

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI VERONA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA

*SCUOLA DI DOTTORATO DI*

**SCIENZE DELLA VITA E DELLA SALUTE**

*DOTTORATO DI RICERCA IN*

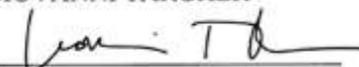
**SCIENZE BIOMEDICHE, CLINICHE E SPERIMENTALI**

CICLO /ANNO: XXXI / 2015

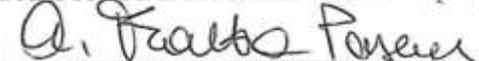
ASMA, MALATTIE RESPIRATORIE E  
APPORTO NUTRIZIONALE DI  
ACIDI GRASSI E OLIO D'OLIVA:  
STUDIO CASO CONTROLLO IN UNA POPOLAZIONE ITALIANA

S.S.D. MED/09

Coordinatore: Prof. GIOVANNI TARGHER

Firma 

Tutor: Prof.ssa ANNA MARIA FRATTA PASINI

Firma 

Dottorando: Dott. FRANCESCO SPELTA

Firma 

Quest'opera è stata rilasciata con licenza Creative Commons Attribuzione – non commerciale  
Non opere derivate 3.0 Italia . Per leggere una copia della licenza visita il sito web:  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/it/>



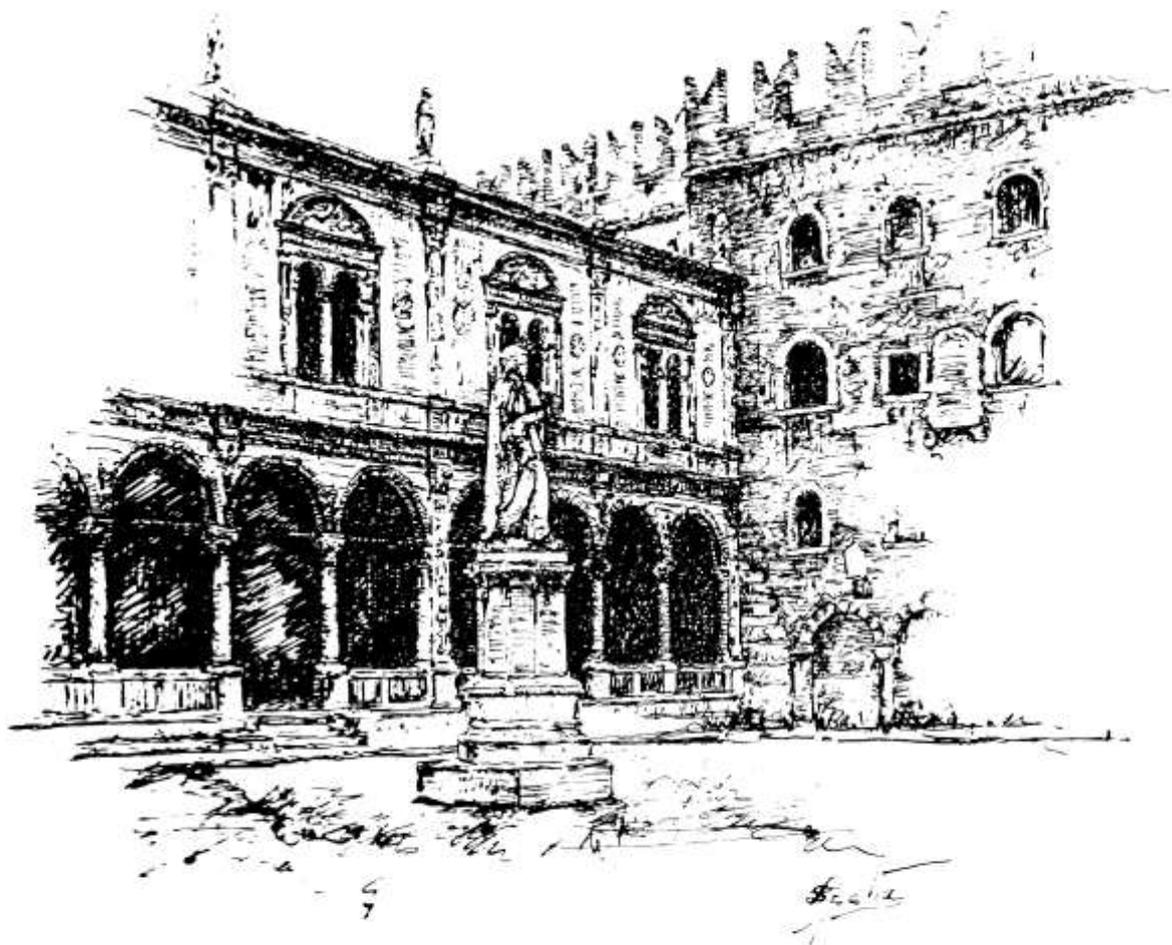
**Attribuzione** Devi riconoscere una menzione di paternità adeguata, fornire un link alla licenza e indicare se sono state effettuate delle modifiche. Puoi fare ciò in qualsiasi maniera ragionevole possibile, ma non con modalità tali da suggerire che il licenziante avalli te o il tuo utilizzo del materiale.



**NonCommerciale** Non puoi usare il materiale per scopi commerciali.



**Non opere derivate** —Se remixi, trasformi il materiale o ti basi su di esso, non puoi distribuire il materiale così modificato.



