

I lattini formulati non sono tutti uguali

Verduci Elvira- Clinica Pediatrica - Ospedale San Paolo – Università di Milano

I lattini formulati

Dalla composizione in nutrienti alla loro funzione nel bambino

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha sottolineato l'importanza del latte materno per una crescita ottimale del bambino sia a breve che a lungo termine. A tale proposito è stata evidenziata la minore incidenza di patologie infettive nei bambini allattati al seno, sia nei paesi industrializzati che nei paesi non industrializzati. Studi recenti hanno inoltre evidenziato che l'allattamento al seno è associato ad un migliore quoziente intellettivo e ad una minore prevalenza di sovrappeso ed obesità, sia durante l'infanzia che l'adolescenza. L'effetto dell'allattamento al seno nella prevenzione dell'atopia e dei sintomi allergici nella popolazione pediatrica in realtà non è ancora ben definito (1). L'OMS consiglia di proseguire l'allattamento al seno esclusivo fino ai 6 mesi di vita, sia per i bambini che vivono in paesi in via di sviluppo che per i bambini che vivono in paesi industrializzati. Il ruolo delle formule adattate dovrebbe essere quindi quello di fornire un sostituto sicuro e nutrizionalmente adeguato al latte materno, nel caso in cui la madre non sia in grado di allattare per qualsiasi motivo, inclusa la scelta della madre stessa di non allattare al seno. Il tasso di allattamento al seno sta aumentando notevolmente nei paesi occidentali, come è stato evidenziato anche da una recente indagine epidemiologica svolta in Italia (2), ma, relativamente alla durata, il numero di madri che allattano al seno dopo 4-6 mesi in Europa è ancora al di sotto dei livelli ottimali auspicabili (3).

Quindi le formule adattate presenti sul mercato dovrebbero essere studiate per:

- Fornire la migliore alternativa al latte materno per i bambini che non possono essere allattati al seno fino ai 6 mesi di vita;
- Sostituire il latte materno dopo i 6 mesi di vita avvicinandosi agli effetti strutturali e funzionali osservati nell'allattato al seno.

I recenti sviluppi nella formulazione di quelli che un tempo erano chiamati "lattini artificiali" sono indirizzati a riprodurre quindi gli effetti funzionali più che la composizione quantitativa del latte materno. Il termine "nutriente funzionale" è entrato a far parte del linguaggio scientifico e sono stati aggiunti o si stanno studiando nuovi nutrienti da aggiungere ai lattini formulati. Sono stati considerati:

- Gli acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LCPUFA: Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids) per la composizione del tessuto cerebrale e per lo sviluppo neurologico;
- I probiotici e i prebiotici per la flora batterica intestinale e la difesa immune locale a livello intestinale;
- I nucleotidi per la promozione della risposta immunitaria;
- Possibili modificazioni nella composizione quantitativa e qualitativa delle proteine per bilanciare il pattern aminoacidico plasmatico (rilevante soprattutto negli stadi più precoci dello sviluppo cerebrale per la funzione dei neurotrasmettitori) e per ridurre l'intake proteico nelle prime epoche di vita (fattore riconosciuto importante per la prevenzione di sovrappeso ed obesità);
- L'introduzione di proteine idrolizzate per la prevenzione dell'atopia.

La conseguenza pratica di quanto esposto precedentemente è che ogni industria per prodotti dietetici ha indirizzato la ricerca con l'obiettivo di introdurre nella composizione dei propri prodotti composti che, rientrando nel gruppo dei nutrienti funzionali, potessero dare un'ulteriore caratteristica di dinamicità funzionale a un prodotto in origine pensato solo dal punto di vista "quantitativo" dei nutrienti. In pratica, al concetto di formula come sostituto obbligato del latte vaccino per l'allattamento non materno, si va oggi sostituendo quello di alternativa al latte materno quando questo non fosse più disponibile, cercando di avvicinarsi per gli effetti funzionali positivi attraverso l'aggiunta di composti selezionati.

PUNTI DA CONSIDERARE PER LA VALUTAZIONE DELLE FORMULE DI INIZIO (Starting formulas)

I nutrienti funzionali aggiunti alle formule possono essere valutati secondo due categorie principali, ovvero quelle parti dei macronutrienti che non sono direttamente utilizzati a scopo energetico o plastico

e quelle molecole e/o preparazioni finalizzate alla realizzazione di un miglioramento delle condizioni di risposta alle offese ambientali (dai microrganismi agli allergeni).

