못하면 손으로 목적지까지 안내해 주어 30초간 휴식하게 하였다. 이러한 실험은 하루에 두 번, 다른 시작 포인트에서 측정되었고 4일 연속 진행되었다(learning trial). 실험 마지막 날에는 기존에 있었던 플랫폼을 제거하고 플랫폼이 있었던 A 지역에 대한 기억력을 지나가는 횟수로 측정하였다(memory retention trial). 즉 다른 지역인 B, C, D와 비교했을 때 A 지역을 지나가는 횟수가 많을수록 공간 기억력이 우수한 것으로 판정하였고 A, B, C, D 지역의 구별 없이 무작위로 수영하는 경우 공간 기억력이 떨어지는 것으로 판단하였다. 또한 목적 플랫폼까지 걸린 시간인 escape latency를 다시 swimming time과 resting time으로 나누어 실험동물의 전반적인 운동력을 측정하였고, swimming distance와 swimming speed도 아울러 측정하였다.

통계처리

실험결과는 Mean±SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 Statistica program (Statsoft, Tulsa, OK)을 이용하여 repeated measures one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

흰쥐의 체중과 운동성 비교

Morris water maze 실험이 종료된 후 측정된 체중은 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 경우 545.3±16.5 g이었고 DHA가 첨가된 식이군(Adq+DHA group)의 경우 582.6±8.41 g으로 DHA 첨가군의 체중이 유의적으로 높았다. 흰쥐의 운동성 측정 실험을 행하여 주어진 시간 동안 흰쥐들이 움직인 시간과 움직인 거리를 측정하여 동물들의 자발적인 운동성을 검토한 결과, 주어진 시간 내 움직인 시간의 경우, n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)과 DHA가 첨가된 식이군(Adq+DHA group) 간에 유의적 차이를 관찰할 수가 없었고 총 움직인 거리에도 두 군 간에 유의적 차이가 없었다(Fig. 1).

흰쥐의 공간기억력 비교

가시형태의 플랫폼을 이용한 visible trial에서 목적지까지 도착하는 시간, 목적 플랫폼위에 성공적으로 올라간 흰쥐들의 수 및 수영속도에는 두 식이군간에 유의적 차이가 없었다. 학습효과(learning trial) 실험에서 두 식이군 모두 반복

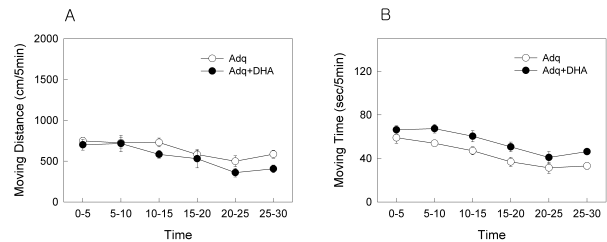


Fig. 1. Effect of treatment with docosahexaenoic acid on moving distance (A) and moving time (B) in the motor activity test. The values are presented as the mean±SEM, with n=10 rats.

된 실험으로 시간의 경과와 더불어 목적 플랫폼까지 걸리는 시간(escape latency)이 단축되었다(Fig. 2). 그러나 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 경우, 목적 플랫폼까지 걸리는 시간이 DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)에 비하여 길었음을 관찰할 수가 있었으나 두 식이군간의 통계적 유의성은 없었다. 실험 3일째 DHA가 첨가된 식이군(Adq+DHA group)의 경우, 목적 플랫폼까지 찾아가는 시간은 약 36초(두 번의 trial 합산한 시간)였으며 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 경우 약 64초였으나 같은 그룹 내의 개별 차이가 심하여 통계적 유의성은 없었다. Fig. 3은 두 식이군 간의 수영한 거리(swimming distance)와 수영 속도(swimming speed)를 나타낸 것으로 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 경우, DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)에 비해 수영 풀에서 움직인 거리가 긴 것을 관찰할 수가 있었으나 여기에서도 목적지까지 걸리는 시간과 유사하게 유의적 차이는 없었다. 그러나 수영 속도에는 DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)이 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)보다 유의적으로 빨랐음을 살펴 볼 수가 있었다(p<0.05). Fig. 4에서는 두 식이군의 흰쥐들이 목적 플랫폼까지 걸린 시간을 수영한 시간(swimming time)과 쉬

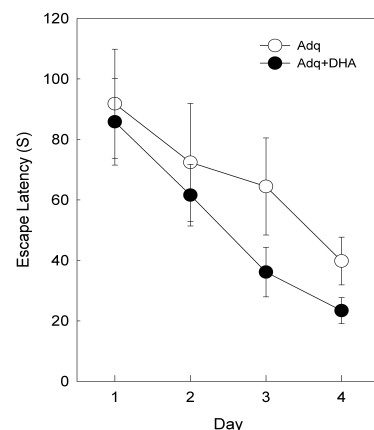


Fig. 2. Effect of treatment with docosahexaenoic acid on escape latency in the Morris water maze test. The values are presented as the mean±SEM, with n=10 rats.