Verona, Piazza dei Signori

disegno a penna di Dante Spelta

*Non si può incominciare a fare  
qualcosa se prima non si ha un'idea  
di ciò che si vuol fare.*

*Ogni momento la vita incomincia  
da capo. Amen.*

Thomas Merton, *Il segno di Giona*

## INDICE

<b>PREMESSA</b>	pag. 6
<b>SOMMARIO</b>	pag. 7
<b>ABSTRACT</b>	pag. 8
<b>INTRODUZIONE</b>	
Epidemiologia e caratteristiche eziopatogenetiche.	pag. 9
Asma bronchiale, apporto nutrizionale di acidi grassi	pag. 10
Asma bronchiale, apporto nutrizionale di agenti antiossidanti	pag. 11
Rinite	pag. 13
BPCO e bronchite cronica	pag. 14
<b>OBIETTIVI E RAZIONALE</b>	pag. 16
<b>MATERIALI E METODI</b>	
Disegno dello studio	pag. 17
Test di funzione polmonare e test allergologici	pag. 17
Food Frequency Questionnaire (FFQ)	pag. 18
Identificazione dei casi e dei controlli in ambito clinic	pag. 18
Analisi statistica	pag. 19
<b>RISULTATI</b>	pag. 21
<b>DISCUSSIONE</b>	pag. 29
Acidi grassi mono-insaturi, olio d'oliva e asma	pag. 30
Acidi grassi <i>trans</i> , margarina e asma	pag. 34
Acidi grassi poli-insaturi, alimenti derivati dalla pesca e asma	pag. 35
Acidi grassi saturi, burro e asma	pag. 36
Pattern dietetici e asma	pag. 37
Acidi grassi e rinite	pag. 40
Limiti delle indagini nutrizionali	pag. 42
<b>CONCLUSIONI</b>	pag. 43
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	pag. 44

## **PREMESSA**

Lo studio illustrato nella presente tesi riguarda la relazione tra abitudini dietetiche (con particolare riferimento all'introito alimentare di acidi grassi) e le malattie respiratorie quali asma, rinite, bronchite cronica, attingendo all'analisi dei dati di un campione di popolazione italiana adulta (età compresa tra 20 e 84 anni). Lo studio è parte del progetto GEIRD (Gene Environment Interaction in Respiratory Diseases) che ha l'obiettivo di valutare il possibile ruolo di fattori genetici ed ambientali nell'insorgenza e nello sviluppo di diverse malattie respiratorie nella popolazione italiana.

I dati elaborati in forma preliminare sono stati presentati come comunicazione orale al 51° Congresso della European Society for Clinical Investigation (ESCI), svoltosi presso l'Ospedale San Martino di Genova dal 17 al 19 maggio 2017, e successivamente, sotto forma di poster, al XLIV Congresso Nazionale AIPO (Associazione Italiana Pneumologi Ospedalieri) tenutosi a Bologna dal 10 al 13 giugno 2017.

Il 21 febbraio 2018 è stato organizzato un Seminario presso l'Università di Verona, dal titolo "Olive oil and health: respiratory diseases and more" con l'obiettivo di dare una più ampia diffusione ai dati analizzati e ai risultati ottenuti. Hanno partecipato il Professor Massimo Stefani e il Professor Gianfranco Liguri dell'Università di Firenze che hanno condiviso i risultati della loro ricerca sugli effetti dell'olio d'oliva nelle malattie neurodegenerative e nell'invecchiamento.

Il Seminario ha ottenuto il patrocinio di Verona Fiere, Ente che ogni anno organizza, nello stesso periodo in cui è stato organizzato il Seminario, il forum "EVOO Days" dedicato a tutti i professionisti della filiera dell'olio extravergine d'oliva, con lo scopo di portare i nostri risultati anche al di fuori del mondo accademico e poter allacciare rapporti di collaborazione per possibili nuovi progetti di ricerca in questo ambito.

Lo studio è stato pubblicato nel 2019 sulla rivista *Clinical and Experimental Allergy*<sup>1</sup>.

## SOMMARIO

**Premesse.** Le malattie respiratorie sono tra le patologie più diffuse. Alla base dei meccanismi patogenetici, spesso comuni, concorrono fattori genetici e ambientali; tra questi, lo stile di vita e la dieta rivestono un ruolo di crescente interesse. In particolare, gli acidi grassi sono stati associati a queste patologie con risultati, spesso contrastanti, ottenuti dall'analisi di popolazioni molto diverse tra loro.

**Obiettivo.** Indagare le possibili associazioni tra l'introito di lipidi, acidi grassi e dei cibi che ne sono principali fonti alimentari con le malattie respiratorie (asma, bronchite cronica, rinite), attingendo ai dati del campione esaminato nello studio GEIRD - Gene Environment Interaction in Respiratory Disease - ovvero una popolazione adulta proveniente da diversi centri italiani.

**Materiali e Metodi.** 962 soggetti arruolati nello studio GEIRD hanno compilato il Food Frequency Questionnaire (FFQ) validato per la popolazione italiana EPIC, da cui sono stati ricavati i dati nutrizionali. L'associazione tra le variabili di introito alimentare con il rischio di essere casi delle singole malattie è stata esplorata mediante modelli di analisi di regressione logistica multinomiale.

