



Funzionalità visiva nel prematuro alimentato con infant formulae, con e senza integrazione di luteina

Emanuela Traversa¹, Giulio Ruberto¹, Rosanna Guagliano¹, Donatella Barillà¹,
Patrizia Piccinini¹, Martina Suzani¹, Chiara Bertone¹, Anna Maffia¹, Laura Bollani²,
Tiziana Figar², Mauro Stronati², Paolo Emilio Bianchi¹

¹*Clinica Oculistica e* ²*Clinica di Neonatologia, Università degli Studi di Pavia,
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Funzionalità visiva nel prematuro alimentato con infant formulae, con e senza integrazione di luteina

La luteina e la zeaxantina sono carotenoidi che costituiscono il pigmento maculare. Numerosi studi e trials clinici supportano il loro potenziale ruolo nella prevenzione e nel trattamento di alcune patologie oculari come la degenerazione maculare legata all'età. I meccanismi biologici alla base degli effetti protettivi di questi carotenoidi includono filtrazione di luce blu intensa e proprietà antiossidanti. Lo stress ossidativo è definito come uno squilibrio tra fattori pro-ossidanti ed anti-ossidanti che può portare a danno cellulare e tissutale. Il neonato, soprattutto se pretermine, è altamente soggetto a stress ossidativi, con ripercussioni sulla salute oculare. La luteina è presente nel latte umano ma non è generalmente integrata alle infant formulae. La supplementazione di luteina potrebbe aiutare a controllare l'iperproduzione di radicali liberi, proteggendo lo sviluppo visivo del bambino. Lo scopo di questo lavoro è comparare l'acuità e la funzione visiva di pretermine alimentati con infant formulae integrate con luteina con quelle di piccoli nutriti senza supplementazione della stessa.

Visual function in preterms fed infant formulas with and without lutein fortification

Lutein and zeaxanthin are carotenoids that constitute macular pigment. A lot of studies and clinical trials support the notion that they have a potential role in the prevention and treatment of certain eye diseases such as age-related macular degeneration. The biological mechanisms for the protective effects of these carotenoids may include powerful blue-light filtering activities and antioxidant properties. Oxidative stress is defined as an unbalance between prooxidant and antioxidant factors that can lead to cellular and tissue damage. The newborn, especially if preterm, is highly prone to oxidative stress, with effects on eye health. Lutein is present in human milk but is not currently added to infant formulas. Fortifying formulae with lutein might help control overproduction of free radicals and protect the infant's visual performance. The aim of this study is to compare the visual acuity and function of preterms fed lutein-fortified infant formula with that of infants fed infant formula without lutein fortification.

Introduzione

Negli ultimi anni sempre più numerosi sono stati gli studi dimostranti che la luteina, un nutriente appartenente alla famiglia dei carotenoidi, con la sua azione antiossidante, può costituire un valido ed importante fattore preventivo nei confronti di varie affezioni, sia oculari che extraoculari, riducendone il rischio di insorgenza o rallentandone il decorso [1-3, 14, 16].

La luteina incrementa la densità del pigmento maculare e può svolgere un'azione protettiva con due meccanismi sinergici: da un lato, tramite l'assorbimento della luce blu prima che raggiunga le strutture retiniche sensibili, cioè i fotorecettori, e induca un danno fotochimico; dall'altro, grazie all'effetto quenching, che determina la neutralizzazione dell'ossigeno singoletto e di altri radicali liberi [4].

Per quanto concerne le capacità visive del neonato, sappiamo che queste sono molto diverse da quelle dell'adulto, conseguenza della differente densità neuronale, della diversa morfologia delle cellule e organizzazione dei loro campi recettivi e soprattutto della non completa maturazione retinica.

Un adeguato sviluppo della fovea, attraverso un processo conosciuto come foveazione, si verifica solo dopo il quarto/quinto mese di vita. Gli stimoli ambientali e luminosi (trattamenti ospedalieri post-nascita, luce artificiale di lampade alogene, esposizione a raggi ultravioletti, etc.), possono condizionare fortemente tale processo [2, 5]. Lo stress ossidativo, così come nelle patologie legate all'età, è considerato uno dei principali fattori determinanti il danno retinico. A quest'ultimo sono particolarmente soggetti i prematuri che, a causa di problemi respiratori, vengono spesso trattati con concentrazioni di ossigeno potenzialmente dannose o sottoposti a fototerapia con luce blu. Tali pratiche terapeutiche sono importanti fonti di radicali liberi [6-9].