달 동안 섭취시킨 후에 기억 학습능력이 유의적으로 개선되었다. 따라서 n-3 지방산 결핍에 따른 뇌 및 망막을 포함하는 신경계 결핍은 DHA 공급으로 회복되지 않는 경우도 있는 것으로 사료되며 n-3 지방산이 결핍된 시기와 기간, 및 DHA 공급 시기와 투여 기간 등이 주요인이 되는 것으로 판단된다. 본 연구의 결과에서는 임신기부터 성장기동안 추가적인 DHA 투여에 의해 공간기억력이 다소 나은 효과가 있었으나 n-3 지방산을 이미 적절히 섭취하고 있는 군과 비교해서 유의적 차이는 없었다. Valenzuela 등[22]은 임신 중인 쥐에게 LNA 및 DHA를 각각 투여한 후 출생 전과 후에 신생 쥐의 대뇌피질, 해마 및 소뇌의 지방산 조성을 검토한 결과 두 식이군의 차이가 없었다고 보고하였다. 그러나 Carrie 등[1]은 n-3와 n-6 지방산이 적절히 함유된 식이의 DHA 첨가는 Morris water maze test에서 이전의 플랫폼 자리를 기억하는 능력이 우수함을 보고하였다. 또 다른 연구에 의하면 3 세대동안 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이로 사육한 후 10주 동안 DHA 섭취는 대조군에 비해 해마의 DHA 함량 증가와 더불어 미로 기억력의 개선을 보고하였다. 한편, 미숙아의 경우 n-3 지방산 원천으로 LNA만으로 구성된 분유를 수유할 경우 지속적인 혈장 내 DHA 함량이 감소되어 뇌와 망막의 DHA 함량도 감소하였고 DHA를 함유하고 있는 분유를 섭취한 대조군에 비하여 시력이 떨어짐이 보고되었다[16,21]. 따라서 미숙아의 경우에는 정상적인 뇌 성장 발달을 위해서는 LNA뿐만 아니라 추가적인 DHA의 공급이 필요하다고 사료된다.

요 약

SD계 흰쥐를 사용하여 motor activity 실험에서 동물들의 자발적인 운동성을 측정된 결과, 주어진 시간 내 움직인 시간과 움직인 거리에는 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)과 DHA가 첨가된 식이군(Adq+DHA group)간에 유의적 차이를 관찰할 수가 없었다. 학습효과 실험에서 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 경우 목적 플랫폼까지 걸리는 시간이 DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)에 비하여 다소 길었으나 유의적 차이는 관찰할 수가 없었다. 수영 속도(swimming speed)에서 DHA 첨가 식이군(Adq+DHA group)의 경우, n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)에 비해 유의적으로 빨랐으나 수영 풀에서 움직인 거리(swimming distance)에는 두 식이군 간의 유의적 차이가 없었다. 두 식이군의 흰쥐들이 수영한 시간(swimming time)과 쉬고 있는 시간(resting time)의 경우, 쉬는 시간에는 유의적 차이가 없었으나 수영 시간 또한 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이(Adq group)로 사육된 쥐가 DHA가 첨가된 식이로 사육된 쥐(Adq+DHA group)보다 수영한 시간이 길었으나 여기서도 유의적 차이는 없었다. 기억력 테스트에서 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group) 및 DHA가 첨가된

식이군(Adq+DHA group) 모두는 목적 플랫폼이 있었던 A 지역에 대한 기억이 우수하여 다른 지역들인 B, C, D를 지나가는 횟수보다 유의적으로 많았음을 관찰하였다($p < 0.05$). 이상의 결과로부터 임신에서부터 성인이 될 때까지 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이로 사육된 쥐와 비교할 때 DHA가 첨가된 식이로 사육된 흰쥐가 Morris water maze를 이용한 공간기억력 실험에서 다소 우수한 기억 학습효과를 나타내었으나 유의적 차이는 없었음을 관찰 할 수가 있었다.