Nella valutazione dell'identità nutrizionale di ogni formula andrà posta l'attenzione su questi componenti:

- Quantità e qualità proteica, glucidica e lipidica
- Fattori a valenza immunoregolatoria: carboidrati non digeribili (prebiotici), molecole acidificanti, batteri lattici (probiotici), nucleotidi.

a. Quantità e qualità proteica

I bambini che assumono la formula adattata consumano il 65-70% di proteine in più rispetto all'allattato al seno. Questa condizione è stata associata ad un differente pattern aminoacidico plasmatico (4,5), e a differenze nel metabolismo del glucosio e dell'insulina (6,7), e al fatto che l'allattamento al seno sembra essere associato ad un minore grado di crescita di massa corporea, soprattutto tra i 6 e i 12 mesi di vita, rispetto all'allattamento con formula, differenze che scomparirebbero dal secondo anno di vita (4,8,9). Più recentemente, si è discusso sulla minore prevalenza di sovrappeso ed obesità nell'infanzia per i bambini che erano stati allattati al seno, secondo un modello dose-dipendente associato alla durata dell'allattamento al seno stesso (10). "L'ipotesi proteica" può rappresentare una interessante spiegazione biologica dello sviluppo di sovrappeso ed obesità ed è attualmente in corso un trial multicentrico europeo per verificarla (11). Di conseguenza, la composizione ideale di un latte che sostituisca il latte materno dovrebbe presentare un simile pattern aminoacidico. Molti studi mostrano che il bambino allattato con formula presenta livelli plasmatici significativamente più elevati di numerosi aminoacidi e di urea rispetto ai livelli riscontrati nell'allattato al seno. E' dimostrato che una formula a predominanza caseinica (sieroproteine:caseina 18:82), determina una concentrazione plasmatica maggiore di tirosina e fenilalanina e minore di treonina, rispetto ad una formula a prevalenza sieroproteica (60:40) (5), mentre l'ipertreoninemia è un fenomeno ben noto nei bambini che assumono una formula a prevalenza sieroproteica. Picone et al (12), hanno dimostrato che una formula con un rapporto sieroproteine/caseina 50/50 determina un pattern aminoacidico più simile a quello dell'allattato al seno, rispetto alle comuni formule con rapporto sieroproteine/caseine 60/40 o 20/80. Nonostante un quantitativo proteico totale ridotto e un rapporto sieroproteine/caseina 50/50 non è ancora tuttavia possibile raggiungere nell'allattato con formula un pattern aminoacidico plasmatico sovrapponibile a quello dell'allattato al seno. Tuttavia le proteine delle formule, non essendo specie-specifiche, non possono essere ridotte oltre certi limiti in quanto il pattern aminoacidico risulterebbe non equilibrato, per la facile discesa a livelli sottominimali di alcuni aminoacidi essenziali, in primo luogo il triptofano. Quindi attualmente, due sono gli approcci finalizzati a ridurre la quota proteica delle formule, senza determinare un'alterazione del quadro aminoacidico: 1) rimozione del glicomacropptide dalle sieroproteine, con una conseguente riduzione della quota di treonina, aminoacido aumentato nei lattanti alimentati con formula a prevalenza sieroproteica (13); 2) arricchimento delle formule con alfa-lattoalbumina, ricca in triptofano, aminoacido limitante nei latti formulati a basso contenuto proteico. Nel neonato il triptofano e i suoi metaboliti sono infatti essenziali per un ottimale sviluppo cerebrale e per un corretto sviluppo dei sistemi di regolazione della fame, della sazietà e del ritmo sonno-veglia. Grazie all'elevata concentrazione di triptofano nel latte materno in rapporto agli altri aminoacidi neutri, il trasporto del triptofano stesso, precursore di serotonina e melatonina, attraverso la barriera ematoencefalica è ottimale. Al contrario le formule presentano una bassa concentrazione di triptofano con una quota più elevata degli altri aminoacidi neutri. Questo sembra essere legato principalmente ad una minore concentrazione di α -lattoalbumina nel latte vaccino rispetto al latte materno. I bambini a cui è stata somministrata una formula a basso contenuto proteico, ma arricchita con α -lattoalbumina, hanno evidenziato una concentrazione di aminoacidi nel siero molto più simile a quella dell'allattato al seno (14). Grazie ai nuovi metodi di frazionamento delle sieroproteine, permettendo la rimozione del caseino-glicomacropptide, ricco in treonina e povero in triptofano, e aumentando la proporzione di α -lattoalbumina, ricca in triptofano, i bambini allattati con formula potrebbero raggiungere un quadro aminoacidico simile a quello dei bambini allattati al seno.