Nei bambini prematuri sono comuni segni come assottigliamento della retina, ipopigmentazione diffusa o chiazze di pigmento nella macula, indice di inefficiente accumulo o perdita di luteina e zeaxantina e di assenza di protezione antiossidante da parte di questi importanti micronutrienti [20]. Alterazioni nella struttura e nella corretta funzionalità dell'epitelio pigmentato retinico, inoltre, comportano gravi danni alla perfusione della retina [12-13, 15].

La luteina è presente nel latte materno in concentrazioni tre volte superiori rispetto a quelle degli altri carotenoidi. Il neonato allattato al seno ha livelli plasmatici di luteina più elevati del bambino nutrito con latte artificiale [17]. Le diverse infant formulae attualmente in commercio, infatti, non risultano arricchite con tali carotenoidi e quindi il contenuto di questi è molto basso. Il latte materno è perciò l'unica fonte di luteina per il neonato prima dello svezzamento [18-19]: l'allattamento al seno riveste di conseguenza notevole importanza per la protezione e lo sviluppo della funzione visiva del piccolo [9-11].

Scopo del lavoro

Obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare, nell'arco del primo anno di vita, lo sviluppo e la capacità visiva di 60 neonati pretermine, alimentati con sostitutivi del latte materno (infant formulae), con o senza integrazione di LUTEINofta gocce orali nella dieta sin dalla nascita. Tale valutazione è stata effettuata mediante l'utilizzo delle Teller Acuity Cards e dei Potenziali Evocati Visivi (PEV) da pattern.

Materiali e metodi

I pretermine sono stati distinti in due gruppi:

- neonati con EG ≤ 32 settimane, ulteriormente divisi in due sottogruppi (gruppo 1 e gruppo 2), a cui somministrare in maniera randomizzata LUTEINofta gocce;
- neonati con EG compresa tra 32 e 36 settimane, a loro volta distinti in due sottogruppi (gruppo 3 e gruppo 4), a cui somministrare in maniera randomizzata LUTEINofta gocce.

La numerosità della casistica inizialmente prevista era di 60 pretermine, ma quella effettiva è stata inferiore; lo studio, inoltre, è stato concluso solo da 30 soggetti. I piccoli pazienti sono stati reclutati presso la Terapia Intensiva Neonatale della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, mediante il seguente schema di randomizzazione preconstituito: se al neonato è corrisposta la lettera A gli sono state somministrate 14 gocce (0.5 ml)/die di LUTEINofta dal primo giorno di vita o di ricovero fino al raggiungimento del sesto mese di vita, a seguire 1 ml (pari a 28 gocce)/die fino ad un anno. Per quanto riguarda invece i soggetti ai quali è corrisposta la lettera B, ad essi non è stato somministrato alcun integratore contenente luteina, fino ad un anno di età. Durante il periodo sperimentale non è stata consentita alcuna assunzione di prodotti contenenti luteina. In sede di reclutamento è stata realizzata una scheda anamnestica dettagliata, che comprendeva tutte le più importanti informazioni riguardanti sesso, peso alla nascita, età gestazionale, indice di Apgar ed eventuale ventilazione assistita al momento della nascita. Inoltre sono stati presi in considerazione l'anamnesi familiare, gravidica ed eventuali patologie presenti alla nascita. Sono stati inclusi nella sperimentazione prematuri con EG ≤ 32 settimane e con EG compresa tra 32 e 36 settimane che, in assenza o indisponibilità di latte materno, necessitavano di un'integrazione esclusiva di infant formulae dal momento della dimissione o della prima visita ambulatoriale, massimo dopo 15-30 giorni di vita. Sono stati arruolati nello studio neonati che alla nascita raggiungevano un indice di Apgar >7 , mentre sono stati esclusi pretermine affetti da malformazioni sistemiche e oculari, da affezioni neurologiche documentate ecograficamente e sospette o accertate patologie genetiche. Il trattamento ha avuto inizio sin dal primo giorno di vita, fino al compimento del primo anno di età. I neonati prescelti sono stati sottoposti presso la Clinica Oculistica della Fondazione a valutazione dell'acuità visiva con le Teller Acuity Cards (TAC), espressa in cicli/grado opportunamente convertiti in Snellen equivalenti. L'efficacia della valutazione con le TAC è stata supportata dai dati della confidence (definita come il grado di certezza che ha l'operatore che il paziente abbia realmente riconosciuto una determinata frequenza spaziale su una tavola) e della compliance (definita come grado di attendibilità correlato al grado di collaborazione del bambino), espresse rispettivamente con una scala ordinale, con valori da 1 (minimo) a 5 (massimo) e nominale, alta o bassa. I piccoli pazienti sono stati sottoposti anche a PEV da pattern con stimolazioni costituite da scacchi alternati a 2 Hz per il transient, a 15 Hz per lo steady state, e con scacchi progressivi, in quest'ultimo caso da 0.5 a 1, 2, 3, 5 cicli/grado, contrasto 90%, che hanno completato la valutazione della funzione visiva. È stata rispettata la seguente tempistica:

- esecuzione, intorno al 3° mese di età corretta, di una prima valutazione dell'acuità visiva con l'utilizzo di TAC posizionate alla distanza di 38 cm e PEV da pattern.
- Intorno all'8° mese di età corretta è stata effettuata una seconda valutazione con TAC a 55 cm.
- Intorno al 12° mese di vita è infine stata eseguita una terza valutazione dell'acuità visiva con TAC a 55 cm ed un secondo PEV da pattern.

Al termine dello studio sono stati valutati i dati ottenuti e sono stati paragonati quelli del gruppo trattato con LUTEINofta a quelli dei neonati non trattati.

Risultati

I pazienti arruolati presso la Terapia Intensiva Neonatale della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia sono stati 39 (19 con EG \leq 32 settimane e 20 con EG $>$ 32 settimane). Di questi, 32 pazienti (15 con EG \leq 32 settimane e 17 con EG $>$ 32 settimane) hanno eseguito almeno la prima visita a 3 mesi di età corretta (comprensiva di PEV e TAC). Sul totale dei pazienti arruolati solo 30 hanno concluso il ciclo dei tre controlli previsti: 7 sono stati esclusi dal nostro campione poiché mai valutati e 2 pazienti hanno spontaneamente interrotto il ciclo di visite previste dopo aver eseguito il primo controllo. Dei 30 valutati, 16 (4 pazienti con EG \leq 32 settimane e 12 con EG $>$ 32 settimane) hanno assunto sin dalla nascita sostitutivi del latte materno con supplementazione di luteina, i restanti 14 infant formulae senza supplementazione della stessa (11 pazienti con EG \leq 32 settimane e 3 con EG $>$ 32 settimane) (Tabella 1). Per i 30 neonati che hanno concluso il follow-up si può affermare quanto segue: non si sono riscontrate differenze statisticamente significative, sia nei tracciati dei PEV da pattern, che nell'acuità visiva (AV) valutata con le TAC, fra i pretermine che hanno assunto LUTEINofta gocce e quelli privi di tale supplementazione. Inoltre, nel campione in esame, sia l'acuità visiva che i PEV da pattern sono migliorati in maniera direttamente proporzionale alla crescita del bambino, ottenendo all'anno di età (ultimo controllo) un tracciato elettrofunzionale paragonabile a quello di un adulto (Figura 1).

