

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**MEDICINA MATERNO INFANTILE E DELL'ETÀ  
EVOLUTIVA E FISIOPATOLOGIA DELLA  
RIPRODUZIONE SESSUALE**

Ciclo 22°

**Settore/i scientifico-disciplinare/i di afferenza: med 38**

**LE RISORSE DEL LATTE UMANO E IL SUO  
TRATTAMENTO  
(IL CONTENUTO DEL DHA NEL LATTE  
MATERNO PRE E POST PASTORIZZAZIONE  
HOLDER)**

**Presentata da: DOTT.ssa L. MARVULLI**

**Coordinatore Dottorato  
Relatore**

**PROF. G. PELUSI  
FALDELLA**

**PROF. G.**

## INDICE

Introduzione.....	pag 3
-Latte Umano.....	pag 3
-B.L.U.D.....	pag 16
-DHA.....	pag 18
Obiettivi dello studio.....	pag 30
Materiali e Metodi.....	pag 31
Risultati e Discussione.....	pag 35
Conclusioni.....	pag 41
Bibliografia.....	pag 43

# INTRODUZIONE

## LATTE UMANO

Il latte materno è l'unico alimento disponibile per il neonato e sebbene, in circostanze eccezionali, si possa somministrare latte artificiale non animale, l'uso di latte materno rimane la scelta elettiva. La capacità di produrre latte è lo straordinario fenomeno biologico appartenente ai mammiferi ed in grado di garantire la sopravvivenza della specie. Tale processo biologico è ottimale quando il rapporto fra madre e figlio non viene modificato, nel totale rispetto dello stato fisiologico. Il latte di ogni mammifero presenta diverse caratteristiche, tuttavia è dimostrato che quello nutrizionalmente più completo viene prodotto dalle specie in cui il contatto "madre-figlio" è continuo (ad esempio la specie umana). La continua modificazione della struttura del latte materno ha lo scopo di garantire al bambino la completa soddisfazione delle sue esigenze nutrizionali e la stimolazione immunitaria. Tutti i componenti presenti nel latte materno (proteine, lipidi, zuccheri, sali minerali, vitamine) si adattano in qualità ed in quantità alle mutevoli esigenze del bambino.

Il latte umano contiene, in giuste proporzioni, tutti gli elementi necessari all'organismo cui è naturalmente destinato e, anche quando proviene da specie animali diverse, rappresenta sempre un alimento ad elevato valore nutritivo.

I componenti del latte dei diversi mammiferi sono qualitativamente gli stessi, ma si riscontrano notevoli differenze a livello quantitativo nei diversi componenti, nell'ambito delle varie specie.

<b>Specie animali</b>	<b>Proteine</b>
-----------------------	-----------------

	totale (%)		Caseina (%)		Lipidi (%)	
	Glucidi (%)		Sali (%)	Acqua (%)		
<b>Donna</b>	1,7	0,6	3,7	6,8	0,5	87,3
<b>Vacca</b>	3,6	2,7	3,6	4,8	0,7	87,3
<b>Pecora</b>	5,5	4,6	6,8	4,9	0,9	81,9
<b>Capra</b>	4,1	3,1	4,9	4,6	0,8	85,5
<b>Bufala</b>	5,0	4,2	6,4	4,5	0,8	83,3

Composizione media, espressa in percentuale, del latte di diverse specie animali

I dati riportati hanno un puro valore indicativo, in quanto, la composizione del latte, seppure nell'ambito della stessa specie, varia in funzione della razza, della stagione, del tipo di alimentazione, dello stato di salute dell'animale, del periodo di lattazione, ecc...

Dai dati riportati in tabella è possibile osservare come il latte vaccino differisce da quello umano per il contenuto superiore in proteine e inferiore in zuccheri; i lipidi, al contrario, sono presenti in quantità pressoché uguali. Il latte vaccino contiene, infatti, il quadruplo delle proteine del latte umano, di conseguenza, per essere tollerato dal neonato deve essere opportunamente diluito.

Il volume e la composizione del latte umano sono variabili da donna a donna ed anche nella stessa donna variano in base al periodo di lattazione ma in media il latte materno è composto per l'1-2% da proteine, il 3,5% da grassi, il 6,5-7% da carboidrati e per il 0.5% da sali; la restante percentuale è rappresentata da acqua. La composizione del latte materno subisce delle variazioni durante la crescita del bambino, adattandosi alle sue esigenze nutritive. <sup>(1)</sup>

Tipo di latte	Proteine (g)	Lipidi (g)	Zuccheri (g)	Sodio (mEq)
Colostro	2.7	2.0	5.0	2.1
Latte di transizione	1.6	2.8	6.5	0.6
Latte maturo	1.1	3.2	7.0	0.7
Latte vaccino	3.2	3.7	4.8	2.2

Composizione media dei diversi tipi di latte materno e del latte vaccino

(i dati sono espressi per 100g)

Il latte prodotto nei primi giorni che seguono la nascita (*colostro*) è molto ricco in proteine, vitamine e immunoglobuline, rispetto al latte maturo, tuttavia, risulta essere povero in grassi, quindi, meno energetico. <sup>(2)</sup> Trascorsa la prima settimana dal parto, il latte è detto di *transizione* e può essere definito *maturo* solo dopo 10 giorni dalla nascita.

La tabella sopra elenca in modo più dettagliato il quantitativo dei diversi componenti del latte materno ai vari stadi di lattazione (colostro, latte di transizione, latte maturo), inoltre, tale composizione è posta a confronto con quella di un comune latte in formula e con latte vaccino.

Quantitativi dei nutrienti presenti nel latte umano ai 3 stadi di lattazione e confronto con latte vaccino e latte formulato

<b>Nutrienti</b>	<b>Colostro</b>	<b>latte umano</b>	<b>Latte umano</b>	<b>transizione</b>	<b>Latte</b>
	<b>umano maturo</b>	<b>Latte vaccino</b>	<b>vaccino</b>	<b>Latte in formula</b>	
Acqua (g)	88,2	87,4	87,1	87,8	87,9
Proteine (g)	2,0	1,5	1,3	3,2	1,4
Grassi (g)	2,6	3,7	4,1	3,9	3,6
Carboidrati (g)	6,6	6,9	7,2	4,8	7,1
Energia (kcal)	56	67	69	66	64
Acidi grassi saturi (g)	1,1	1,5	1,8	2,4	1,4
Acidi monoinsaturi (g)	1,1	1,5	1,6	1,1	1,3
Acidi grassi polinsaturi (g)	0,3	0,5	0,5	0,1	0,6
Colesterolo (mg)	31	24	16	14	6
Zuccheri totali (g)	6,6	6,9	7,2	4,8	7,1
Na (mg)	47	30	15	55	18
K (mg)	70	57	58	140	54

Ca (mg)	28	23	34	115	51
Mg (mg)	3	3	3	11	4
P (mg)	14	16	15	92	28
Fe (mg)	0,07	0,07	0,07	0,05	0,7
Cu (mg)	0,05	0,04	0,04	Tracce	Tracce
Zn (mg)	0,6	(0,3)*	0,3	0,4	0,4
Cl (mg)	-	86	42	100	35
Mn (mg)	Tracce	Tracce	Tracce	Tracce	Tracce
Se (µg)	-	(2)*	1	1	Tracce
I (µg)	-	-	7	15	7
Retinolo (µg)	155	85	58	52	105
Carotene (µg)	(135)*	(37)*	(24)*	21	9
Vit D. (µg)	-	-	0,04	0,03	1,07
Vit E. (mg)	1,30	0,48	0,34	0,09	1,16
Tiamina (mg)	Tracce	0,01	0,02	0,04	0,04
Riboflavina (mg)	0,03	0,03	0,03	0,17	0,10
Niacina (mg)	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4
Trypt/60 (mg)	0,7	0,5	0,5	0,7	0,3
Vit B6 (mg)	Tracce	Tracce	0,01	0,06	0,04
Vit B12 (µg)	0,1	Tracce	Tracce	0,4	0,2
Folati (µg)	2	3	5	6	9
Pantotenati (mg)	0,12	0,20	0,25	0,35	0,25
Biotina (µg)	Tracce	0,2	0,7	0,9	1,5
Vit C (mg)	7	6	4	1	7

Il valore energetico del latte umano risulta notevolmente variabile in funzione del differente contenuto in grassi tuttavia, negli standard delle tavole di composizione degli alimenti in Gran Bretagna, tale valore è pari a 67 Kcal/100ml. <sup>(2)</sup>

Il contenuto proteico del latte umano è di 0,89 g/dl, i due terzi delle proteine presenti sono sieroproteine e gli aminoacidi che le compongono sono molto differenti rispetto a quelli del latte vaccino. La concentrazione delle proteine nel latte è più alta nel colostro rispetto al latte maturo. Le proteine del latte di donna sono costituite da caseina e sieroproteine in un rapporto calcolato mediamente di 40/60. La *caseina* è una proteina che si trova solo nel latte e in quello umano è prevalentemente beta caseina.