**Risultati.** L'introito di grassi, vegetali, MUFA e acido oleico è associato negativamente al rischio di asma attiva. Ciò è vero sia nel quarto quartile di esposizione, sia come trend inter-quartile. Parallelamente, il consumo di olio d'oliva si associa ad una analoga riduzione del rischio d'asma attiva (RRR 0.78 95%CI 0.64-0.96). Inoltre, si evidenzia una significativa associazione positiva tra rinite allergica e un moderato consumo di grassi di origine animale.

**Conclusioni.** L'assunzione di olio d'oliva e di acido oleico si associa a un ridotto rischio di asma attiva; inoltre, esiste una associazione tra un moderato consumo di grassi animali e rinite allergica. Nel loro insieme questi dati suggeriscono un rapporto tra alimentazione e malattie dell'apparato respiratorio, associazione che sembra legata non solo alla qualità della dieta ma anche al tipo di malattia.

## ABSTRACT

**Background.** Fat intake has been associated to respiratory diseases, with conflicting results.

**Objective.** To assess the association between respiratory diseases and animal and vegetable fats, monounsaturated (MUFA), saturated (SFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA).

**Design** Population-based multi-case control study (Genes Environment Interaction in Respiratory Diseases (GEIRD) study) conducted in seven Italian centers.

**Participants.** Subjects aged 20–84 years from the general population.

**Measurements.** Clinical status and nutrient intake information was collected for 962 subjects: 145 with Current Asthma (CA), 77 with Past Asthma (PA), 77 with CB, 301 with Allergic Rhinitis (AR), 164 with Non Allergic Rhinitis (NAR) and 344 Controls. Food intake was collected through the Food Frequency Questionnaire EPIC (European Investigation into Cancer and Nutrition). The associations between fats and respiratory diseases were estimated by means of multinomial or logistic models. The different fats and foods were analyzed both as continuous variables and as quartiles.

**Results.** A negative association between the intake of vegetable fats, MUFA, oleic acid and the risk of CA was found (RRR=0.69; 95%CI: 0.49;0.97 for oleic acid). The same association for MUFA ( $p=0.028$ ) and oleic acid ( $p=0.022$ ) against CA was found when they were categorized in quartiles. Olive oil was associated to a reduction of the risk of CA (RRR=0.79; 95%CI: 0.65;0.98). An increased risk of AR was associated with moderate animal fat intake, and an increased risk of NAR was associated with SFA intake.

**Conclusions.** Dietary fats affect the risk of respiratory diseases in adults. High dietary intake of oleic acid and of olive oil are associated to a lower asthma risk.

## **INTRODUZIONE**

### **Epidemiologia e caratteristiche eziopatogenetiche.**

Le malattie respiratorie sono tra le condizioni morbose più diffuse sia nei paesi industrializzati sia nei paesi in via di sviluppo<sup>2</sup>, con una prevalenza che sta aumentando soprattutto nei paesi più poveri. In generale, le malattie croniche sono la maggiore causa di morti premature nell'adulto in tutte le regioni del mondo. Inoltre non bisogna sottovalutare altri aspetti oltre alla mortalità: se misurare parametri standardizzati di morbidità e disabilità è molto complesso, ciò non toglie che l'informazione sia molto preziosa al fine di comprendere il costo totale (socio-sanitario ed economico) di una determinata malattia.

Nei paesi industrializzati, l'invecchiamento complessivo della popolazione si associa ad un incremento della prevalenza di malattie respiratorie<sup>3</sup> con un parallelo aumento della disabilità dei pazienti. Pertanto è evidente come la ricerca debba cercare di offrire nuove soluzioni tanto nella terapia quanto nella prevenzione di queste malattie.

Da un punto di vista eziopatogenetico, le malattie respiratorie sono caratterizzate dalla coesistenza di fattori genetici e ambientali, spesso condividendo la presenza di uno o più elementi. Tra i fattori ambientali, il fumo di sigaretta, l'inquinamento atmosferico, l'ambiente di lavoro e di vita (con l'esposizione più o meno obbligata ad antigeni potenzialmente allergenici) sono alcuni dei più importanti elementi che, andando ad agire su un soggetto genotipicamente predisposto, possono dare origine allo sviluppo di malattia<sup>4</sup>. Inoltre, stili di vita più o meno salutari possono associarsi a una manifestazione clinica di malattia. A questo proposito, il ruolo della dieta nello sviluppo e nella progressione delle malattie respiratorie è stato opportunamente indagato e posto in evidenza per l'importanza che può ricoprire nella prevenzione oltre che nel controllo della malattia<sup>5</sup>. Recenti studi hanno anche evidenziato come fattori nutrizionali possano alterare significativamente la risposta dell'organismo ad agenti ambientali, con una dieta di scarso valore nutrizionale che potrebbe aumentare la suscettibilità di un soggetto predisposto all'effetto deleterio di sostanze come allergeni, fumo, agenti infettivi, inquinamento.

Da sottolineare come i polmoni siano sottoposti a numerosi stimoli pro-infiammatori esterni e, inoltre, condizioni morbose quali asma e bronchite siano esse stesse caratterizzate da uno stato infiammatorio costante che può andare incontro ad esacerbazioni e fasi di remissione nel corso della loro storia naturale. Il ruolo cruciale dell'infiammazione è confermato dal fatto che provvedimenti quali, ad esempio, la cessazione del fumo di sigaretta e l'utilizzo di farmaci anti-infiammatori, come i corticosteroidi, riducono il declino della funzione polmonare nel tempo e la gravità dei sintomi respiratori<sup>6</sup>. Pertanto, interventi tesi a ridurre il grado di infiammazione possono portare a una prognosi migliore in questi pazienti.