Discussione

Lo studio è iniziato nel maggio 2009 con le prime valutazioni oculistiche in neonati di tre mesi di età corretta. Il campione a tutt'oggi in nostro possesso è di 30 pazienti rispetto ai 60 previsti inizialmente dallo studio. Ciò è dovuto ad una serie di ostacoli non previsti. Innanzitutto difficoltà legate all'arruolamento dei piccoli pazienti, fragili, di difficile gestione, il più delle volte affetti da patologie sistemiche (specie respiratorie) anche gravi. Le motivazioni addotte per uscire dallo studio sono state svariate ed improrogabili. In particolare alcuni genitori hanno riferito la necessità di dover sottoporre il bambino a numerose visite di controllo di routine e per tale motivo gli esami oftalmologici dello studio sono stati spesso considerati un ulteriore aggravio al già oneroso follow-up clinico. Un paziente residente in altra regione non ha eseguito i controlli poiché troppo distante per riuscire a raggiungere la sede del follow-up. In tre casi è stata riferita intolleranza all'assunzione del latte artificiale arricchito con luteina, per cui è stata interrotta spontaneamente tale supplementazione e abbandonato lo studio; è stata rifiutata inoltre la nostra proposta di terminare il ciclo di visite, inserendo il paziente nel gruppo alimentato con infant formulae senza integrazione di luteina. Vanno segnalate per tutto il campione preso in esame, le numerose defezioni ai controlli (dovute a sindromi influenzali e respiratorie, particolarmente frequenti nei mesi invernali), che più volte sono stati riprogrammati a breve termine per rispettare il più possibile il timing del follow-up.

Una considerazione va inoltre fatta sulla metodologia utilizzata nello studio: come già descritto in precedenza, la luteina si concentra selettivamente nella macula lutea e per tale ragione sarebbe stato più appropriato eseguire un elettroretinogramma (ERG) in alternativa ai PEV. L'ERG, infatti, è la registrazione della variazione del potenziale retinico in risposta ad uno stimolo luminoso di breve durata: con esso si ottiene la valutazione dello stato funzionale della retina, in particolare dei coni e dei bastoncelli. L'esecuzione di tale esame però prevede un'ampia collaborazione da parte del soggetto: viene eseguito dopo dilatazione pupillare ed ha una durata indicativa di 40 minuti. Bisogna rimanere in un luogo buio almeno 20 minuti, affinché le cellule retiniche si adattino a una condizione di bassissima luminosità, con l'applicazione di elettrodi sulla cute e a contatto con la superficie oculare. Tale test

nella pratica clinica è somministrato anche a pazienti con età inferiore all'anno, ma solo con l'ausilio della narcosi; si è pertanto preferito utilizzare i PEV, più facilmente eseguibili in condizioni di veglia nei neonati e nei bambini in generale. Sia le TAC che i PEV da pattern si sono rivelati affidabili ed hanno fornito risultati equiparabili: laddove le TAC mostravano un'acuità visiva scarsa, i PEV erano ritardati, al contrario, quando l'AV era buona, anche i PEV risultavano migliori. Abbiamo notato che la componente dinamica (ovvero gli scacchi bianchi e neri che si alternano sullo schermo retroilluminato durante l'esame PEV), ha destato sicuramente un'attenzione maggiore rispetto alle TAC, ove lo stimolo strutturato, presentato su parte dei pannelli a fondo grigio, risultava statico e quindi meno interessante. I pazienti mostravano nei controlli successivi un grado di attenzione agli stimoli strutturati sempre minore, non attribuibile a un deficit di sviluppo delle vie visive (confermato dal parametro del rumore presente nel PEV, sempre inferiore rispetto all'ampiezza), ma al contrario, legato ad un processo di maturazione cognitivo - sensoriale, che portava il bambino ad esplorare di continuo anche l'ambiente circostante. In taluni casi, per confermare il dato PEV ottenuto, abbiamo ripetuto l'esame più volte sino a un massimo di tre durante un singolo controllo (in particolare durante il terzo controllo). La morfologia e la ripetibilità dei tracciati miglioravano nei due gruppi.

Il complesso N-P-N andava assumendo valori di ampiezza e latenza nei limiti della norma con la crescita del neonato, in maniera sovrapponibile nei due gruppi di pazienti, come conferma dei dati già presenti in Letteratura che fissano lo sviluppo delle vie visive al raggiungimento dell'anno di età. Diversamente da quanto ci saremmo aspettati, non abbiamo rilevato alcuna superiorità di maturazione della funzionalità visiva nei soggetti alimentati con latte supplementato da luteina rispetto a quelli nutriti senza tale integrazione. Non sono state colte differenze statisticamente significative nei due gruppi, sia con le TAC che con i PEV da pattern. La spiegazione di ciò non è chiara, ma si può ipotizzare che nel nato pretermine l'assorbimento della luteina non avvenga in modo completo, e/o che le successive tappe del suo metabolismo siano in qualche modo alterate e compromettano il raggiungimento dei fotorecettori retinici, o il suo utilizzo da parte di questi ultimi. Il non avere apprezzato differenze statisticamente significative fra i due gruppi considerati (con o senza supplementazione di luteina), sia con le TAC che con i PEV da pattern, conferma il parallelismo tra i due metodi. Secondo la nostra esperienza l'utilizzo delle TAC è stato un valido supporto ai PEV, esame strumentale di riferimento per valutare lo sviluppo delle vie visive, ed è da considerare quindi come ausilio rapido ed intuitivo nella valutazione dell'acuità visiva in età preverbale.