Le sieroproteine sono: *alfa lattoalbumina*, proteina predominante nel latte materno, rappresenta una delle subunità necessarie per la costituzione dell'enzima lattosio-sintetasi; la *lattoferrina* che è la seconda più abbondante frazione proteica del siero di latte umano, prevalentemente presente nel latte maturo, è importante per l'assorbimento del ferro, e limita la sua disponibilità in forma libera necessaria per la

crescita dei ceppi patogeni (essa lega due atomi di ferro rendendolo indisponibile ai batteri, che lo utilizzerebbero per il loro metabolismo; questa attività è particolarmente efficace, poiché, blocca la proliferazione di microrganismi che spesso sono causa di serie malattie nei neonati tipo da es. *Stafilococcus aureus*). La lattoferrina interrompe anche il processo con il quale i batteri digeriscono i carboidrati, limitando ulteriormente la loro crescita).<sup>(3)</sup> Sono inoltre presenti la *sieroalbumina*; il *lisoenzima* (fattore antimicrobico aspecifico) e le *immunoglobuline*: IgM, IgG, IgA secretorie, quota maggiormente rappresentata, esse non sono assorbite dall'intestino e quindi non sono nutrizionalmente disponibili ma svolgono una funzione protettiva dalle possibili infezioni.<sup>(4)</sup> Nel latte di donna è assente la beta lattoglobulina, proteina fortemente allergizzante, che invece è la principale componente delle proteine del latte di mucca. Il latte umano contiene anche azoto non proteico in concentrazione elevata (maggiore che nel latte vaccino); in questa quota sono compresi: l'*urea*, l'*acido urico*, la *creatinina*, gli *aminoacidi liberi*, quali taurina e acido glutammico, gli *ormoni peptidici*, gli *acidi nucleici* ed i *nucleotidi*. Esso deriva principalmente da quello presente nel sangue della madre ed il suo contenuto è pressoché costante durante tutte le fasi della lattazione. <sup>(5)</sup> Il significato biologico dell'azoto non proteico non è chiaro, ma si pensa che sia importante, nelle sue varie forme, per lo sviluppo del neonato. <sup>(6)</sup> La *taurina* è un aminoacido libero presente in elevate concentrazioni nel latte umano ed è essenziale per i neonati pretermine non in grado di sintetizzarlo. Alcuni studi hanno, inoltre, evidenziato che la taurina è particolarmente concentrata in alcune regioni del sistema nervoso ed esperimenti compiuti su animali hanno indicato che la mancanza di tale aminoacido può generare difetti nello sviluppo dell'occhio. <sup>(6)</sup> La taurina può anche essere coinvolta nell'assorbimento dei grassi. <sup>(7)</sup>

I lipidi sono la fonte principale di energia nel latte umano. Il contenuto lipidico totale

del latte materno è in media di 3,9 g/dl, ma è estremamente variabile da nutrice a nutrice, nei vari periodi della lattazione e anche nell'arco della stessa poppata: la percentuale di lipidi è bassa all'inizio di ogni lattazione ed è funzione dello svuotamento precedente del seno. <sup>(8)</sup> La dieta della madre influenza la composizione ma non la quantità dei grassi. I lipidi del latte umano sono differenti da quelli contenuti nel latte degli altri animali e sono più facilmente assorbiti nell'intestino del lattante grazie alla presenza dell'enzima lipasi che si attiva in presenza dei sali biliari nel duodeno, e scinde i lipidi che risultano, così, più digeribili (9). I *trigliceridi* del latte umano differiscono da quelli del latte vaccino perché nel latte di donna predominano gli acidi grassi insaturi; inoltre gli *acidi grassi polinsaturi* essenziali sono presenti nel latte di donna in un rapporto reciproco di circa 10:1, considerato ottimale per la sintesi endogena dei rispettivi derivati a lunga catena; nel latte vaccino, invece, è presente, ed in scarsa quantità, solo l'acido linoleico. Nel latte umano tra gli acidi grassi sono presenti sia l'*acido linoleico* (C18:2n6), che l'*acido  $\alpha$ -linolenico* (C18:3n3), essenziali per una dieta sufficiente alle esigenze del bambino.

Il latte umano inoltre contiene l'*acido arachidonico*, un acido grasso polinsaturo (PUFA) a lunga catena, e l'*acido docosaesaenoico*. Questi, indispensabili per la sintesi dei fosfolipidi del cervello e della retina, sono presenti in rapporto rispettivamente di 2:1. Questi acidi grassi non sono essenziali nella dieta dell'adulto, mentre lo sono per i bambini pretermine ed i lattanti nei quali la sintesi endogena dai loro precursori (C18) non è sufficiente. Questi sono necessari per il rapido sviluppo del neonato ed inoltre sono gli unici acidi grassi utilizzati dal cervello come componenti strutturali importanti dei sistemi di membrana di tutti i tessuti. Il *Colesterolo* è presente nel latte di donna in concentrazione di 20-25 mg/dl, valore maggiore rispetto a quella del latte vaccino.

L'elevato contenuto di colesterolo del latte umano è considerato utile per la sintesi degli ormoni steroidei e degli acidi biliari. I *fosfolipidi* sono tra i maggiori componenti del tessuto nervoso, del muscolo cardiaco e del fegato, il latte di donna ne contiene circa 80 mg/dl.

Gli *acidi grassi liberi* presenti nel latte possono danneggiare le membrane di virus capsulati come i virus del vaiolo, rappresentati da pacchetti di materiale genetico rivestiti da corazze proteiche.

I carboidrati non rappresentano un nutriente essenziale della dieta umana, tuttavia, sono preposti a funzioni particolari nel latte umano in quanto favoriscono l'assorbimento del calcio, la produzione dell'acidità dell'intestino e determinano lo sviluppo della flora intestinale. Il latte umano contiene carboidrati in maggiore quantità rispetto al latte vaccino. I carboidrati svolgono anche una funzione plastica in quanto entrano nella costituzione di strutture essenziali per gli organismi viventi (acidi nucleici, lipidi cerebrali).

Gli *oligosaccaridi* sono presenti in ragionevoli concentrazioni nel colostro e vi è una forte perdita nel latte maturo (in media 2,1 g/100ml al quarto giorno di lattazione e 1,3 g/100ml al centoventesimo giorno).<sup>(10)</sup> Il latte umano, a differenza di quello vaccino, contiene un'elevata quantità di oligosaccaridi, catene lineari di zuccheri semplici, che imitano i siti di collegamento attraverso cui i batteri possono entrare all'interno delle cellule che rivestono il tratto intestinale. Questi zuccheri, perciò, riescono ad intercettare i batteri, trasformandoli in complessi innocui che il neonato espelle con le feci.

L' 1,2% degli zuccheri totali nel colostro sono monosaccaridi tra cui *glucosio* e *fruttosio*, ma questa percentuale diminuirà nel latte maturo. Il *lattosio* è il principale carboidrato presente nel latte umano: la maggior ricchezza in lattosio del latte umano

rispetto al latte vaccino corrisponde alle esigenze del lattante, in quanto l'elevato contenuto in lattosio determina bassi valori di pH, che ha un ruolo importante nell'aumentare la resistenza nei confronti delle infezioni gastrointestinali; inoltre facilita la crescita della flora intestinale aiutando a proteggere ulteriormente il neonato dalle infezioni gastrointestinali; inoltre favorisce l'utilizzazione delle proteine e degli aminoacidi liberi ed incrementa l'assorbimento intestinale di calcio e magnesio.<sup>(11)</sup> Il *glucosio* e il *galattosio*, derivati dalla scissione del lattosio, partecipano alla sintesi dei cerebrosidi, indispensabili per la normale maturazione del SNC.

Le vitamine sono nutrienti essenziali all'organismo, non tutte sono ottenibili per via metabolica, ne consegue che alcune devono essere necessariamente introdotte con gli alimenti; esse non forniscono energia ma partecipano ai processi di produzione dell'energia. Hanno l'importante funzione di "bioregolatori" per le attività metaboliche e le funzioni cellulari. Il fabbisogno di vitamine varia in rapporto all'età, all'attività, alle condizioni fisiologiche, alle abitudini alimentari.

Il latte vaccino contiene solo circa il 10-50% delle vitamine essenziali presenti nel latte umano, pertanto i bambini nutriti con latte vaccino devono ricevere un'integrazione di vitamine oppure la dieta deve essere integrata con altro cibo. I bambini allattati al seno, al contrario, non necessitano di nessun altro cibo sino all'età di cinque o sei mesi. Le vitamine si distinguono in liposolubili ed idrosolubili. La concentrazione di alcune vitamine idrosolubili, come tiamina, niacina, vit. B6, folati, pantotenati e biotina, aumenta durante la lattazione; altre invece, come vit. B12 e vit. C diminuiscono, mentre il contenuto di riboflavina rimane costante. Alcune di queste variazioni sono effetto della dieta della madre: numerosi studi hanno associato la concentrazione della *vitamina B12* nel latte alla dieta della madre questa infatti è

contenuta in minori quantità nel latte delle donne vegetariane rispetto a quello delle donne onnivore. La *Vitamina C*, contenuta in gran quantità nel latte umano, è quasi completamente assente nel latte vaccino. La produzione di tale vitamina da parte delle ghiandole mammarie umane è così efficace che lo scorbuto, malattia causata dalla sua carenza, non è mai stato riscontrato in bambini allattati al seno, anche nel caso in cui la madre ne fosse affetta. È noto, inoltre, che l'aumento nella dieta di *folati* durante la gravidanza non ha effetti sul contenuto degli stessi nel latte, perciò è evidente che sono i tessuti mammari a mantenere costante il loro contenuto. <sup>(12)</sup> La concentrazione della *vitamina A* nel latte umano diminuisce nel corso della lattazione. La *vitamina D*, che regola la capacità del bambino di assorbire il calcio, è sintetizzata dall'organismo durante l'esposizione ai raggi solari e nelle regioni nordiche deve essere supplementata poiché la madre non è in grado di sintetizzarla. La *vitamina K* è presente in scarsa concentrazione nel latte materno e attualmente è l'unica vitamina che necessita di integrazione negli allattati esclusivamente al seno al fine di prevenire la malattia emorragica del neonato. La *vitamina E* è presente in elevate concentrazioni nel colostro rispetto al latte maturo.

La biodisponibilità della maggior parte di sali minerali del latte materno è più elevata rispetto a quella del latte vaccino e del latte in formula. La concentrazione dei minerali si mantiene piuttosto costante durante il corso della lattazione, ad eccezione di *zinco*, *rame* e *ferro* i quali sono presenti in elevata concentrazione subito dopo il parto ma diminuiscono nei mesi seguenti. I bambini di scarso peso alla nascita sono più vulnerabili alle mancanze di zinco e rame rispetto a quelli di peso normale.

L'assunzione di questi minerali da parte della madre non sembra interessare la concentrazione nel latte materno. Da uno studio condotto sulle concentrazioni di *calcio*, *fosforo* e *magnesio* nel siero è risultato che è improbabile l'influenza

dell'alimentazione materna sulla concentrazione di tali minerali nel latte. Per quanto riguarda il *magnesio*, la sua concentrazione nel latte materno è correlata positivamente al consumo di pesci e carne, cosa che non può essere confermata per il calcio: gli studi hanno indicato che la dieta materna ha scarso effetto sulla concentrazione di calcio e magnesio nel latte materno. Il contenuto in *selenio* del latte materno, al contrario, è fortemente influenzato dall'alimentazione della madre.