### **Asma bronchiale, apporto nutrizionale di acidi grassi**

Il ruolo della dieta nella genesi di uno stato proinfiammatorio è da molto tempo considerato uno degli aspetti più importanti per comprendere l'attività della dieta nello sviluppo di malattie croniche e quindi anche gli effetti negativi che una cattiva dieta può avere. In questo senso, è ben noto che l'apporto dietetico di acidi grassi può influenzare lo stato infiammatorio dell'organismo<sup>7</sup>.

Nel mondo occidentale, l'incremento del consumo di margarine e oli vegetali (quali olio di girasole o olio di semi di soia, di cui sono ricche le margarine) rispetto a un calo del consumo di pesce e grassi animali ha portato a una variazione del rapporto alimentare tra acidi  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 da 1:1 a 15-17:1<sup>8</sup>.

La presenza di acidi grassi  $\omega$ -3 riduce la produzione di eicosanoidi infiammatori attraverso una modulazione della via dell'acido arachidonico nell'attività della cicloossigenasi<sup>6</sup>. Ne risulta una riduzione della produzione di leucotriene B<sub>4</sub>, mediatore infiammatorio che induce il reclutamento di leucociti neutrofili. Inoltre i leucotrieni hanno attività broncocostrittive.

Nello studio trasversale condotto su 219 pazienti asmatici<sup>9</sup> Barros *et al* hanno osservato che un più alto introito alimentare di acidi grassi  $\omega$ -3 si associa a un ridotto livello di eNO (ossido nitrico esalato), con miglior controllo dei sintomi respiratori; all'opposto, un alto rapporto  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ha un effetto negativo sugli stessi parametri.

Analoghi risultati sono stati osservati nei confronti delle malattie allergiche<sup>10</sup>.

Non mancano tuttavia risultati contrastanti: nello studio di Moreira<sup>11</sup> la supplementazione con olio di pesce (ricco in acidi grassi polinsaturi  $\omega$ -3) non ha mostrato alcun miglioramento dei valori di eNO, dei parametri di funzione polmonare né del controllo dei sintomi in una popolazione di donne asmatiche.

Se il ruolo protettivo dell'acido oleico (acido grasso mono-insaturo contenuto prevalentemente nell'olio d'oliva) è stato evidenziato in diversi studi riguardanti l'apparato cardiovascolare<sup>12,13</sup>, più scarse sono le informazioni riguardanti l'apparato respiratorio. Nel modello animale, la supplementazione di olio d'oliva riduce l'infiammazione delle vie respiratorie e l'iperreattività bronchiale in modelli di asma indotta<sup>14</sup> e disturbi allergici<sup>15</sup>. Inoltre, nei bambini, l'uso costante di olio d'oliva è associato a una più bassa prevalenza di asma<sup>16</sup>.

Strettamente legato all'alimentazione, in particolare a cattive abitudini nutrizionali spesso caratteristiche delle cosiddette "western diet", è utile ricordare il ruolo dell'obesità come fattore di rischio per l'asma: pur se non completamente concordi, i dati di letteratura sostengono questa ipotesi, non essendo chiari i meccanismi<sup>17</sup>. L'obesità è causa di uno stato proinfiammatorio e può di per sé agire sul sistema respiratorio, ma non è chiaro se l'azione svolta sia realmente eziopatogenetica o solo causa di esacerbazioni della malattia o se anche l'aumento di peso si verifichi in concomitanza dei sintomi respiratori<sup>18</sup>. I lavori di revisione presenti in letteratura sui rapporti tra dieta e asma sono numerosi e simili nelle conclusioni finali con quanto già riportato<sup>19,20,21</sup>.

### **Asma bronchiale, apporto nutrizionale di agenti antiossidanti**

Riguardo le malattie ostruttive respiratorie, uno dei meccanismi protettivi principalmente invocati legato alla dieta è quello dell'attività antiossidante di alcuni alimenti<sup>5</sup>. Normalmente nel polmone esiste un ambiente ricco di ossigeno, in cui si bilanciano gli effetti tossici dell'ossigeno e quelli protettivi di vari sistemi intra ed extracellulari: un preciso controllo dello stato redox è importante per mantenere la funzione cellulare polmonare integra. Perciò è stata formulata l'ipotesi che una dieta ricca di alimenti antiossidanti possa essere protettiva per l'apparato respiratorio<sup>22</sup>. Tuttavia, studi osservazionali sul ruolo di vitamina C, vitamina E, vitamina A e Selenio hanno dato risultati contraddittori. Molti studi