Tabelle e figure

Tabella 1. Distribuzione del campione esaminato.

	Pazienti inviati dalla neonatologia	Pazienti 1° controllo	Pazienti 2° controllo	Pazienti 3° controllo
Luteina sì, EG ≤32	7	5	4	4
Luteina sì, EG >32	15	13	12	12
Luteina no, EG ≤32	12	10	11	11
Luteina no, EG >32	5	4	3	3
TOTALE	39	32	30	30

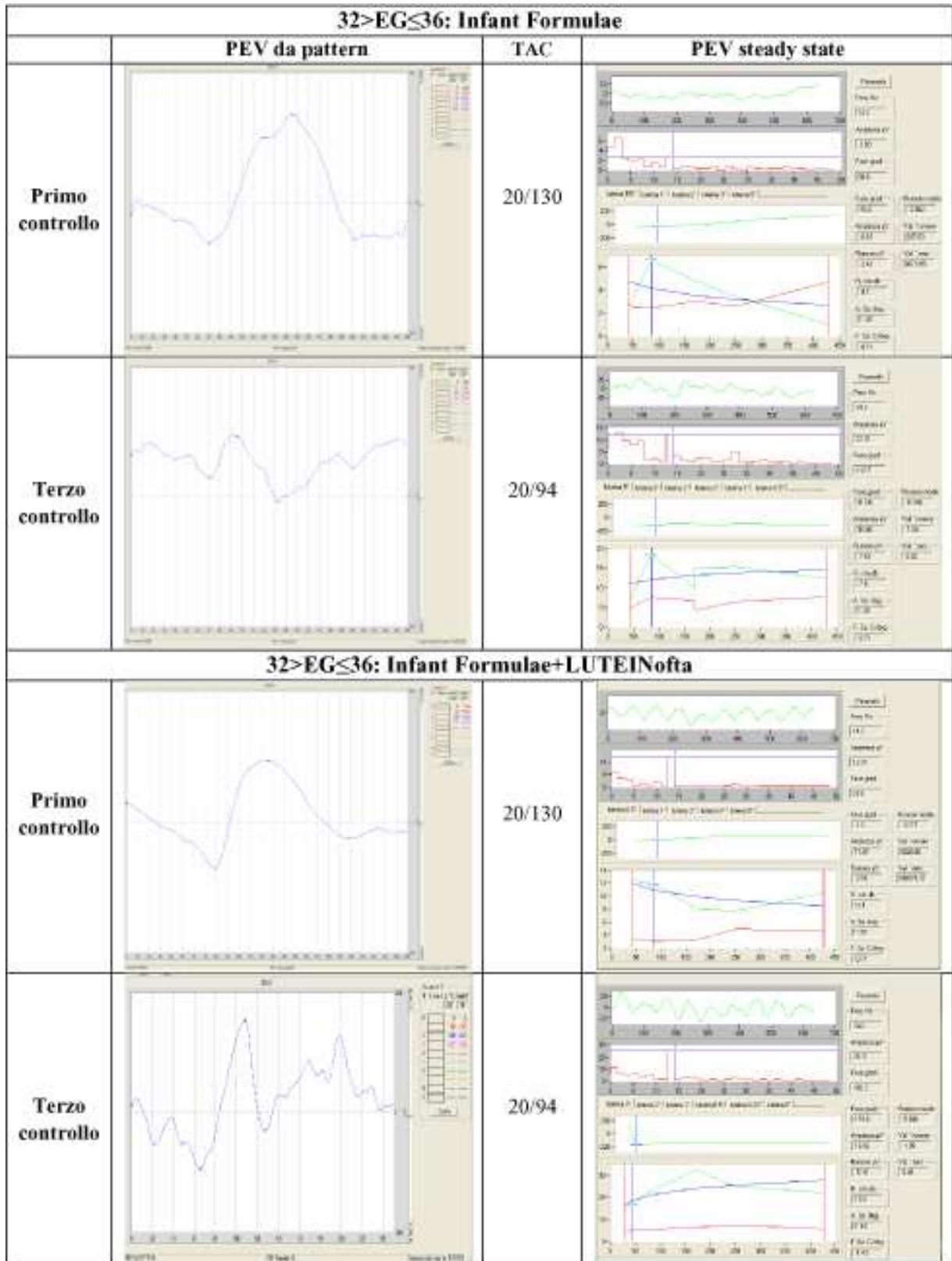


Figura 1. Tracciati PEV transient, steady state e TAC di due bambini a confronto.

Bibliografia

1. Pece F. La Luteina. *McGraw*, London, UK, 2007.
2. Brunati ., Fazzi E, Ioghà D et al. Lo sviluppo neuropsichico nei primi tre anni di vita. *McGraw*, London, UK, 1996.
3. Hoyt CS, Nickel BL, Billson FA. Ophthalmological examination of the infant. Development aspects. *Surv Ophthalmol* 1982;26:177-189.
4. Manny R. Clinical assessment of visual acuity in human infants. *Am J Optom Physiol* 1983;60:464-471.
5. Paliaga GP. L'esame del visus. *Minerva Medica*, Torino, IT, 1991.
6. Thrumann PA, Schalh W, Aebischer JC et al. Plasma Kinetics of lutein, zeaxanthin, and 3-dehydro-lutein after multiple oral doses of lutein supplement. *Am J Clin Nutr* 2005;1:82-97.
7. Sommerburg OG, Siems WG, Hurst JS et al. Lutein and zeaxanthin are associated with photoreceptors in the human retina. *Curr Eye Res* 1999;19:491-495.
8. Yeum KJ, Ferland G, Patry J et al. Relationship of plasma carotenoids, retinol and tocopherols in mothers and newborn infants. *J Am Coll Nutr*.1998;17:442-447.
9. Fanaris, Bel BO, Guidetti E et al. Ruolo della Luteina nella prevenzione delle patologie oculari nel neonato. *Rivista Italiana di Medicina Pediatrica* 2006;numero speciale:51-53.