b. Probiotici e prebiotici

Probiotici (ovvero il microrganismo vivo ad effetti benefici sull'ospite) e prebiotici (ovvero il substrato del probiotico indigeribile dall'uomo) sono entrati nel lessico sia clinico che scientifico nel corso degli ultimi

anni. Il principale effetto riconosciuto a probiotici e prebiotici è quello della modulazione della flora intestinale. Non sappiamo ancora con certezza se i probiotici (assunti direttamente o stimolati dai prebiotici) agiscano indipendentemente sul sistema immune, localmente o attraverso la via sistemica, e, nel caso di quest'ultima, attraverso quali meccanismi. Bifidobatteri e Lattobacilli rappresentano i principali ceppi benefici per l'organismo in qualità di probiotici. Lattobacillo GG, Lattobacillo reuteri, Lattobacillo acidofilo, Bifidobacterio spp., e Saccaromices boulardii sono i ceppi di cui possediamo documentati effetti positivi sull'organismo. L'attività biologica dei probiotici si esplica principalmente attraverso la loro adesione agli enterociti che inibirebbe il possibile attaccamento da parte dei ceppi enteropatogeni. Anche la produzione di batteriocine ed acidi grassi a corta catena (soprattutto l'acido butirrico) potrebbe determinare una inibizione della replicazione dei patogeni. I probiotici sono stati impiegati con successo sia nella terapia di forme gastroenteriche, che nella loro prevenzione (15). Alcuni ceppi probiotici sembrano in grado anche di modificare processi infiammatori di natura allergica, secondo le osservazioni di studi anche a medio-termine (protraentesi cioè oltre il periodo di utilizzo) (16). Il prebiotico (costituito in genere da oligosaccaridi non digeribili) è un ingrediente alimentare che influisce positivamente sull'organismo stimolando selettivamente la crescita e l'attività di ceppi batterici già presenti nell'organismo, in particolare nel colon. Scopo dell'utilizzo di prebiotici è quello di modificare la composizione della microflora commensale stimolando la colonizzazione da parte di commensali di accertata azione vantaggiosa nei confronti dell'organismo. Gli effetti verificati a tutt'oggi consistono nell'incremento dei Bifidobatteri e Lattobacilli, e nella diminuzione di Escherichia coli e Clostridi. Lattulosio, fruttooligosaccaridi (di derivazione vegetale, FOS) e galattooligosaccaridi (di sintesi, GOS) sono i principali composti di utilizzo su base industriale in grado di influenzare in maniera selettiva e vantaggiosa la microflora intestinale. Recenti studi hanno definito gli effetti dell'aggiunta a formule di inizio di una miscela di oligosaccaridi prebiotici costituita da 90% GOS e 10% FOS (fino a 0.8 g/dL). Tale tipo di supplementazione porta ad un'aumentata eliminazione di Bifidobatteri e Lattobacilli con le feci e l'effetto sembra essere dose dipendente (17). Si è osservata anche una regolarizzazione della frequenza delle evacuazioni e una modificazione della consistenza delle feci, che risultano più soffici. Tutte le formule supplementate con prebiotici sono ben tollerate e non viene descritto alcun effetto collaterale legato alla loro assunzione. Recentemente sono stati pubblicati due documenti da parte del Comitato di nutrizione dell'ESPGHAN in cui sono stati messi in evidenza i punti salienti da tenere presenti relativamente all'utilizzo di probiotici e prebiotici nei prodotti dietetici per l'infanzia (18,19) (Tabella 1). Va segnalato che una terza via in fase di studio ed utilizzata in alcuni latti prevede l'utilizzo di un processo di fermentazione separata per le proteine, che porta alla presenza di metabolici attivi prodotti durante la fermentazione del latte, con effetti di stimolazione delle difese analoghi a quelli osservati con supplementazioni di prebiotici e/o probiotici (20,21)

c. Acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LCPUFA) per lo sviluppo neurologico