epidemiologici hanno riscontrato che l'apporto dietetico di vitamina C si associa positivamente con la funzione respiratoria nei bambini e negli adulti (aumento del FEV<sub>1</sub> nell'adulto<sup>23</sup>). Riguardo alla vitamina E, la principale difesa contro danni di membrana ossidativi, sono consistenti i riscontri di una associazione con una migliore risposta ventilatoria e, seppure meno numerosi, di associazione benefica verso asma e atopia. Uno studio statunitense ha dimostrato che l'incidenza di diagnosi clinica di asma su un periodo di 10 anni era associata negativamente all'apporto dietetico di vitamina E, con il quintile di esposizione più alto che mostrava una riduzione del 47% della probabilità di sviluppo di malattia rispetto al quintile più basso<sup>24</sup>. La vitamina A (che comprende retinolo e oltre seicento diversi carotenoidi) ha un potente ruolo antiossidante ed è implicata nel normale sviluppo dell'epitelio polmonare<sup>24</sup>. Associazioni benefiche sono state dimostrate tra il consumo di carotenoidi e la funzione ventilatoria oltre che con la diagnosi di asma<sup>24</sup>. Il selenio, oligoelemento che entra nella catena alimentare con i vegetali, è un importante antiossidante per la sua presenza nell'enzima glutazione perossidasi<sup>24</sup>. La concentrazione sierica di selenio si associa negativamente all'asma in ragazzi dai 4 ai 16 anni<sup>25</sup>. Tuttavia, a fronte di così promettenti dati epidemiologici e di associazione, gli studi di intervento con supplementi dietetici di antiossidanti (prevalentemente vitamina C) hanno dato risultati scoraggianti con evidenze di inefficacia e solo pochi risultati debolmente positivi, di scarso interesse clinico<sup>22</sup>. Una delle possibili spiegazioni di questa discrepanza è che la supplementazione con antiossidanti sia efficace solo quando ne esista una carenza nell'organismo<sup>26</sup>; inoltre gli studi osservazionali potrebbero non aver considerato altri fattori e nutrienti associati a quelli antiossidanti analizzati. Una proposta alternativa è quella che fa ricadere l'importanza degli antiossidanti solo in alcune fasi della vita, in particolare l'infanzia. Studi più datati hanno valutato il ruolo degli elettroliti nei confronti dell'asma, con riscontro di associazione tra consumo di sodio (Na) e prevalenza della malattia<sup>26</sup>, con un possibile ruolo eziologico dello ione sulla iperreattività bronchiale, dato che non si verifica nessun effetto nei soggetti non asmatici. Riguardo al magnesio (Mg), studi sperimentali hanno rivelato proprietà broncodilatatrici<sup>5</sup>, ma sono scarse le informazioni provenienti da studi epidemiologici<sup>5</sup>.

## Rinite

La letteratura dedicata ai rapporti tra dieta e rinite non è così ampia come per l'asma bronchiale. Epidemiologicamente, la rinite allergica si associa molto frequentemente con l'asma, di cui può essere un fattore di rischio<sup>27</sup>. Molti degli studi nutrizionali si interessano quindi prevalentemente all'allergia in quanto tale, analizzando, come marcatori e outcome, sintomi o caratteristiche cliniche diversi che, solo in una minoranza dei casi, sono quelli rinitici. Lo studio di Maslova *et al*<sup>28</sup>, che osserva l'associazione tra consumo di pesce durante la gravidanza e prevalenza di asma e rinite allergica nel bambino a 18 mesi di età, conclude con il riscontro di una associazione negativa tra elevato consumo di pesce e asma, mentre non si evidenzia nessuna associazione con la rinite. Miyake *et al*<sup>29</sup> valutano il rapporto tra prevalenza di rinite e introito di specifici acidi grassi in una coorte di donne gravide giapponesi. Il risultato, significativo, vede una associazione tra assunzione con la dieta di acido eicosapentanoico e docosaesanoico e una ridotta prevalenza di rinite allergica. Lo studio trasversale di de Battle<sup>30</sup> su una coorte di bambini messicani trova una correlazione negativa tra pattern dietetico di tipo mediterraneo, asma e rinite. Continuando a parlare di alimenti piuttosto che di nutrienti isolati, il gruppo di Miyake<sup>31</sup> ha posto l'attenzione su consumo di carne e rinite. La conclusione a cui giungono gli autori suggerisce la possibilità che il consumo di carne si associ positivamente alla prevalenza di rinite nella coorte osservata, composta da giovani donne giapponesi, senza che sia possibile osservare alcuna associazione significativa con singoli nutrienti (acidi grassi in particolare). In un contesto diverso<sup>32</sup>, Rosenkranz *et al* valutano quali fattori dietetici si associno all'asma e a sintomi rinitici in una popolazione di adulti e anziani in Australia. Diete caratterizzate da elevati apporti di carni, pollame, frutti di mare sono associate a una maggior prevalenza di asma e di sintomi rinitici; ciò fa concludere agli autori che l'aderenza a un regime dietetico basato su un elevato consumo di carne potrebbe porre a rischio di asma/rinite un adulto/anziano australiano. Magnusson *et al* nello studio condotto su bambini svedesi<sup>33</sup> valutano in modo prospettico il rapporto tra malattie allergiche e consumo di pesce. Gli autori arrivano a concludere che il consumo regolare di pesce durante l'infanzia

possa ridurre il rischio di malattie allergiche fino a 12 anni di età (termine del follow up dello studio).