Nel latte materno sono contenuti ad elevati livelli anche microrganismi che prendono il nome di *Lactobacilli*. Essi andranno a costituire la complessa flora batterica intestinale del neonato, di vitale importanza al fine di poter instaurare condizioni di normalità nel tratto intestinale. Questi batteri saranno ospiti dell'intestino per tutta la vita, proteggendo l'individuo dalla maggior parte delle infezioni e allergie. E' noto che i bambini allattati al seno contraggono meno infezioni di quelli nutriti artificialmente, il motivo è da ricercarsi nel fatto che il latte materno protegge dalle infezioni sia apportando sistemi difensivi sia stimolando il sistema immunitario.

Durante la gravidanza, la madre trasmette i propri anticorpi, di natura proteica, al feto attraverso la placenta; queste proteine circolano nel sangue del neonato nei primi 3-6 mesi dopo la nascita, neutralizzando i microrganismi oppure marcandoli e favorendone la distruzione da parte delle cellule fagocitarie.

Nel latte umano le immunoglobuline sono tutte rappresentate, ma più abbondanti sono le Ig A ed, in particolare le Ig A secretorie, le quali vengono trasmesse al neonato quando succhia al seno. La madre sintetizza anticorpi quando ingerisce, inala o viene in altro modo a contatto con agenti che provocano malattie. Ogni anticorpo trasmesso al bambino mira in modo specifico un particolare agente patogeno: si lega ad una singola proteina o ad un antigene che si trova sull'antigene in modo estremamente specifico. La madre produce soltanto anticorpi contro gli agenti

patogeni del suo ambiente, ne consegue che il neonato riceve la protezione di cui ha maggiormente bisogno ovvero contro gli agenti infettivi che con più probabilità potrà incontrare durante le prime settimane di vita. Gli anticorpi che il bambino riceve non agiscono nei confronti dei batteri “utili”, che normalmente si trovano nell'intestino. Questa flora batterica serve a limitare lo sviluppo di organismi pericolosi ed offre, pertanto, ulteriori misure di resistenza.

Il latte umano contiene grandi molecole chiamate *mucine* che includono una grande quantità di proteine e carboidrati, inoltre queste molecole sono in grado di aderire ai batteri e ai virus favorendone la eliminazione.

Il *fattore bifidus*, è uno dei fattori del latte umano scoperto, esso protegge dalle malattie favorendo lo sviluppo di microrganismi “utili” ed è noto col nome di *Lactobacillus bifidus*.

Anche l'*interferone*, particolarmente abbondante nel colostro (latte che la madre produce nei primi giorni dopo il parto), possiede attività antivirali.

La *fibronectina*, presente in grande quantità nel colostro, riesce a rendere alcuni fagociti più aggressivi in modo tale da essere in grado di attaccare i microrganismi anche se non sono stati segnalati da nessun anticorpo; inoltre riduce i rischi di infiammazione contribuendo ai processi di riparazione tissutale.

Al pari delle molecole difensive, anche le cellule immunitarie sono particolarmente presenti nel latte materno soprattutto nel colostro. Queste sono rappresentate da globuli bianchi che contrastano le infezioni sia direttamente che attivando gli altri meccanismi di difesa. I neutrofilo sono le principali cellule di questo gruppo, una tipologia di fagociti che circola normalmente nel sangue e si ipotizza che agiscono nell'intestino del neonato come fagociti anche se i neutrofilo del latte sono meno aggressivi di quelli del sangue e sei settimane dopo il parto scompaiono.

Numerosi studi hanno dimostrato che alcuni fattori protettivi nel latte umano possono indurre il sistema immunitario del neonato a maturare più velocemente di quanto possa farlo con l'allattamento artificiale: i bambini allattati al seno producono un livello superiore di anticorpi in risposta ai vaccini.

Il contenuto totale in sali minerali del latte umano è circa 1/3 di quello del latte vaccino questo ha un importante significato fisiologico: comporta infatti un minor carico renale di soluti.

Nel latte umano sono presenti anche numerosi enzimi, in parte liberi nella fase acquosa, in parte conglobati in globuli di grasso o in fiocchi di caseina. Gli enzimi contenuti nel latte vaccino, invece, perdono buona parte della loro attività nei vari processi di preparazione.

Alcuni ormoni nel latte materno (ad es. cortisolo) ed alcune proteine più piccole riducono la dimensione della porosità della mucosa intestinale, la cui superficie nei neonati non è ancora ben chiusa, rendendola impermeabile agli agenti patogeni indesiderati e alle proteine allergizzanti. Studi compiuti sugli animali, infatti, hanno dimostrato che lo sviluppo post-natale dell'intestino avviene più velocemente negli animali nutriti con il latte della loro madre, inoltre, gli animali che sono stati nutriti con il colostro si sviluppano molto rapidamente in quanto tale latte contiene la più alta concentrazione di fattori di crescita della epidermide.

## **B.L.U.D.**

Per Banca del Latte Umano Donato si intende un punto di raccolta del latte donato

da madri diverse e distribuito, dopo opportuno trattamento, ai piccoli pazienti che ne hanno assoluto bisogno.

In Italia, attualmente, esistono alcune Banche del Latte attive presso le strutture pediatriche e/o neonatali di Firenze, Milano, Torino e Roma.

I progressi nel campo della medicina perinatale e neonatale hanno determinato, negli ultimi decenni, un progressivo aumento dei nati vivi di peso molto basso ed estremamente basso associato ad una loro aumentata sopravvivenza. Questi neonati costituiscono, oggi, la maggioranza dei pazienti ricoverati nelle Unità di Terapia Intensiva Neonatale (U.T.I.N.); la loro aumentata sopravvivenza ha generato nuovi problemi, fra i quali, particolarmente importante, quello di un'adeguata nutrizione. Questa viene oggi considerata, soprattutto nei neonati pretermine ad alto rischio, uno dei principali fattori che condizionano non solo lo stato di salute a breve termine, ma anche la prognosi auxologica e neurologica a distanza.

Il latte materno ha sempre rappresentato un alimento ideale per il bambino che deve crescere e, come un tempo, le madri che non potevano allattare si affidavano alle balie, oggi questa funzione è affidata alle moderne banche del latte materno donato. Il latte umano rappresenta per il bambino, infatti, un prezioso alimento in grado di migliorarne le difese nei confronti di alcune importanti malattie e consentirne lo sviluppo psico-intellettuale; inoltre, con le moderne Banche del Latte Umano Donato, è possibile aiutare anche altri bambini con serie difficoltà di crescita, poiché il latte materno risulta essenziale nell'alimentazione di neonati prematuri ma anche in bambini con cardiopatie congenite, con gravi intolleranze alimentari, con malattie dell'apparato gastro-enterico, con difetti congeniti del metabolismo. L'uso del latte umano è, inoltre, auspicabile per tutti i piccoli prematuri e per i bambini che hanno subito interventi chirurgici di resezione intestinale, in virtù del suo potere antiinfettivo

(legato alla presenza di lattobacilli, componenti del sistema immunitario, lattoferrina, ecc...) e per la prevenzione di allergie alimentari gravi.

In tali situazioni, la raccolta del latte in banche diviene indispensabile, dal momento che tutti questi bambini hanno bisogno di essere nutriti a lungo con questo particolare alimento.

Tutto il latte che giunge alla Banca. deve essere sottoposto ad un processo di **Pastorizzazione** controllato dal sistema HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points). Per le banche del latte la migliore modalità di pastorizzazione è rappresentata dal *metodo di Holder*: a 62,5°C per 30 minuti. Il trattamento termico deve essere effettuato sul latte fresco o scongelato. Il ciclo di pastorizzazione prevede una fase rapida di riscaldamento seguita da una fase di mantenimento costante della temperatura a 62,5°C per 30' ed una fase finale di raffreddamento rapido fino a ad una temperatura inferiore a 10°C (deve passare da 62,5°C a 25 °C in meno di 10'). Tale trattamento consente di ottenere un buon compromesso tra sicurezza microbiologica e qualità nutrizionali e biologiche del latte: essa distrugge la flora patogena del latte (virus e batteri). Essa può però inattivare alcuni fattori immunologici ed antinfettivi: riduzione delle IgAs, delle IgG, del lisozima, della lattoferrina, distruzione delle IgM e del complemento. Tuttavia alcuni importanti fattori nutrizionali (oligosaccaridi, lattosio, PUFA, acidi grassi, gangliosidi), fattori biologici (amilasi) e vitamine A, D, E rimangono inalterati. <sup>(13-14-15)</sup>

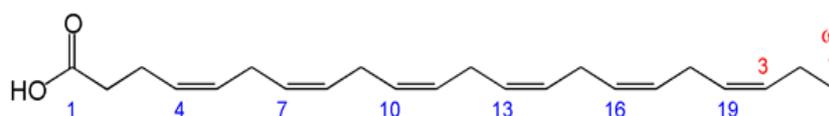
Il metodo Holder è quello attualmente più diffuso nelle Banche del latte umano ed è quello che finora è stato maggiormente studiato.

Il trattamento termico a 72°C per 15 secondi (pastorizzazione rapida) è quello che raggiunge il miglior compromesso tra sicurezza microbiologica e qualità nutrizionali e biologiche del latte. Tale metodica, tuttavia, richiede l'impiego di tecnologie (latte in

strato sottile tra due pareti metalliche riscaldate) attualmente disponibili solo a livello industriale.

## DHA

IL DHA (22:6 n-3 o acido docosaesaenoico) è un acido grasso polinsaturo della serie omega tre. La sua struttura chimica è costituita da una catena di 22 atomi di carbonio lungo la quale si distribuiscono sei doppi legami; il primo di questi unisce il terzo ed il quarto carbonio a partire dalla porzione metilica (terminale), da cui il nome  $\omega$ 3.