Le associazioni frequentemente riportate di un migliore sviluppo neurocomportamentale negli allattati al seno nei confronti degli allattati artificialmente (22) ha suggerito alcune ipotesi sul possibile ruolo degli LCPUFA. Con il termine LCPUFA si intende in particolare l'acido arachidonico (AA, 20:4n-6) e l'acido docosaesaenoico (DHA, 22:6n-3), che derivano rispettivamente dall'acido linoleico (LA, 18:2n-6) e dall'acido alfa-linolenico (ALA, 18:3n-3). L'ipotesi che gli LCPUFA possano avere un ruolo nella performance del tessuto nervoso è supportato da dati sperimentali, anatomopatologici e clinici. Studi effettuati su modelli animali negli anni '80, infatti, hanno dimostrato un possibile ruolo degli LCPUFA assunti con la dieta nel miglioramento della risposta neuronale, soprattutto nei processi visivi. Numerosi studi hanno evidenziato effetti benefici legati alla somministrazione di ALA, con il significato di una maggiore disponibilità di substrati per la sintesi di DHA. Le differenze relative al contenuto di DHA nel tessuto nervoso cerebrale, studiate in bambini deceduti per SIDS, in relazione al diverso tipo di alimentazione (il contenuto in DHA risulta maggiore del 30-40% nei lobi frontali nei bambini allattati al seno) (23) ha focalizzato l'attenzione sul ruolo del DHA nello sviluppo del tessuto nervoso nell'uomo soprattutto nelle prime fasi della vita. Di conseguenza, gli studi clinici sono stati indirizzati, oltre all'aspetto neurofisiologico, anche agli effetti a lungo termine sul quoziente intellettivo. Anche i neonati di peso molto basso alla nascita sono in grado di sintetizzare gli LCPUFA, ma il problema fondamentale è relativo alla possibilità di sintetizzare un quantitativo di LCPUFA adeguato per permettere un ottimale sviluppo (24). Il problema della definizione del ruolo (essenzialità? essenzialità condizionata?)

semiessenzialità?) di AA e DHA nell'infanzia, è stato ampiamente analizzato tramite meta-analisi da esperti. La definizione della funzione degli LCPUFA nell'infanzia è stata considerata in termini di raccomandazioni dietetiche da parte di numerosi organismi e comitati internazionali. La questione si pone soprattutto sulla base di alcuni esiti funzionali neurologici, poiché la semplice supplementazione esogena con LCPUFA ne determina comunque un aumento dei livelli plasmatici, senza un sicuro corrispettivo funzionale. Secondo autorevoli studiosi, *“le formule adattate per i nati a termine dovrebbero contenere almeno 0.2% degli acidi grassi totali come DHA e 0.35% come AA, mentre le formule per i pretermine dovrebbero includere almeno 0.35% DHA e 0.40% AA”* (25). Mentre per i prematuri le analisi sistematiche della letteratura ne confermano la validità dell'utilizzo, nel caso dei neonati a termine vi sono ancora interpretazioni diversificate dei dati, anche perché mancano osservazioni a medio e lungo termine (26). Le revisioni sistematiche e le raccomandazioni attualmente a disposizione sottolineano d'altro canto la mancanza di effetti avversi legati alla supplementazione dietetica con LCP. Un lavoro di metanalisi dei dati dei diversi trial ha dimostrato che in nessuna caso la somministrazione di LCPUFA n-3, isolata o in combinazione con acido arachidonico, risulta associata a depressione dello sviluppo dei parametri staturale-ponderali (27).