### **BPCO e bronchite cronica**

Il ruolo della dieta nella BPCO riveste una grande importanza, considerando che uno stato nutrizionale deficitario (caratterizzato da basso BMI e perdita di massa magra) è comune nelle forme avanzate e gravi della malattia<sup>34</sup>. Per questo motivo, sia la ricerca clinica, sia interventi nutrizionali hanno avuto come obiettivo primario l'utilizzo di diete ad alto contenuto calorico e iper-proteiche che possono avere un impatto clinico in caso di malnutrizione<sup>34</sup>. Tuttavia, considerata la natura infiammatoria della malattia, sia a livello polmonare, sia sistemico, appare razionale l'analisi del ruolo degli acidi grassi, in modo analogo a quanto avvenuto per l'altra patologia ostruttiva a carattere infiammatorio cronico, l'asma bronchiale<sup>35</sup>. In particolare, ampia è la letteratura riguardante gli acidi grassi poli-insaturi (PUFA)<sup>36</sup>, esercitando gli acidi grassi  $\omega$ -3 un ruolo anti-infiammatorio contrario a quello degli acidi grassi  $\omega$ -6. L'aumento del rapporto  $\omega$ -3/  $\omega$ -6 produce effetti anti infiammatori (modulazione dell'espressione genica di molecole di adesione, citochine, enzimi di rimodellamento della matrice extracellulare) anche attraverso la regolazione di fattori di trascrizione nucleare, in particolare NF-kB che, legato all'incremento dello stress ossidativo, è coinvolto nella patogenesi dell'infiammazione polmonare<sup>37</sup>.

Tuttavia, i risultati di diversi studi sono discordi, come emerge da una recente revisione<sup>38</sup>. Solo 11 studi sono stati raccolti in questa revisione, a testimonianza della necessità di ulteriori indagini sull'argomento. Gli autori concludono che, nonostante il forte razionale biologico, non esiste una significativa evidenza di una associazione favorevole tra l'apporto alimentare di acidi grassi  $\omega$ -3 e lo stato di salute di soggetti con BPCO.

Il ruolo degli acidi grassi saturi nella BPCO e nella bronchite cronica ha ricevuto una minore attenzione<sup>39</sup>. In questo studio, gli autori mostrano che a un maggior introito di acidi grassi saturi si associano migliori volumi polmonari mobilizzabili misurati con la spirometria. Una possibile spiegazione risiede nell'aumentata domanda energetica nei soggetti con BPCO secondaria allo stato infiammatorio

cronico e al più alto metabolismo basale legato all'aumentato lavoro respiratorio. L'utilizzo di acidi grassi come substrati energetici riduce la produzione totale di anidride carbonica rispetto all'utilizzo dei carboidrati e, pertanto, un aumentato apporto alimentare di acidi grassi può ridurre gli effetti collaterali legati all'incremento della CO<sub>2</sub><sup>40</sup> (in tal senso, il consumo di acidi grassi saturi sarebbe solo un indicatore del consumo di acidi grassi totali). Inoltre viene sottolineato come la lunghezza della catena di atomi di carbonio dei grassi saturi possa incidere sull'effetto biologico dei singoli acidi grassi, dato che quelli a corta e media catena, prevalentemente presenti nei latticini, possono esercitare effetti anti-infiammatori a differenza degli acidi a lunga catena presenti in maggior quantità nella carne.

Considerando più ampi pattern dietetici, seppur non sempre in modo concorde, diversi studi suggeriscano che, in diversi contesti, una dieta ricca di vegetali e frutta sia protettiva nei confronti dell'insorgenza di BPCO a parità di fattori di rischio come il fumo di sigaretta<sup>41,42</sup>.

Molto scarna è la letteratura dedicata al ruolo della dieta in rapporto alla bronchite cronica (intesa come persistenza di tosse e catarro). In uno studio su una popolazione di Singapore di etnia cinese il consumo di fibre non amidacee e di alcuni frutti (mela, uva), si associa in maniera indipendente a una ridotta manifestazione di tosse e catarro<sup>43</sup>. Gli stessi autori, analizzando pattern dietetici nella stessa popolazione, hanno osservato che il rischio di manifestare sintomi respiratori quali tosse e catarro aumenta di 1.4 volte nel quartile con più alto consumo di carni, carboidrati ricchi di amidi e cibi conservati<sup>44</sup>.

## **OBIETTIVI E RAZIONALE**

Obiettivo di questo studio è l'analisi del ruolo della dieta come fattore di rischio per l'insorgenza o la progressione di malattia. Studi recenti hanno focalizzato la loro attenzione sugli elementi tipici dello stile di vita occidentale come la dieta, che potrebbero contribuire in modo significativo alla sensibilizzazione allergica e all'instaurarsi di uno stato proinfiammatorio nei soggetti esposti. In particolare, è stato dato risalto alla presenza quali-quantitativa di acidi grassi nella dieta, con risultati ed evidenze spesso discordanti e comunque ancora non pienamente dirimenti nell'identificare una chiara utilità clinica. Peraltro, molti degli studi presenti in letteratura sono stati condotti in popolazioni e nazioni con abitudini alimentari tipicamente occidentali, molto diverse da quelli presenti in Italia e nei paesi mediterranei.

Il progetto GEIRD (Gene Environment Interaction in Respiratory Disease) ha l'obiettivo di investigare il ruolo che fattori genetici, ambientali e la loro interazione svolgono nella storia naturale delle malattie respiratorie. Con un disegno di tipo caso-controllo, sono state raccolte informazioni su marcatori dell'infiammazione e dello stress ossidativo, esposizione individuale o collettiva a particolari fattori di rischio, dieta, abitudine al fumo, patrimonio genetico e farmaci utilizzati in una coorte di soggetti appartenenti alla popolazione generale. Scopo della presente analisi è indagare le possibili associazioni tra l'introito di lipidi, acidi grassi e dei cibi che ne sono principali fonti alimentari nei confronti dell'asma e delle malattie respiratorie, attingendo ai dati del campione esaminato nello studio GEIRD, ovvero una popolazione adulta proveniente da diversi centri italiani.