10. Thorne R. Lutein and Zeaxanthin. Monograph. *Alternative Medicine Review* 2005;10:128-135.
11. Mares-Perlman JA, Millen AE, Ficek TL et al. The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. *Overview J Nutr* 2002;132:518S-524S.
12. Eter N, Krohne TU, Holz FG. New pharmacologic approaches to therapy age-related macular degeneration. *Biodrugs* 2006;20:167-179.
13. Jin XH, Ohgami K, Shiratori K et al. Inhibitory effects of lutein on endotoxin-induced uveitis in lewis rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2561-2568.
14. Moeller SM, Jacques PF, Blumberg JB . The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. *J Am Coll Nutr* 2007;19:522S-527S.
15. Hammond BR Jr, Wooten BR, Snodderly DM. Preservation of visual sensitivity of older subjects: association with macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:397-406.
16. Krinsky NI, Landrum JT, Bone RA. Biologic mechanism of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annu Rev Nutr* 2003;23:171-201.
17. Kiely M, Cogan PF, Kearney PJ et al. Concentrations of tocopherols and carotenoids in maternal and cord blood plasma. *Eur J clin nutr* 1999;53:711-715.
18. Schweigert FJ, Bathe K, Chen F et al. Effect of the stage of lactation in Humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions *Eur J Nutr* 2004;43:39-44.
19. Jewell VC, Northrop-Clewes CA, Tubman R et al. Nutritional factors and visual function in premature infants. *Proc Nutr Soc* 2001;60:171-178.
20. Provis Jan M, Penfold PL, Cornish EE et al. Anatomy and development of the macula: specialisation and the vulnerability to macular degeneration. *Clin Exp Optom* 2005;88:269-281.