References

1. Carrie, I., P. Guesnet, J. M. Bourr, and H. Frances. 2000. Diets containing long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids affect behavior differently during development than aging in mice. *Br. J. Nutr.* **83**, 439-447.
2. Connor, W. E. and M. Neuringer. 1988. The effect of n-3 fatty acid deficiency and repletion upon the fatty acid composition and function of brain and retina. pp. 275-294, In Karnovsky, M. L., A. Leaf, and L. C. Bolls (eds.), *Biological Membranes: Aberrations in Membrane Structure and Function*, Liss Inc., New York.
3. Gamoh, S., M. Hahimoto, K. Sugioka, M. Shahdat-Hossain, Y. Misawa and S. Masumura. 1991. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats. *Neurosci.* **93**, 237-241.
4. Green, P. and E. Yavin. 1998. Mechanisms of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *J. Neurosci. Res.* **52**, 129-136.
5. Greiner, R. S., T. Moriguchi, B. M. Slotnick, A. Hurrion, and N. Salem. 2001. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol. Behav.* **72**, 379-385.
6. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2000. Intakes of dietary docosahexaenoic acid ethyl ester and egg phosphatidylcholine improve maze-learning ability in young and old mice. *J. Nutr.* **130**, 1629-1632.
7. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2001. Changes in maze behavior of mice occur after sufficient accumulation of docosahexaenoic acid in brain. *J. Nutr.* **131**, 319-324.
8. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2005. Effect of dietary docosahexaenoic acid on maze-learning ability in aged mice fed n-3 fatty acid deficient diet. *Food Sci. Biotechnol.* **14**, 788-792.
9. Lim, S. Y. 2007. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid from gestation to adulthood on spatial learning performance in rat. *J. Life Sci.* **17**, 1400-1405.
10. Moriguchi, T., R. Greiner, and N. Salem. 2000. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J. Neurochem.* **75**, 2563-2573.
11. Moriguchi, T. and N. Salem. 2003. Recovery of brain docosahexaenoate leads to recovery of spatial task performance. *J. Neurochem.* **87**, 297-309.
12. Morris, R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods*

- 11, 47-60.
13. Niu, S. L., D. C. Mitchell, S. Y. Lim, Z. M. Wen, H. Y. Kim, N. Salem, and B. J. Litman. 2004. Reduced G protein-coupled signaling efficiency in retinal rod outer segments in response to n-3 fatty acid deficiency. *J. Biol. Chem.* **279**, 31098-31104.
 14. Reeves, P. G., F. H. Nielsen, and G. C. Fahey. 1993. Committee report on the AIN-93 purified rodent diet. *J. Nutr.* **123**, 1939-1951.
 15. Salem, N., B. Litman, H. Y. Kim, and K. Gawrisch. 2001. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* **36**, 945-959.
 16. SanGiovanni, J. P., S. Parra-Cabrera, G. A. golditz, C. S. Berkey, and J. T. Dwyer. 2000. Meta-analysis of dietary essential fatty acids and long-chain polyunsaturated fatty acids as they related to visual resolution acuity in healthy preterm infants. *Pediatr.* **105**, 1292-1298.
 17. Sastry, P. 1985. Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. *Prog. Lipid Res.* **24**, 69-176.
 18. Sinclair, A. J. 1975. Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acids into liver and brain of developing rat. *Lipids* **10**, 120-123.
 19. Stewart, C. A. and R. Morris. 1993. The water maze. pp. 107-122, In Sagal, A. (ed.), *Behavioral Neuroscience: A Practical Approach*, Vol. 1, Oxford University Press, New York.
 20. Su, H. M., M. C. Huang, N. M. R. Saad, P. W. Nathanielsz, and J. T. Brenna. 2001. Fetal baboons convert 18:3n-6 to 22:6n-3 in vivo: a stable isotope tracer study. *J. Lipid Res.* **42**, 581-586.
 21. Uauy, R. D., D. G. Birch, E. E. Birch, J. E. Tyson, and D. R. Hoffman. 1990. Effect of dietary omega-3-fatty-acids on retinal function of very-low-birth-the-weight neonates. *Ped Res.* **28**, 485-492.
 22. Valenzuela, A., R. Van Bernhardt, V. Valenzuela, G. Ramirez, R. Alarcon, J. Sanhueza, and S. Nieto. 2004. Supplementation of female rats with alpha- linolenic acid or docosahexaenoic acid leads to the same omega-6/omega-3 LC-PUFA accretion in mother tissues and in fetal and newborn brains. *Ann. Nutr. Metab.* **48**, 28-35.
 23. Weisinger, H. S., A. J. Vingrys, B. V. Bui, and A. J. Sinclair. 1999. Effect of dietary n-3 deficiency and repletion in the guinea pig retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **40**, 327-338.
 24. Weisinger, H. S., J. A. Armitage, A. J. Sinclair, A. J. Vingrys, P. Burns, and R. S. Weisinger. 2001. Perinatal omega-3 fatty acid deficiency affects blood pressure later in life. *Nature Med* **7**, 258-259.
 25. Weisinger, H. S., J. A. Armitage, B. G. Jeffrey, D. C. Mitchell, T. Moriguchi, A. J. Sinclair, R. S. Weisinger, and N. Salem. 2002. Retinal sensitivity loss in third-generation n-3 PUFA-deficient rats. *Lipids* **37**, 759-765.
 26. Willatts, P., J. S. Forsyth, M. K. DiModugno, S. Varma, and M. Colvin. 1998. Influence of long-chain polyunsaturated fatty acids on infant cognitive function. *Lipids* **33**, 973-980.