Dal punto di vista metabolico il DHA può essere considerato un acido grasso semiessenziale; esso è sintetizzato dall'organismo umano nel fegato a partire dall'acido alfa-linolenico (LNA n-6) attraverso tappe enzimatiche successive di allungamento (aggiunta di 2 atomi di carbonio) e desaturazione (aggiunta di doppi legami). Il sistema enzimatico che opera questa conversione è piuttosto inefficiente. Su questi presupposti si basa la semiessenzialità o l'essenzialità (a seconda degli autori) del DHA sul piano nutrizionale. Si definisce essenziale per l'uomo un composto dietetico che non può essere sintetizzato dall'organismo, il cui apporto esogeno è in grado di incrementarne i livelli e far regredire i sintomi clinici di deficit.

Gli enzimi  $\Delta 5$  e  $\Delta 6$  sono attivi nei microsomi epatici fetali a partire dalla 17<sup>o</sup> settimana di età gestazionale pertanto il neonato prematuro è in grado di produrre DHA a partire dal LNA. <sup>(16)</sup>

Le donne con alti livelli di ac. grassi nel sangue durante la gestazione determinano alti livelli di DHA nel sangue fetale attraverso il passaggio placentare con potenziali effetti positivi sulla crescita e sviluppo del SNC nel feto. Tali alti livelli di DHA permangono per diverse settimane dopo la nascita del neonato. <sup>(16-17)</sup>

	AC. PALMITICO	AC. PALMITOLEICO	AC. LINOLEICO	AC. EICOSAPENTAENOICO	AC. DOCOESAENOICO
<b>VITELLO</b>	166 mg	11 mg	197 mg		
<b>MANZO</b>	420 mg	85 mg	80 mg		
<b>POLLO</b>	160 mg	12 mg	98 mg		13
<b>TACCHINO</b>			4 mg		
<b>MERLUZZO</b>		18 mg	4 mg	35 mg	11
<b>SARDINA</b>	730 mg	440 mg	100 mg	650 mg	
<b>SOGLIOLA</b>	260 mg	120 mg	47.5 mg	33.3 mg	
<b>TONNO</b>	2.97 g	660 mg	260 mg	1.07 g	
<b>LATTE</b>	960 mg	110 mg	89 mg		
<b>EMMENTAL</b>	8.14 g	920 mg	650 mg		
<b>MOZZARELLA</b>	5.08 g	460 mg	350 mg		
<b>PARMIGGIANO</b>	6.97 g	390 mg	270 mg		
<b>BELPAESE</b>	7.79 g	670 mg	260 mg		
<b>PROVOLONE</b>	8.67 g	760 mg	570 mg		
<b>RICOTTA</b>	4.67 g	620 mg	320 mg		
<b>EDAM</b>	4.78 g	390 mg	250 mg		
<b>MELA</b>	125.6 mg				
<b>PERA</b>	43 mg	4 mg	108 mg		
<b>CILIEGIA</b>	49 mg	1 mg	47 mg		

<b>BANANA</b>	52 mg	4.5 mg	34.5 mg		
<b>PATATA</b>	18.87 mg	0.51 mg	32.12 mg		
<b>CAROTA</b>	35 mg		104.5 mg		
<b>SPINACI</b>	29 mg	5.1 mg	28 mg		
<b>FAGIOLI</b>	62 mg		53 mg		

Fonti alimentari di ac grassi

Il DHA è presente in discrete quantità nel pesce, in modo particolare nel salmone, nello sgombro, nelle sardine, nelle aringhe, nel tonno e nelle alici (pesce azzurro).

Ancor più rappresentato nell'olio ricavato da questi animali, si trova in buone quantità anche in alcune microalghe di cui, non a caso, i pesci si nutrono. Al di fuori di questi cibi, le fonti alimentari di DHA sono particolarmente scarse; lo troviamo in piccole quantità nella carne, specie se l'animale è stato alimentato con farine di pesce o semi di lino (in questo caso è presente anche nelle uova degli ovipari, come la gallina); è assente in frutta, verdura, noci, grano.

<b>Acido grasso</b>	<b>Atomi di carbonio</b>	<b>Latte materno</b>	<b>Latte vaccino</b>
Acido butirrico	C4	tracce -0.40	2.0 -4.0
Acido capronico	C6	tracce -0.15	1.0 -3.8
Acido caprilico	C8	tracce -0.46	0.90 -1.9
Acido caprinico	C10	1.0 -2.0	1.2 -4.0
Acido 9-decenoico	C10:1	tracce -0.10	0.20 -1.9
Acido laurico	C12	5.5 -7.5	2.25 -5.0
Acido lauroleico	C12:1	tracce -0.10	0.2
Acido miristico	C14	6.2 -8.5	9.0 -16.0
Acido miristoleico	C14:1	0.40 -0.60	1.1 -4.0
Acido palmtico	C16	20.4 -25.0	14.8 -35.3
Acido palmitoleico	C16:1	2.90-3.30	1.7 -5.7
Acido stearico	C18	6.5 -8.0	9.0 -15.2
Acido oleico	C18:1	31.3 -37.8	20.0 -44.0
Acido linoleico	C18:2	7.0 -11.0	1.3 -3.7
Acido linolenico	C18:3	0.25 -0.90	0.5
Acido arachidonico	C20:4	0.46 -0.90	0.2
Acido eicosapentanoico	C20:5	0.12 -0.20	-
Acido dodecosaesanoico	C22:6	0.30	-

Contenuto percentuale (in peso) in acidi grassi della frazione lipidica del latte vaccino e materno

Il DHA è presente anche nel latte materno, mentre è assente in quello vaccino e nei suoi derivati, così come negli oli vegetali.

Si ritrovano diverse concentrazioni di acidi grassi nel plasma e nel latte materno di donne appartenenti a diverse etnie in relazione alle diverse abitudini alimentari.

Studi condotti a tale proposito hanno dimostrato che il latte di donne inglesi che avevano adottato un regime alimentare totalmente vegetariano (Vegan) possedevano, rispetto alle madri a regime alimentare onnivoro, una concentrazione di C18:2 cinque volte superiore.<sup>(18)</sup> Le madri olandesi che avevano assunto una dieta macrobiotica presentavano, rispetto alle madri onnivore una minore concentrazione di acidi grassi saturi C 15-20, ma una quota maggiore di acidi grassi poli-insaturi nel loro latte materno. Le donne cinesi presentano un contenuto di DHA maggiore rispetto alle donne di altri paesi inoltre pare che ci siano differenze anche tra le cinesi in base alla regione della Cina in cui vivono (campagna, città, città marittime) verosimilmente in relazione alle loro diverse abitudini alimentare (consumo di pesce).<sup>(19-20)</sup>

Da una metanalisi effettuata da Brenna nel 2007 si evince che la concentrazione media di DHA nel latte materno è 0.32+/-0.22% nel mondo e che tale concentrazione dipende dalla quota di LCPUFA nella dieta materna e dalla sua biosintesi a partire dal precursore. Il contenuto nel latte materno aumenta parallelamente all'aumento dell'introito materno con la dieta. In questa metanalisi si riscontra che le popolazioni in cui c'è il più alto contenuto di DHA nel latte materno sono: Circolo Artico, Giappone, Filippine, Repubblica Domenicana e il Congo (1.14-0.6%): paesi dove la popolazione si alimenta principalmente con pesce. Al contrario c'è un basso

contenuto in DHA nel latte di donna proveniente dal Sud Africa, Canada, Francia Pakistan, Paesi Bassi (0.06-0.14%). In Italia 0.28-0.35% rispettivamente in due studi nel 2000 e nel 2002 <sup>(21)</sup>

Un recente studio del 2009 dosa su donne svedesi il DHA e l'AA nel sangue della madre e del bimbo e su latte materno correlandolo con la dieta materna e conclude che il contenuto di LCPUFA nella dieta è basso ed è pertanto necessaria una supplementazione soddisfacente nelle donne al fine di ottenere quote di DHA maggiori nel latte. <sup>(22)</sup>

Da tali constatazioni nasce la recente pratica di integrare l'alimentazione della gestante e della nutrice con DHA, al fine di garantire il corretto sviluppo del tessuto cerebrale, dell'acuità visiva e delle capacità cognitive del feto e del neonato. In uno studio del 2005 sono state riscontrate differenze nello sviluppo psicomotorio a 30 mesi di vita secondo le scale di Bayley di nati termine da madri che hanno supplementato il DHA durante la gravidanza e dopo il parto. <sup>(23)</sup>

Molte aziende specializzate nella produzione di latte adattato aggiungono DHA ai loro prodotti per avvicinarne la composizione il più possibile simile a quella del latte materno. L'integrazione di acido docosaesaenoico si effettua normalmente a dosaggi di 50-150 mg/die in associazione con vitamina E, per proteggere il prodotto e le membrane cellulari da fenomeni di perossidazione.

Durante l'ultimo trimestre di gravidanza una quota essenziale di acidi grassi polinsaturi (80%) vengono trasferiti dalla madre al feto nell'ordine di 50 mg/Kg/die di DHA e 400 mg/Kg/die di AA. <sup>(24,25)</sup>

In uno studio del 2009 è stata fatta una rivalutazione sulla effettiva richiesta di DHA nel prematuro e hanno concluso che la sintesi endogena di DHA da parte del

premature è insufficiente, pari al 44% della quota necessaria e che l'apporto di DHA mediante latte materno o formula pretermine non supplisce completamente alla richiesta (pari a 20 mg/Kg/die).<sup>(33)</sup> Ad ogni modo nel latte di donna in caso di nascita prematura è presente una quota di acidi grassi saturi e polinsaturi maggiore rispetto al latte di donna che ha partorito a termine. Verosimilmente ciò sembra compensare l'interruzione della trasmissione transplacentare che sarebbe avvenuta in questa fase della gravidanza (terzo trimestre), ciò per far fronte alla crescita ponderale e cerebrale del feto; tale maggior produzione di acidi grassi potrebbe essere legata ad una stimolazione ormonale.<sup>(34)</sup> Durante questo periodo e nelle prime fasi della vita postatale nel neonato avviene una rapida sintesi di tessuto cerebrale, soprattutto la differenziazione cellulare e la sinaptogenesi, le quali necessitano maggiormente di DHA e AA. Dalla 26° settimana fino a termine di gestazione l'80% del cervello richiama DHA nel feto pertanto questo risulta fondamentale per il normale sviluppo delle cellule gliali <sup>(26-27)</sup>

Il DHA entra a far parte dei fosfolipidi di tutte le membrane cellulari dei vari tessuti e distretti corporei. La fosfatidiletanolamina, fase interna della membrana cellulare, rappresenta il fosfolipide a maggior contenuto in polinsaturi a lunga catena. Da tale frazione di membrana dipendono numerose attività enzimatiche e/o i loro attivatori intracellulari, comprese le frazioni proteiche responsabili degli scambi di informazione col materiale genetico.