d. Nucleotidi

Il latte materno presenta una concentrazione di nucleotidi molto più elevata del latte vaccino, alimento da cui derivano i latti formulati. Poiché tali molecole risultano estraibili e possono venire aggiunte alle formule, in considerazione del loro potenziale effetto stimolante sulla risposta immune, un numero sempre maggiore di latti formulati viene supplementato con nucleotidi (28). I nucleotidi (NT), e i metaboliti ad essi correlati, svolgono un ruolo chiave in numerosi processi biologici. I NT possono essere sintetizzati dall'organismo e quindi non vengono considerati nutrienti essenziali. Alcuni studi hanno però dimostrato che i NT assunti con la dieta possono apportare benefici; per descrivere il loro ruolo nell'alimentazione umana è stato utilizzato il termine “condizionatamente essenziali”. Questi nutrienti possono diventare essenziali nel momento in cui l'apporto endogeno risulta insufficiente per le normali funzioni, anche se la loro assenza nella dieta non determina una classica sindrome carenziale. Gran parte dei NT assunti con la dieta sono rapidamente metabolizzati ed escreti. In realtà una parte di essi viene incorporata nei tessuti, soprattutto nelle prime fasce d'età o nelle situazioni di malnutrizione. Nel caso di un limitato intake di NT, di rapida crescita, o di alcuni stati patologici, l'apporto dietetico di NT può supportare la sintesi de novo ed ottimizzare la funzione dei tessuti in rapida crescita, come nel caso della mucosa gastrointestinale e delle cellule del sistema immunitario. I bambini assumono NT tramite il latte materno, sotto forma di acidi nucleici, nucleosidi, nucleotidi e metaboliti correlati (29). Il contenuto in NT del latte materno è molto più elevato rispetto ai latti formulati. I NT assunti con la dieta sono stati associati ad un'aumentata difesa a livello gastrointestinale e immunitaria in numerosi studi (30). In alcuni studi è stato dimostrato che bambini che assumono un latte formulato supplementato con NT, rispetto ad una formula non supplementata, presenta una minore incidenza di diarrea (31), una maggiore risposta anticorpale in seguito alla vaccinazione anti *Haemophilus influenzae* tipo B (32), e una maggiore attività delle cellule natural killer (33). Tuttavia l'ipotesi che i nucleotidi siano nutrienti semiessenziali deve essere ulteriormente studiata, in particolare nel caso di prematurità, ritardo di crescita intrauterino, malattie intestinali e stato di malnutrizione. Poiché non sono stati riportati effetti negativi dalla supplementazione delle formule con nucleotidi, tali composti sono considerati sicuri nel caso in cui la quota totale di nucleotidi apportata sia simile a quella del latte materno. Sono però necessari ulteriori studi per definire quale sia il preciso ruolo biologico dei nucleotidi contenuti nel latte materno, e per stabilire con cognizione critica quali siano i benefici e i livelli appropriati della supplementazione delle formule.

e. Idrolisato proteico: prevenzione delle allergie

Almeno il 30% della popolazione pediatrica è affetta da sintomi caratteristici di atopia. L'intensità delle allergie, la loro prevalenza, il disagio e i costi che ne derivano definiscono il problema dell'allergia come un campo di vasto interesse. La modificazione degli alimenti durante l'infanzia è un'area che deve essere studiata per la prevenzione di un futuro sviluppo di sintomi allergici. Il ruolo dell'allattamento in questo campo rimane controverso. L'allattamento al seno per un periodo di 4-6 mesi riduce i sintomi allergici nei bambini ad alto rischio (madre e/o padre affetti da allergia), rispetto ai bambini allattati con formula derivata dal latte vaccino, ma recenti segnalazioni indicano che la concentrazione nel latte materno di

specifici fattori di difesa può condizionare lo sviluppo della risposta allergica (34). L'utilizzo estensivo di idrolisati proteici quando il latte materno non è disponibile rimane comunque discusso come strumento di prevenzione per una questione di palatabilità, di costi e di effetto nutrizionale a lungo termine. Nel 1985 è stato presentato sul mercato il primo idrolisato parziale, come un'alternativa meno costosa e più palatabile, ad effetto preventivo e terapeutico. L'Unione Europea ha accettato la dicitura "ipoallergenico" (HA) per una formula qualora studi clinici ne confermino l'efficacia di quella formula nella prevenzione dei sintomi allergici. È stata pubblicata nel 1998 una meta-analisi (35) con lo scopo di combinare i risultati di 15 studi prospettici che hanno misurato l'effetto di una alimentazione costituita dalla somministrazione, per almeno tre mesi, di un latte ad idrolisi parziale, sullo sviluppo di sintomi allergici tra i 6 e i 60 mesi di vita in bambini ad alto rischio di allergia. La meta-analisi evidenzia che la percentuale di bambini che sviluppano sintomi allergici è circa 1/3 – 1/4 nei gruppi alimentati con formula HA rispetto ai gruppi alimentati con formula standard. Non sono stati riscontrati risultati significativi dal confronto tra il gruppo alimentato con formula HA rispetto al gruppo allattato al seno. Secondo un recente studio (GINI: German Infant Nutrition Intervention Trial) il bambino allattato al seno, alimentato con formula HA o con idrolisato spinto mostra una minore incidenza di manifestazioni allergiche se è un bambino ad alto rischio rispetto agli allattati con formula standard: le manifestazioni allergiche vengono in particolare prevenute dall'utilizzo del prodotto a base di idrolisi spinta, mentre la dermatite atopica viene ridotta dall'utilizzo di entrambi i tipi di idrolisato (36). Uno studio di coorte effettuato in Svizzera evidenzia che l'allattamento con una formula HA in bambini a rischio e non a rischio fino ai 4 mesi di vita determina una normale crescita ed un miglioramento nelle condizioni di salute generali, se confrontate con un gruppo allattato con formula standard (36). Da questi studi si evince una considerazione consolidata: l'idrolisi spinta assicura il minore potenziale allergenico all'allattato artificialmente, ma la maggiore sicurezza nutrizionale rimane dimostrata solo dall'idrolisato a basso grado di idrolisi.