## **MATERIALI E METODI**

### **Disegno dello studio**

Il “Gene Environment Interaction in Respiratory Disease (GEIRD)” è uno studio caso-controllo che coinvolge 7 centri italiani. Questo studio segue ad altri (Italia Study on Asthma in Young Adults – ISAYA e il braccio italiano dello studio European Community Respiratory Health Survey – ECRHS-Italy), utilizzando campioni di soggetti estratti casualmente dalle coorti che erano state precedentemente arruolate, sempre in modo randomizzato, per i suddetti progetti<sup>45,46,47</sup>.

Nella prima fase dello studio GEIRD quindi, nuovi campioni di soggetti sono stati selezionati in modo randomizzato dalle coorti preesistenti. I soggetti appartengono alla popolazione generale (età compresa tra i 20 e gli 84 anni, rapporto maschi/femmine 1:1). A tutti è stato inviato un questionario di screening sui sintomi respiratori.

Nella seconda fase dello studio GEIRD, i soggetti che avevano descritto sintomi suggestivi di bronchite cronica, BPCO, asma o rinite e quelli senza nessun sintomo sono stati invitati ad una visita ambulatoriale. Durante la visita, ogni soggetto ha risposto a un questionario sulla propria storia clinica ed è stato sottoposto a test di funzione polmonare, test di provocazione con metacolina e prick test cutanei. Inoltre, è stato compilato un questionario teso a descrivere le abitudini alimentari del soggetto (food frequency questionnaire - FFQ).

Nella nostra analisi, solo i soggetti afferenti i centri di Pavia, Torino, Sassari e Verona e con le informazioni relative al FFQ sono stati presi in considerazione.

Per ogni altra informazione relativa al design e alle caratteristiche di popolazione e arruolamento relative allo studio GEIRD si rimanda alla pubblicazione di de Marco<sup>45</sup>.

### **Test di funzione polmonare e test allergologici**

I soggetti arruolati sono stati sottoposti a spirometria secondo i criteri stabiliti dalle linee guida della American Thoracic Society<sup>48</sup>. Il FEV<sub>1</sub> (Volume espiratorio forzato al primo secondo, in percentule rispetto al valore predetto) e il valore soglia di normalità (LLN) del rapporto FEV<sub>1</sub>/FVC (capacità vitale forzata) sono

stati calcolati sulla base dell'equazione di Quanjer<sup>49</sup>. I soggetti con un rapporto  $FEV_1/FVC \geq 70\%$  e  $\geq LLN$  sono poi stati sottoposti a un test di provocazione bronchiale con metacolina, secondo un protocollo già descritto da altri autori<sup>50</sup>. Invece i soggetti con un rapporto  $FEV_1/FVC < 70\%$  o  $< LLN$  sono stati sottoposti al test di broncodilatazione con salbutamolo per via inalatoria ed era poi proposto loro (se eleggibili) il test alla metacolina. L'atopia è stata valutata con prick test cutanei.

### **Food Frequency Questionnaire (FFQ)**

Il FFQ usato per raccogliere le informazioni sulla dieta è la versione italiana del questionario validato EPIC (European Investigation into Cancer and Nutrition) che è stato sviluppato nel contesto di una indagine internazionale<sup>82</sup>. Il software NAF (Nutritional Analysis of Food Frequency Questionnaires, Istituto Nazionale Oncologico - Milano) è stato usato per ricavare, dalle informazioni sulla composizione della dieta, i dati di introito quotidiano dei singoli nutrienti, degli alimenti e di energia totale. I dati nutrizionali relativi a specifici cibi sono stati ottenuti tramite il database della composizione dietetica per studi epidemiologici italiani<sup>52</sup>.

### **Identificazione dei Casi e dei Controlli in ambito clinico**

I 965 soggetti arruolati sono stati classificati in modo gerarchico in questo modo: 147 soggetti affetti da asma attiva (Current Asthma, CA), ovvero soggetti con anamnesi positiva per asma, storia di sintomi asmatici/utilizzo di medicine adeguate negli ultimi 12 mesi e un test alla metacolina positivo (calo del 20% del  $FEV_1$  con  $PD_{20} < 1\text{mg}$ ) o un test di broncodilatazione positivo eseguito dopo riscontro spirometrico di  $FEV_1/FVC < 70\%$  o  $< LLN$  (ovvero aumento del  $FEV_1$  del 12% e di 200 mL dopo la somministrazione di 400  $\mu\text{g}$  di salbutamolo); 76 casi di asma del passato (Past Asthma, PA), ovvero soggetti con anamnesi positiva per asma ma che non rientravano in tutti i criteri dei soggetti con asma attiva; 6 casi di BPCO (quadro spirometrico ostruttivo senza storia di asma, non considerati nello studio per la scarsa numerosità); 45 casi di bronchite cronica (Chronic Bronchitis, CB), cioè quei soggetti senza BPCO o asma e che riportavano la presenza di tosse

cronica o di catarro (>3 mesi all'anno almeno negli ultimi 2 anni); 145 casi di rinite allergica (Allergic Rhinitis, AR) e 127 di rinite non allergica (NAR): soggetti con sintomi rinitici in presenza di allergeni animali, pollini, polvere e un prick test rispettivamente positivo (AR) e negativo (NAR). Infine, 345 controlli, soggetti cioè senza sintomi nasali o respiratori né condizioni morbose dell'apparato respiratorio riscontrate in anamnesi o durante la visita pre-arruolamento e con una spirometria pre-broncodilatatore normale ( $FEV_1 > 70\%$  del predetto). 74 soggetti non sono stati inseriti per la mancanza di dati clinici rilevanti.