Il cervello contiene la maggior parte di acidi grassi omega 3 a lunga catena soprattutto il DHA: oltre il 60% del cervello è costituito da acidi grassi e il DHA è associato a un ottimale sviluppo cerebrale nella vita fetale e nell'infanzia; esso è conservato nelle sinapsi dove svolge per tutta la vita il ruolo per le funzioni neurorecettoriali e neurotrasmettitorie dell'impulso nervoso. <sup>(28)</sup> E' inoltre, ampiamente rappresentato in

alcune aree della corteccia prefrontale, sedi di aree associative fondamentali per la memoria e l'apprendimento.

Il DHA rappresenta il 50% circa del totale di acidi grassi nelle strutture fosfolipidiche dei fotorecettori di membrana. Le membrane ricche di DHA sono coinvolte nella fototrasduzione ovvero il processo che trasforma il fotone di luce in segnale elettrofisiologico: elevati livelli di DHA sembrano massimizzare l'efficienza della sensibilità di tale processo. L'acuità visiva dipende inoltre da fattori neurali soprattutto dalla maturazione della corteccia visiva, gli effetti sullo sviluppo della corteccia da parte del DHA influiscono ulteriormente sulla acuità visiva. <sup>(28-29)</sup>

L'accumulo degli acidi grassi polinsaturi nelle membrane neurali dipendono in epoca prenatale dal trasferimento placentare e, dopo la nascita, dalla dieta materna visto che la quota endogena prodotta è limitata <sup>(30)</sup>. L'accumulo di DHA si verifica soprattutto durante il terzo trimestre di vita intrauterina pertanto il prematuro viene ad essere esposto alla carenza di tale nutriente <sup>(31)</sup>. Tuttavia anche dopo la nascita si registra una deposizione di DHA a livello delle strutture nervose a partire dai primi 2-3 mesi sino a tutto il secondo anno di vita. Ci sono studi che hanno correlato i livelli di DHA nel funicolo con l'età gestazionale e il peso neonatale e si è riscontrato che quanto maggiore è la differenza tra acidi grassi polinsaturi a lunga catena (DHA) tra circolo materno e sangue funicolare, tanto maggiore è il peso del neonato a termine al parto; pertanto è possibile che il tasso di trasferimento del materno-fetale di polinsaturi sia un elemento limitante nel determinare lo sviluppo tissutale del neonato.

Il latte materno contiene DHA preformato pertanto risulta l'alimento ideale per il lattante. L'assunzione di DHA attraverso la dieta permette ai neonati a termine allattati al seno di accumulare maggiori quantità di DHA nei lobi prefrontali rispetto ai bambini allattati artificialmente. In questi ultimi l'inserimento del DHA nel latte

formulato ristabilisce i livelli circolanti di DHA a valori analoghi a quelli dei bambini allattati al seno. In uno studio del 2006 si è visto che i pazienti allattati con formula integrata con ARA e DHA avevano un miglior QI a 18 mesi (valutato con le scale di Baley) e di acuità visiva (PVE ad 1 anno di vita) rispetto alle formule non arricchite e presentano valori simili ai bambini allattati al seno.<sup>(30-31)</sup>

Il contenuto di lipidi aumenta nei diversi stadi di lattazione ed è influenzato dall'EG alla nascita, dalle abitudini alimentari della madre e dal ritmo diurno e può ridursi con il numero di parti ed in presenza di disordini metabolici materni. Quando la madre è in bilancio energetico, gli acidi grassi nel latte dipendono per il 29% dalla dieta (l'assunzione di pesce aumenta il livello di DHA ed acido eicosapentanoico senza modificare l'AA), per il 59% proviene dalla sintesi dei tessuti (fegato) e dalle riserve contenute nel tessuto adiposo e, per il 10-12% dalla sintesi endogena nella ghiandola mammaria a partire dal glucosio. Gli acidi grassi giungono alla ghiandola mammaria come chilomicroni dalla dieta, come lipoproteine a bassa densità dal fegato e coniugati all'albumina dal tessuto adiposo. Dopo il pasto il picco di acidi grassi si ha dopo 4 ore nel sangue e dopo 10 ore nel latte.

Il contenuto lipidico nel latte materno aumenta da 2 gr/dl nel colostro a circa 5 gr/dl nel latte maturo (1-3 mesi) e si modifica ancora nel latte dopo il 6° mese di vita, mentre non cambia durante la singola lattazione ma può modificarsi nelle diverse poppate durante la giornata. L'AA ed il DHA si riducono dal colostro fino al 1° mese di vita, dopo si stabilizza e parallelamente aumenta il contenuto lipidico pertanto la concentrazione assoluta resta stabile sino al 12° mese di vita<sup>(32)</sup>.

In assenza di un apporto esogeno di DHA la sintesi endogena di questo, che comunque è stata accertata anche nei neonati fortemente prematuri, è insufficiente per ottenere nei compartimenti corporei livelli di DHA comparabili con quelli del neonato

a termine. Un maggiore apporto di DHA alla madre si traduce in un aumento del DHA nel feto e nell'allattato al seno. Tale apporto soprattutto nel neonato prematuro è stato associato ad un miglioramento della performance visiva (PVE, elettroretinogramma) e nel neonato a termine anche dei test di sviluppo neurocomportamentale. La base fisiologica di tali effetti positivi starebbe nella modulazione delle attività di membrana, esso rende più fluide le membrane favorendo le attività enzimatiche legate alle attività neurorecettoriali; inoltre esso facilita il ricambio della rodopsina, pigmento visivo che caratterizza i bastoncelli. Il DHA pur avendo un turn over molto rapido si conserva a livello retinico ed esistono diversi meccanismi che operano al fine di mantenere livelli massimali di DHA nelle strutture del sistema nervoso centrale.

Nell'adulto, con l'avanzare dell'età, si assiste ad una perdita progressiva dei fotorecettori, a causa di processi ossidativi degenerativi che ne intaccano la frazione lipidica costituita in gran parte dal DHA. L'integrazione di DHA svolge quindi un'importante azione preventiva sia sulla degenerazione maculare legata all'età, sia su patologie oculari quali la retinite pigmentosa.

Sembra che le differenze di apporto del DHA siano all'origine delle differenze in quoziente intellettivo e/o grado di istruzione ritrovate anche in età adulta (studi in corso). Un deficit di LCPUFA può influenzare il futuro sviluppo fisico e neurologico e neuropsichico del bambino danneggiando il sistema vascolare i parenchimi sensibili e il SN fetale e infantile con potenziali conseguenze a lungo termine nel bambino e nell'adulto.<sup>(28)</sup>

Gli LCPUFA con i mediatori lipidici e le citochine che ne derivano regolano e controllano tutti i processi infiammatori ossia i meccanismi di difesa dell'organismo

(28). L'integrazione di DHA nella dieta dei bambini non allattati al seno, o delle mamme che allattano, ha forti possibilità di migliorare lo sviluppo immunologico del bambino, in particolare tramite il potenziamento della composizione e maturità di linfociti, citochine e antigeni.

Il DHA è anche un'importante componente delle membrane vascolari e cardiache, e la sua carenza può compromettere l'integrità e la funzionalità tissutale cardiaca.

Numerosi studi hanno confermato che l'integrazione di DHA nella dieta porta ad una significativa riduzione dei biomarkers associati alla patologia cardiovascolare, che ancora oggi costituisce la prima causa di morte nel mondo. La serie di benefici attribuibili alla integrazione di DHA sono così riassumibili: riduzione dei trigliceridi; riduzione dell'aggregazione piastrinica e della viscosità sanguigna; inibizione dello sviluppo di placche aterosclerotiche; abbassamento della pressione sanguigna; riduzione della fibrillazione ventricolare e delle aritmie.

Bassi livelli di DHA sono stati messi in relazione con malattie neurologiche, come il morbo di Alzheimer, la depressione anche nel postpartum (bassi livelli riflettono ridotte concentrazioni di serotonina a livello cerebrale) e la sindrome da deficit di attenzione ed iperattività (ADHD). Il DHA garantisce la corretta permeabilità e funzionalità delle membrane cellulari, antagonizzando l'acido arachidonico (un altro acido grasso polinsaturo da cui trae origine la cosiddetta "cascata infiammatoria") motivo per cui all'acido docosaesaenoico sono attribuite proprietà antinfiammatorie, che ne giustificano l'impiego per alleviare i sintomi dell'artrite reumatoide e della colite ulcerosa. Inoltre il DHA stimola la produzione delle prostaglandine di serie 1 (PGE1), che stimolano l'afflusso di sangue ai muscoli, favorendo così una migliore ossigenazione muscolare.

## OBIETTIVI DELLO STUDIO

- 1 Dosare il contenuto del DHA nel latte materno (colostro, latte di transizione e latte maturo);
- 2 Dosare il contenuto del DHA nel latte di madri di nati pretermine e a termine;
- 3 Valutare eventuali variazioni nel contenuto del DHA dopo pastorizzazione secondo il metodo Holder;

- 4 Valutare l'eventuale relazione tra la dieta materna e il quantitativo di DHA nel latte.

## MATERIALI E METODI

Nel periodo tra febbraio 2008 - settembre 2008 e dicembre 2009 e febbraio 2010 presso la Banca del Latte Umano dell'U.O. di TIN-TIP dell'Ospedale Bufalini di Cesena sono stati raccolti 45 campioni di latte materno da 10 madri di neonati in diverse età gestazionali: 24-26 settimane (I età gestazionale), 27-29° settimane (II età gestazionale), 30-32° settimane (III età gestazionale), 38-40° settimane (IV età gestazionale).