Conclusioni

I vari tipi di lattini formulati per l'infanzia attualmente sul mercato hanno lo scopo di fornire una alternativa all'allattamento al seno per i neonati le cui madri non possono continuare l'allattamento al seno, in particolare nei primi sei mesi di vita, quando il latte materno dovrebbe costituire l'unica fonte di nutrienti, con l'obiettivo di ottenere gli stessi effetti strutturali e funzionali osservati nei neonati allattati al seno. Sono necessari dati di follow-up a lungo termine di neonati alimentati con i nuovi tipi di lattini formulati. Questi dati consentiranno di prendere in considerazione la performance neurocomportamentale, la prevenzione del sovrappeso e dell'obesità e gli effetti immunoallergici.

Va sottolineato che, al di là di questa prima linea di miglioramento qualitativo della composizione dei lattini formulati nella prospettiva di fornire nutrienti a valenza funzionale agli allattati artificialmente, nuove molecole sono oggi studiate e considerate per caratterizzare ulteriormente la valenza funzionale delle formule di inizio (in particolare per prematuri). Tali molecole sono rappresentate dalla lipasi stimolata dai sali biliari, dalla insulina, da miscele antigeniche a scopo "tollerogeno", e da fattori di crescita (per esempio, l'epidermal growth factor). Singolarmente, queste molecole, aggiunte a formule, potrebbero identificare una formula per funzioni ancora più specifiche, dal bambino che necessita di catch-up growth alla prevenzione e/o terapia di forme allergiche. Non siamo lontani dal momento della identificazione della possibile formula migliore per ogni bambino quando il suo alimento migliore (il latte della propria madre) non fosse disponibile.

Bibliografia

1. Sly PD, Holt PG. Commentary: breast is best for preventing asthma and allergies - or is it? *The Lancet*, vol. 360: 887, 2002.
2. Giovannini M, Banderali G, Radaelli G, Carmine V, Riva E, Agostoni C. Monitoring breastfeeding rates in Italy: national surveys 1995 and 1999. *Acta Paediatr* 2003; 92:357-63.
3. Haschke F, van Hof MA, and the Euro-Growth Study Group. The Euro-Growth study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 31 (suppl1) 2000

4. Järvenpää AL, Rassin DK, Rähä NCR, Gaull GE. Milk protein quantity and quality in the term infant I. Effects on acidic and neutral amino acids. *Pediatrics* 1982; 70:221-30.
5. Janas LM, Picciano MF, Hutch TF. Indices of protein metabolism in term infants fed human milk whey- predominant formula or cow's milk formula. *Pediatrics* 1985; 75:775-84.
6. Lucas A, Boyes S, Bloom SR, Aynsley-Green A. Metabolic and endocrine response to a milk feed in six-day-old term infants: differences between breast and cow's milk formula feeding. *Acta Paediatr Scand (Sweden)* 1981;70:195-200.
7. Axelsson IE, Ivarsson SA, Raiha NC. Protein intake in early infancy: effects on plasma amino acid concentrations, insulin metabolism, and growth. *Pediatr Res* 1989;26:614-7.
8. Dewey KG, Heinig MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lonnerdal B. Growth of breast-fed and formula-fed infants from 0 to 18 months: the DARLING study. *Pediatrics* 1992; 89:1035-1041.
9. Hediger ML, Overpeck MD, Ruan WJ, Troendle JF. Early infant feeding and growth status of US-born infants and children aged 4-71 months: analyses from the third national Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2000;72:159-67.
10. Agostoni C. Breast feeding and childhood obesity. *Pediatr Res* 2000;47:3 www.childhood-obesity.com
11. Picone TA, Benson JD, Moro G, Minoli I, Fulconis F, Rassin DK, et al. Growth, serum biochemistries, and amino acids in term infants fed formulas with amino acid and protein concentrations similar to human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9:351-60.
12. Rigo J, Boehm G, Georgi G, Jelinek J, Nyambugabo K, Sawatzki G, et al. An infant formula free of glycomacropptide prevents hyperthreoninemia in formula-fed preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;32:127-30.
13. Heine W, Radke M, Wutzke KD, Petrs E, Kundt G. Alpha-Lactalbumin-enriched low-protein infant formulas: a comparison to breast milk feeding. *Acta Paediatr Scand* 1996; 85:1024-28.
14. Szajewska H, Mrukowicz J. Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;33:S17-S25.
15. Kalliomaki M, Salminen S, Avriilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-9.
16. Moro G, Minoli I, Mosca M, Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, et al. Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34:291-5.
17. Agostoni C, Axelsson I, Braegger C, et al. Probiotic bacteria in dietary products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 365-74.
18. Agostoni C, Axelsson I, Goulet O, et al. Prebiotic Oligosaccharides in Dietetic Products for Infants: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 11;39:465-473
19. Mullie C, Yazourh A, Thibault H, Odou MF, Singer E, Kalach N et al. Increased Poliovirus-Specific Intestinal Antibody Response Coincides with Promotion of *Bifidobacterium longum*-infantis and *ifidobacterium breve* in Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial *Pediatr Res* 2004; 56:791-795
20. Thibault H, Aubert-Jacquin C, Goulet O. Effects of long-term consumption of a fermented infant formula (with *Bifidobacterium breve* c50 and *Streptococcus thermophilus* 065) on acute diarrhea in healthy infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39:147-152.
21. Anderson JW, Johnstone BM, Remley DT. Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999;525-35.
22. Farquharson J, Cockburn F, Patrick WA, Jamieson EC, Logan RW. Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet. *Lancet* 1992; 340:810-3
23. Carnielli VP, Wattimena DJ, Luijendijk IH, Boerlage A, Degenhart HJ, Sauer PJ. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatr Res* 1996;40:169-74.
24. Koletzko B, Agostoni C, Carlson SE, Clandinin T, Hornstra G, Neuringer M, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr* 2001;90:460-4.

25. Forsyth JS, Carlson SE. Long-chain polyunsaturated fatty acids in infant nutrition: effects on infant development. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4:123-6
26. Makrides M, Gibson RA, Udell T, Ried K, and the International LCPUFA Investigators. LCPUFA supplementation of infant formula does not influence the growth of term infants. *Am J Clin Nutr* 2005: in press.
27. Schlimme E, Martin D, Meisel H. Nucleosides and nucleotides: natural bioactive substances in milk and colostrum. *Br J Nutr* 2000;84 Suppl 1:S59-68.
28. Sugawara M, Sato N, Nakano T, Idota T, Nakajima I. Profile of nucleotides and nucleosides of human milk. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1995;41:409-18
29. Cosgrove M. Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. *Nutrition* 1998; 14:748-51
30. Merolla R. Evaluation of the effects of a nucleotide-enriched formula on the incidence of diarrhea. Italian multicenter national study. *Minerva Pediatr* 2000;52:699-711
31. Pickering LK, Granoff DM, Erickson JR, Masor ML, Cordle CT, Schaller JP, et al. Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. *Pediatrics* 1998;101:242-9.
32. Gil A. Modulation of immune response mediated by dietary nucleotides. *Eur J Clin Nutr* 2002;56 Suppl 3:S1-3.
33. Jarvinen KM, Laine ST, Jarvenpaa AL, et al. Does low IgA in human milk predispose the infant to development of cow's milk allergy? *Pediatr Res* 2000, 48:457-62
34. Baumgartner M., Brown CA, Exl BM., Secretin MC, von Hof M. Controlled trials investigating the use of one partially hydrolyzed whey formula for dietary prevention of atopic manifestations until 60 months of age: an overview using meta-analytical techniques, *Nutrition Res* 1998; 18:1425-42
35. von Berg A, Koletzko S, Grubl A, et al. The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: the German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized double-blind trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:533-40
36. Exl BM, Deland U, Secretin MC, Preysch U, Wall M, Shmerling DH. Improved general health status in an unselected infant population following an allergen-reduced dietary intervention programme: the ZUFF-STUDY-PROGRAMME, part II: infant growth and health status to age 6 months, *Eur J Nutr* 2000;39:145 - 156.