Per ogni età gestazionale, dalle donne sono stati raccolti due campioni rispettivamente

di colostro (primi 3 giorni dal parto), di latte di transizione (7-10 giorni dal parto) e di latte maturo (dopo 10 giorni dal parto). Di questi campioni uno è stato sottoposto, presso la nostra banca del latte, al processo di **pastorizzazione secondo il metodo di Holder** (21 campioni) alla temperatura di 62.5°C per 30', l'altro è stato mantenuto fresco (24 campioni).

SCHEDA CAMPIONI LATTE RACCOLTO

	COLOSTRO		TRANSIZIONE		MATURO	
	PASTORIZZATO	NON PASTORIZZATO	PASTORIZZATO	NON PASTORIZZATO	PASTORIZZATO	NON PASTORIZZATO
	PASTORIZZATO		NON PASTORIZZATO			
I e.g.	1	2	1	1	2	1
II e.g.	1	3	3	3	3	3
III e.g.	1	2	3	3	1	1
IV e.g.	1	1	2	2	2	2
	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

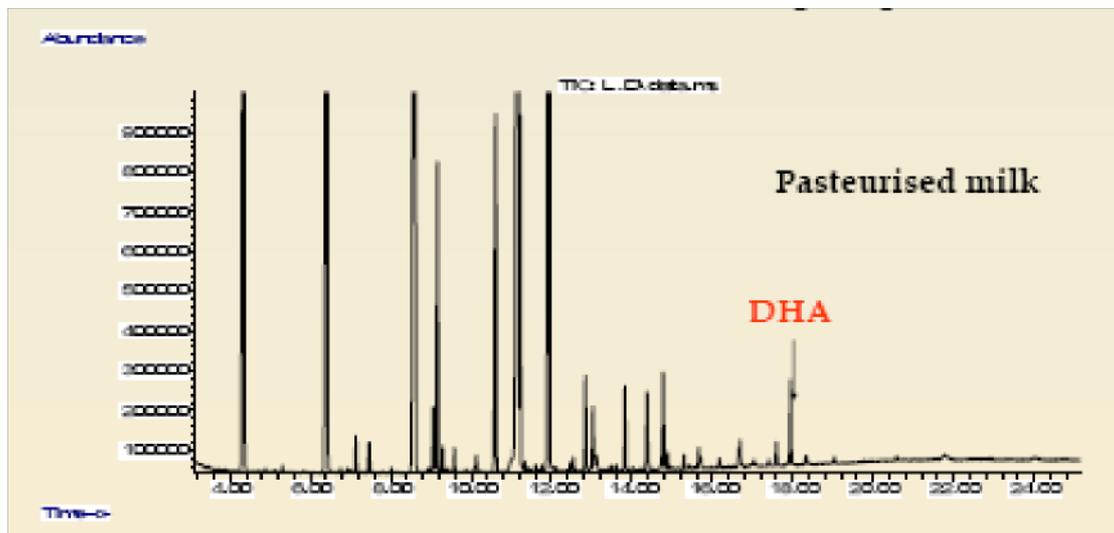
I campioni sono stati inviati al laboratorio del Campus di Scienze degli Alimenti presso l'Università di Agraria con sede a Cesena per effettuare il dosaggio del DHA.

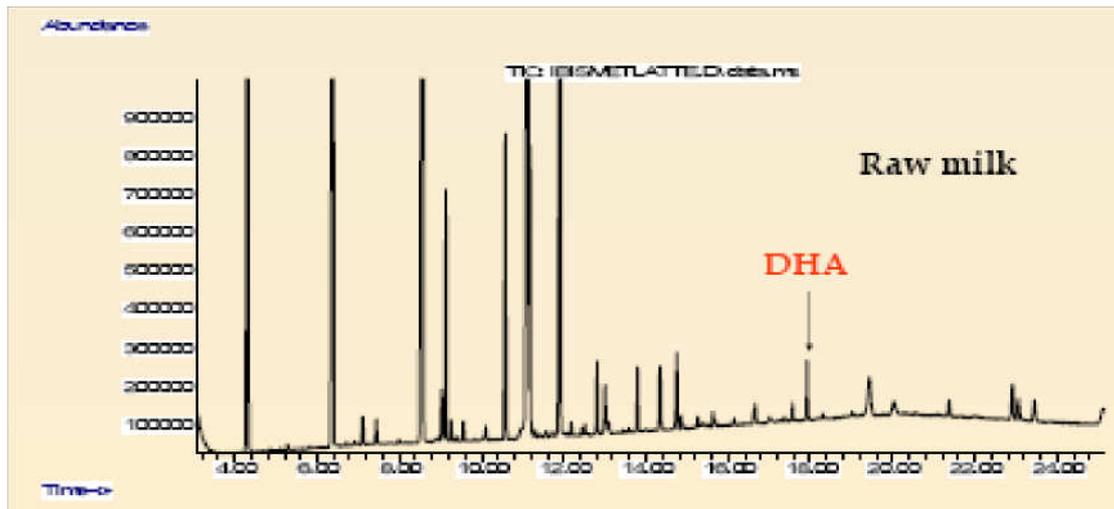
In tale laboratorio i campioni sono stati raccolti e congelati a - 80°C (grado di congelamento che preserva il contenuto in acidi grassi). Successivamente sono stati sottoposti a processi di *estrazione* con diclorometano-metanolo (2:1) e di *esterificazione* con esano ed KOH metanolico per estrarre gli acidi grassi tra cui il DHA. Gli acidi grassi esterificati sono stati iniettati al gascromatografo. Il dosaggio dei lipidi tra cui il DHA è stato effettuato quindi mediante tecnica di *gascromatografia* con un gascromatografo modello Agilent Technologies 7890° accoppiato ad uno *spettrometro di massa* modello Agilent Technologies 5975C.

Con il termine **Gascromatografia** si indicano tutte le varie tecniche separative, applicabili a miscele di sostanze e basate sulla diversa ripartizione di diverse sostanze

tra una fase stazionaria ed una fase mobile, in funzione dell'affinità di queste con la fase stazionaria. La velocità con cui i differenti componenti di una miscela migrano in una fase stazionaria (colonna: Supelco 24036, 60 metri x 250 micrometri x 0,25 micrometri) sotto l'influenza di una fase mobile (gas), che ha il compito di trascinare lungo il sistema i soluti che costituiscono la miscela in esame è diversa. Quando il rivelatore posto in fondo all'apparecchio registra il passaggio di una sostanza eluita, elabora i dati su di un "cromatogramma" (diagramma), che rappresenta la quantità di sostanza rilevata in funzione del tempo e si presenta come una sequenza di picchi di varia ampiezza ed altezza. Ogni volta che una sostanza viene rivelata, il cromatogramma registra un picco più o meno alto a seconda della sua concentrazione.

Esempi di Cromatogramma di ac. grassi in un campione di latte materno crudo e pastorizzato





La **Spettrometria di massa** è una tecnica analitica comunemente usata in combinazione con tecniche separative, quali la gascromatografia. Il principio su cui si basa è la possibilità di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica generalmente tramite campi magnetici statici o oscillanti. Tale miscela è ottenuta ionizzando le molecole del campione, principalmente facendo loro attraversare un fascio di elettroni ad energia nota. Le molecole così ionizzate sono instabili e si frammentano in ioni più leggeri secondo schemi tipici in funzione della loro struttura chimica. Il diagramma che riporta l'abbondanza di ogni ione in funzione del rapporto massa/carica è il cosiddetto spettro di massa, tipico di ogni composto in quanto direttamente correlato alla sua struttura chimica ed alle condizioni di ionizzazione cui è stato sottoposto.

Inoltre alle donne è stato sottoposto un questionario telefonico in cui venivano indagate le abitudini alimentari delle stesse: tipo di dieta, la frequenza ed il quantitativo di pesce consumato ed il tipo di pesce assunto (tonno, sogliola, salmone, sardina, sgombro), l'assunzione di integratori alimentari contenenti DHA (olio di pesce,

estratto d'alga marina) e se avevano l'abitudine di mangiare "cinese" o "giapponese".

## RISULTATI E DISCUSSIONE

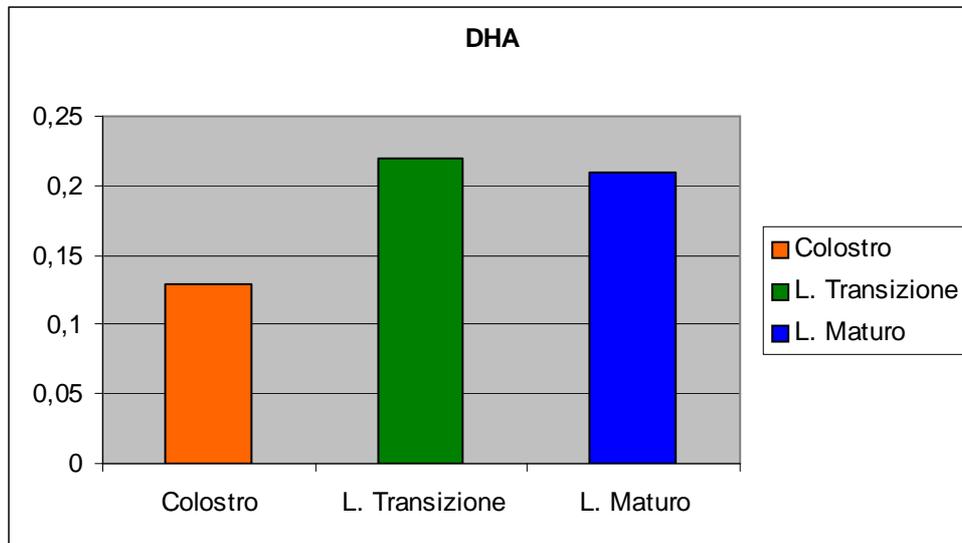
Nel periodo tra Febbraio 2008-Settembre 2008 e Dicembre 2009 - Febbraio 2010 sono stati raccolti 45 campioni di latte materno: 8 campioni della I età gestazionale (24-26 settimana), 16 campioni della II età gestazionale (27-29° settimana), 11 campioni della III età gestazionale (30-32° settimana), 10 campioni della IV età gestazionale (38-40° settimana). Di questi, 21 campioni sono stati sottoposti al processo di Pastorizzazione secondo il metodo Holder (4 della I EG; 7 della II EG; 5 della III EG; 5 nella IV EG).

	COLOSTRO CRUDO	COLOSTRO PASTORIZZATO	TRANSIZIONE CRUDO	TRANSIZIONE PASTORIZZATO	MATURO CRUDO	MATURO PASTORIZZATO	TOT CAMPIONI
I	<b>0.22</b>	<b>NP</b>	<b>0.32</b>	<b>NP</b>	<b>0.38</b>	<b>0.40</b>	4
	<b>0.12</b>	<b>0.05</b>	<b>NP</b>	<b>0.13</b>	<b>NP</b>	<b>0.08</b>	4
II	<b>0.13</b>	<b>NP</b>	<b>0.05</b>	<b>0.18</b>	<b>0.17</b>	<b>0.28</b>	5
	<b>0</b>	<b>0.22</b>	<b>0.14</b>	<b>0.13</b>	<b>0.10</b>	<b>0</b>	6
	<b>0.05</b>	<b>NP</b>	<b>0.65</b>	<b>0.67</b>	<b>0.49</b>	<b>0.47</b>	5
III	<b>NP</b>	<b>NP</b>	<b>0.45</b>	<b>0.46</b>	<b>0.30</b>	<b>0.32</b>	4
	<b>0.23</b>	<b>NP</b>	<b>0.27</b>	<b>0.14</b>	<b>NP</b>	<b>NP</b>	3
	<b>0.20</b>	<b>0.21</b>	<b>0.09</b>	<b>0.10</b>	<b>NP</b>	<b>NP</b>	4
IV	<b>0.05</b>	<b>0.09</b>	<b>0</b>	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>	<b>0.04</b>	6
	<b>NP</b>	<b>NP</b>	<b>0.10</b>	<b>0.14</b>	<b>0.12</b>	<b>0.11</b>	4
TOT CAMPIONI		8	4	9	9	7	8
	<b>45</b>						

Valori % di DHA contenuto nei campioni di latte materno pervenuto

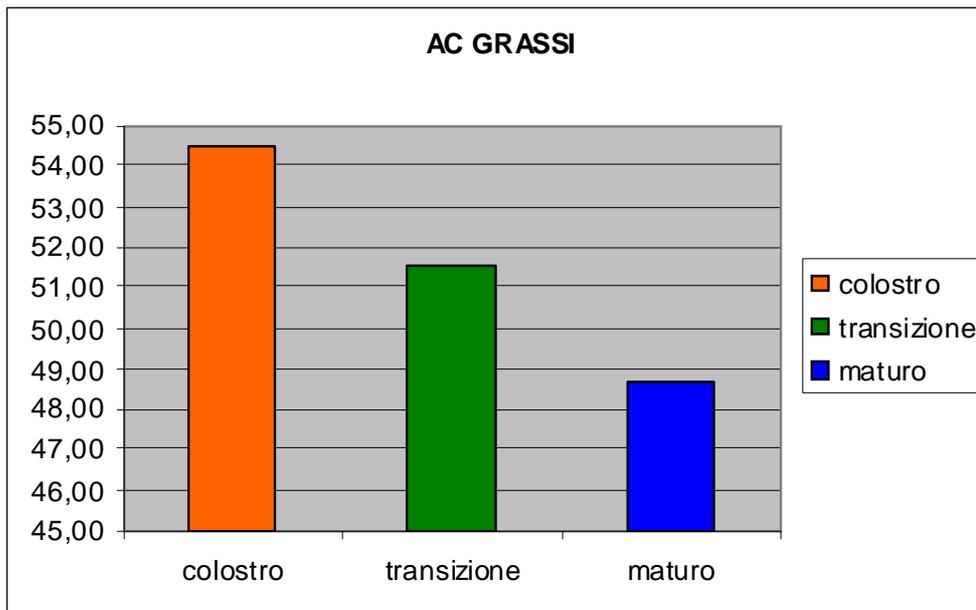
In accordo con i dati della letteratura <sup>(21)</sup> la concentrazione media percentuale di DHA nel nostro campione di donne è pari allo 0.2% (In Italia 0.28-0.35% rispettivamente in due studi nel 2000 e nel 2002).

Le 10 donne arruolate sono tutte di nazionalità Italiana e residenti in Romagna. Dal questionario somministrato non sono emerse particolarità riguardo la loro alimentazione: tutte conducevano una dieta di tipo mediterraneo con assunzione di pesce almeno una volta a settimana. Una donna soltanto non assumeva pesce fresco ma solo in scatola o congelato industriale; tale donna presentava una concentrazione (%) di DHA nel latte molto bassa (0.05 nel colostro, 0.04 nel latte di transizione, 0.03 nel latte maturo).



Concentrazione % di DHA nelle diverse fasi di lattazione.

Dai nostri dati risulta che la quota % di DHA varia in relazione alle diverse fasi di lattazione aumentando dal colostro al latte maturo come mostra il grafico sopra.

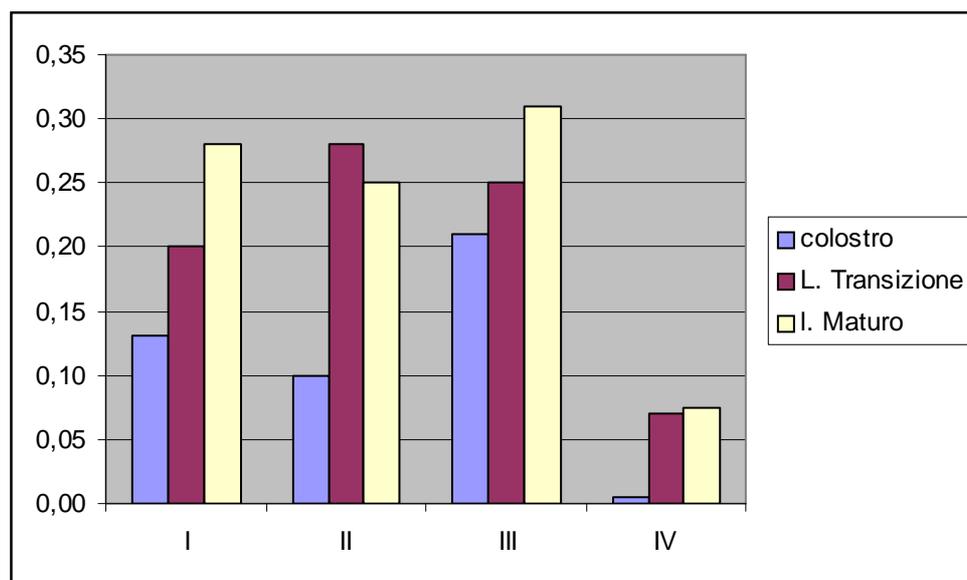


Concentrazione % di Ac grassi monoinsaturi e polinsaturi nelle diverse fasi di lattazione.

Gli acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi dosati nel latte delle nostre donne risulta essere più alto nel colostro rispetto alle altre fasi di lattazione (latte di transizione e latte maturo) come evidenziato nel grafico sopra riportato.

In letteratura viene descritta al contrario, una riduzione della concentrazione DHA dal colostro fino al 1° mese di vita quando si stabilizza. Parallelamente si ha un aumento

del contenuto lipidico pertanto la concentrazione assoluta di DHA resta stabile sino al 12° mese di vita in quanto definita dal rapporto lipidi/DHA<sup>(32)</sup>. Come sopra descritto noi otteniamo risultati discordanti dalla letteratura probabilmente perché il nostro campione è costituito da latte derivante da donne che hanno partorito prematuramente.



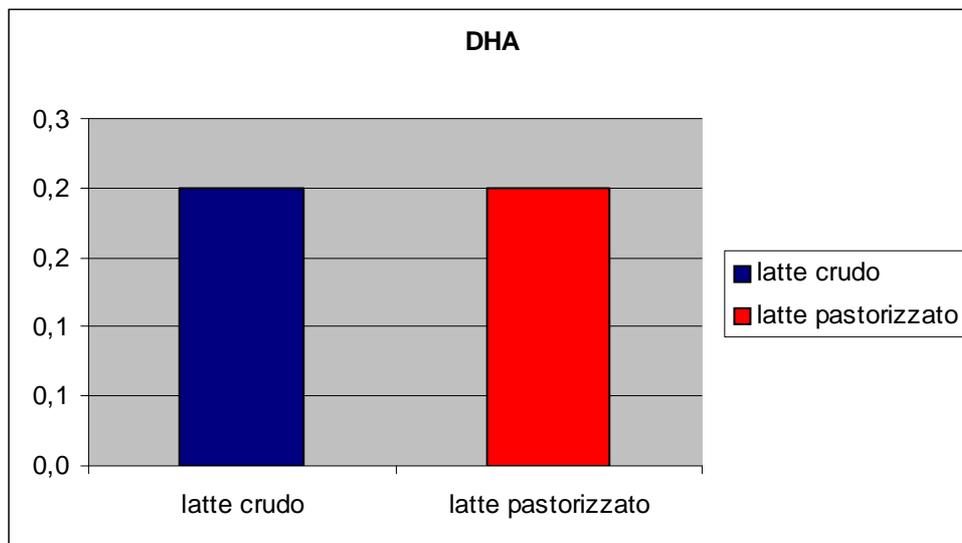
Concentrazione % di DHA nelle diverse età gestazionali e nelle diverse fasi di lattazione.

Questo grafico, relativo alla concentrazione media % del DHA nel latte delle nostre donne suddiviso per età gestazionale, mostra che esiste una differenza nelle diverse età gestazionali e che la concentrazione risulta maggiore nel latte delle madri di neonati pretermine rispetto alle madri di nati a termine: la concentrazione media percentuale nelle prime età gestazionali è pari al 0,23%, mentre nelle madri di nati a termine la quota risulta molto bassa, pari a 0,072%.

Anche in letteratura è descritta tale peculiarità: nel latte di donna in caso di nascita prematura è presente una quota di acidi grassi saturi e polinsaturi maggiore rispetto al

latte di donna che ha partorito a termine. Tale concentrazione risulta comunque essere non sufficiente a soddisfare le richieste in questa fase dell'accrescimento del nato.<sup>(34)</sup>

Profilo degli ac grassi ( % ) nel latte prima e dopo il processo di pastorizzazione



Differenza quota percentuale di DHA pre/post pastorizzazione secondo il metodo Holder

Come mostrano il grafico ed un esempio di profilo degli acidi grassi (%) sopra riportati noi non abbiamo rilevato differenze sostanziali tra la concentrazione di DHA prima e dopo il processo di pastorizzazione secondo il metodo Holder a 62,5°C per 32' così come è rimasto inalterato l'intero profilo lipidico del latte dopo il trattamento termico. Anche in letteratura è evidente come il processo di pastorizzazione secondo Holder mantiene inalterati i fattori nutrizionali come gli LCPUFA tra cui il DHA.<sup>(14)</sup>

## CONCLUSIONI

Il nostro studio, in sintonia con i dati della letteratura, conferma la maggiore presenza di Acido Docosaesaenoico preformato nei latti di madri di prematuri. Il fatto di avere un campione costituito prevalentemente da latti di donne che hanno partorito prima della 40° settimana di età gestazionale, può spiegare il rapporto inverso che troviamo, rispetto a quanto viene descritto in letteratura, con le diverse fasi di lattazione sia nella concentrazione di DHA, che nella quota di acidi grassi saturi e poliinsaturi.

Nei nostri campioni la biodisponibilità del DHA persiste e si presenta in quota maggiore nel latte raccolto a 10 giorni di vita, ciò sembra quasi voler inseguire i fabbisogni nutrizionali del piccolo prematuro che è ancora inidoneo alla sintesi endogena. Secondo quanto si afferma in letteratura, tale quota resta comunque apparentemente al di sotto delle necessità stimate per il prematuro, pertanto potrebbe essere indicata una integrazione di DHA attraverso indicazioni dietetiche fornite alla madre (maggior consumo di pesce, assunzione di integratori specifici) visto che è dimostrato che la dieta materna adeguata o l'eventuale assunzione da parte delle madri di integratori contenenti DHA, determina un aumento della sua concentrazione nel plasma e dopo nel latte.

Questo studio conferma che tutta la quota lipidica ed in particolare l'Acido Docosaesaenoico, non vengono alterati dal processo convenzionale di pastorizzazione del latte. Il latte di banca è prevalentemente composto da latte derivante da donatrici che hanno partorito a termine e, visto che il contenuto di Acido docosaesaenoico è

inversamente proporzionale all'età gestazionale, la quota di DHA sarebbe insufficiente nel latte donato soprattutto per le esigenze del neonato pretermine.

Sicuramente per ogni bambino, soprattutto se prematuro, l'alimento nutrizionalmente più adatto è quello della propria madre, ma in assenza di questo, forse è il caso di pensare di arricchire il latte di banca, così come sono state integrate di LCPUFA le formule per prematuri e per bambini a termine. Oggi nelle Unità di Terapia Intensiva Neonatale è consuetudine integrare il latte materno o di banca con fortificanti proteici che sembrano influenzare la crescita oltre che ponderale anche cerebrale (aumento della circonferenza cranica) del neonato, con riscontri positivi sullo sviluppo neuroevolutivo. Sappiamo che il DHA, indispensabile per la sintesi dei fosfolipidi del cervello e retina, determina uno sviluppo adeguato del tessuto cerebrale, con l'acquisizione delle capacità cognitive e l'ottimizzazione dell'acuità visiva; pertanto in funzione di ciò ed alla luce dei nostri dati, potrebbe essere utile fortificare il latte di banca anche con integratori contenenti acidi grassi polinsaturi (Ac. Docosaesaenoico e Ac. Arachidonico).

## BIBLIOGRAFIA

1. Emmet P.M., Rogers I.M. "Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition." *Early human development* 1997; 49, 7-28.
2. McClelland D.B.L., McGrath J., Samsom R.R. "Antimicrobial factors in human milk. Studies of concentration and transfer to the infant during the early stages of lactation." *Acta paediatrica Scandinavica*, 1978; 271 suppl:S1-S20.
3. Van Woelderen B.F. "Changing insights into human milk proteins: some implications." *Nutrition Abstract Review* 1987; 56, 849-853.
4. Prentice A., Ewing G., Roberts S.B., Lucas A., McCarthy A., Jarjou L.M.A., Whitehead R.G. "The nutritional role of breast-milk IgA and lactoferrin." *Acta paediatrica Scandinavica*, 1987;76, 592-598.
5. Lonnerdal B., Forsum E., Hambraeus L. "A longitudinal study of the protein, nitrogen and lactose contents of human milk from Swedish well-nourished mothers." *American Journal of clinical nutrition* 1976; 29, 1127-1133.
6. Carlson S.E. "Human milk non-protein nitrogen: occurrence and possible functions." *Adv. Pediatric*, 1985;32, 43-63.
7. Galeano N.F., Darling P., Lepage G., Leroy C., Collet S., Giguere R., Roy C.C. "Taurine supplementation of a premature formula improves fat absorption in premature infants." *Pediatric Research*, 1987; 22, 67-71.
8. Prentice A., Prentice A.M., Whitehead R.G. "Breast milk fat concentrations of rural African women 1. Short-term variations within individuals." *Br. J. Nutr.*, 1981; 45, 483-494.
9. Hernell O., Blackberg L. "Digestion of human milk lipids: physiologic significance of sn-2 monoacylglycerol hydrolysis by bile salt-stimulated lipase." *Pediatric Research*, 1982; 16, 882-885.

10. Coppa G.V., Gabrielli O., Pierani P., Catassi C., Carlucci A., Giorni P.L. "Changes in carbohydrate composition in human milk over for mounths of lactation." *Pediatrics*, 1993; 91, 637-641.
  11. Coppa G.V., Gabrielli O., Giorni P., Catassi C. Preliminary study of breast feeding and bacterial adhesion to uroepithelial cells." *Lancet*, 1990; 335, 569-571.
  12. Metz J., Zalusky R., Herbert V. "Folic acid binding by serum and milk." *American Journal of clinical nutrition*, 1968; 21, 289-297.
  13. Henderson TR, Fay TN, Hamosh M. "Effect of pasteurization on long chain polynsaturated fatty acid levels and enzyme activities of human milk" *J Pediatr* 1998; 132:876-878
  14. Fidler N, Sauerwald TU, Koletzko B, Demmelmair H "Effect of human milk pasteurization and sterilization on available fat content and fatty acid composition" *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27:317-322
  15. Van Zoeren-Grobbe D, Schrijver J, Van Den Berg H, and Berger HM "Human milk vitamin content after pasteurisation, storage, or tube feeding" *Arch Dis Child* 1987; 62:161-165
  16. S M Innis "Perinatal biochemistry and Physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids" *Journal Pediatrics Suppl* 2003; 143:1-8
- S Krauss-Etschmann, R Shadid, C Campoy, E Hoster et al. "Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexanoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial" *Am J Clin Nutr* 2007;85:1392-400
- Sanders T.H.B., Ellis T.R., Dickerson J.W.T." Studies of vegans: the fatty acid composition of plasma choline-phosphoglycerides, erythrocytes, adipose tissue, breast milk and some indicators of susceptibility to ischemic heart disease in vegans and omnivore controls." *American Journal of clinical nutrition*, 1978;

31, 805.

19. M Xiang, S Lei, T Li, R Zetterstrom “Composition of long chain polynsaturated fatty acid in human milk and growth of young infants areas of northern China” *Acta Paediatr* 1999; 88: 126-31
  20. R Chulei, L Xiaofang, M Hongsheng t al “Milk composotion in women from five different regions of china: the great divesity of milk fatty acids” *J Nutr* 1995; 125: 2993-2998
  21. J T Brenna, B Varamini, R G Jensen, D A Diersen-schade et al “Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide” *Am J Clin Nutr* 2007;85:1457-6
  22. K-G Sabel, C Lundqvist-Persson, E Bona, M Petzold, B Strandvik “Fatty acid patterns early after premature birth, simultaneously analysed in mothers food, breast milk and serum phospholipids of mothers and infants” *Lipid in Health and desase* 2009; 8:20
- C L Jensen, R G Voigt et al “effects of maternal docosahwexaenoic acid intake on visual function and neurodevelopment in breastfed term infants”*Am J Clin Nutr* 2005; 82: 125-32
24. Clandinin MT, Chappell LE, Leong S, Heim T et al ”Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements” *Early Hum Dev* 1980; 4: 121-9
  25. Clandinin MT, Chappell LE, Heim T et al ”Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues” *Early Hum Dev* 1981; 5: 355-66
  26. Jordar A, Sen AK, Das S “Docosahexaenoic acid facilitates cell maturation and beta adrenergic transmission in astrocytes” *J Lipid Res* 2006; 47:571-81
  27. Champeil-Potokar G, Chaumontest C, Guesnet P, Lavialle M, Denis I

- “Docosahexanoic acid (22:6n3) enrichment of membranephospholipids increases gap junction coupling capacity in cultured astrocytes” *Eur J Neurosci* 2006; 24:3084-90)
28. G Caramia “Omega -3: dall’olio di fegato di merluzzo alla nutrigenomica” *Minerva pediatrica* 2008; 60, 443-55
29. M. Neuringer and Brett G Jeffrey “visual development: neural basis and new assessment methods” *Journal Pediatrics Suppl* 2003; 143:87-95
30. Eilen E. Birch et al “Visual acuity and cognitive outcomes at 4 years of age in double-blind, randomized trial of long-chain polynsaturated fatty acid-supplemented infant formula” *Early Human Development* 2007;83, 279-284
31. C Agostoni, M Giovannini ”Cognitive and visual development: influence of differences in breast and formula fed infants” *Nutrition and Health* 2001;15:183-88
32. C. Agostoni, F. Marangoni, L. Bernardo, AM Lammardo, C Galli and E Riva “Long-chain polynsaturated fatty acid in human milk” *Acta Paediatr Suppl* 1999; 430: 68-71
33. A Lapillonne, C L Jensen “Reevaluation of the DHA requirement for the premature infant” *Elsevier* 2009
34. M C Marine, A L Sanjurjo, G Sager, C Margheritis, M J T de Alaniz “Composicion en acidos grasos de leche de madres de recién nacidos de pretermino y de termino” *Arc Argent Pediatr* 2009 ; 107(4)315-320