### **Analisi statistica**

I seguenti nutrienti sono stati considerati come determinanti: grassi totali, grassi di origine animale, grassi di origine vegetale, acidi grassi monoinsaturi (MUFA), acidi grassi polinsaturi (PUFA), acido oleico, acidi grassi saturi. Inoltre, sono stati considerati come determinanti anche olio d'oliva e burro. La margarina e gli oli vegetali sono stati inizialmente presi in considerazione ma poi esclusi visto il loro scarsissimo utilizzo nel nostro campione (introito medio quotidiano di margarina pari a 0.27 g, 0.64 g/die per gli oli vegetali). Le seguenti covariate sono state invece utilizzate come potenziali agenti confondenti: coorte/campione di provenienza (ISAYA, ECRHS, nuovo campione), centro di arruolamento tra quelli indicati, sesso, età, BMI, scolarità (valutata bassa se terminata prima dei 16 anni e considerata come indicatore dello status socio-economico), abitudine al fumo, attività fisica (autoripportata tramite questionario, poi valutata come intensa, moderata, leggera), introito di alcool, introito totale di proteine, introito energetico totale.

Per studiare il rapporto tra i diversi determinati descritti e le malattie respiratorie, sono stati usati dei modelli di regressione logistica multinomiale, correggendo poi per altre covariate. La valutazione dell'esposizione ai principali determinanti considerati (diversi tipi di grassi, acido oleico, burro e olio d'oliva) è stata corretta per l'apporto totale di energia secondo il metodo dei residui (Willett e Stampfer<sup>53</sup>) e categorizzata in quartili sulla base della distribuzione dell'esposizione stessa, rispetto a una popolazione di controllo. Secondo tale metodo, i valori residui

ottenuti dal calcolo di regressione tra l'esposizione al determinante rispetto all'apporto energetico totale sono stati inclusi come variabili indipendenti. L'apporto energetico totale è stato allo stesso modo considerato tra le covariate. È stata quindi effettuata una trasformazione logaritmica delle variabili di introito dietetico per creare dei residui con una varianza più omogenea in rapporto all'intervallo di apporto energetico. I valori dei nutrienti sono stati poi trasformati aggiungendo un valore costante (ovvero il prodotto tra il valore predetto e il logaritmo dell'introito calorico medio), estraendone successivamente la funzione antilogaritmica. Dal momento che diversi tipi di grassi sono correlati fra loro in quanto provenienti dalle stesse fonti alimentari, abbiamo seguito l'indicazione proposta da Hu<sup>54</sup> e pertanto abbiamo corretto il valore dei grassi contemporaneamente ognuno per ogni grasso di tipo diverso. Sono stati calcolati diversi modelli per diversi tipi di nutrienti (grassi animali e vegetali in un modello, MUFA, PUFA e acidi saturi in un altro) e il grasso totale. Abbiamo anche calcolato modelli distinti per l'acido oleico, il burro e l'olio d'oliva. Le associazioni tra i determinanti di esposizione e lo stato di caso-controllo (inteso come variabile dipendente) sono state espresse in termini di rapporto di rischio relativo (Relative Risk Ratio, RRR) con intervalli di confidenza del 95% (95% CI). Le analisi statistiche sono state ottenute utilizzando Stata Statistical Software: Release 13.3 (stata.com).

## RISULTATI

La tabella 1 mostra le principali caratteristiche socio-demografiche dei membri della coorte oggetto della nostra analisi. In particolare, considerato l'obiettivo di una valutazione della abitudini alimentari, non si rilevano differenze significative per quanto riguarda il BMI e l'attività fisica riferita dai soggetti. Anche se vi è una differenza significativa per l'età (essendo più vecchi i soggetti affetti da NAR e più giovani quelli con asma nel passato), la deviazione standard in ogni gruppo è molto ampia.

Tab 1. Main characteristics of the subjects without respiratory diseases (controls, n=345) and of the subjects with CA (Current Asthma, n=147), PA (Past Asthma, n=76), CB (Chronic Bronchitis, n=45), AR (Allergic Rhinitis, n=145) and NAR (Non Allergic Rhinitis, n=127) in the GEIRD study.

	Controls	CA	PA	CB	AR	NAR	P
Age, years (mean, sd)	53.7 (10.6)	52.2 (10.6)	48.2 (10.5)	51.0 (12.0)	51.6 (11.8)	54.8 (11.4)	0.0003
Gender (%)							
Male	48.1	46.9	43.4	55.6	52.4	43.3	0.551
Smoking habits (%)							0.026
Non smoker	52.3	49.7	57.3	44.4	57.2	44.1	
Ex smoker	32.9	27.2	26.7	20.0	25.5	33.9	
Current smoker	14.8	23.1	16.0	35.6	17.2	22.0	
Drinking habits (%)							
Current drinker	35.2	47.6	36.8	57.8	39.3	40.5	0.022
BMI,kg/m <sup>2</sup> (mean, sd)	25.5 (4.7)	25.2 (4.2)	24.8 (4.4)	25.3 (4.0)	25.1 (3.9)	25.6 (4.4)	0.7814
Physical activity (%)							0.468
Light	57.4	58.5	61.8	62.2	49.6	50.4	
Moderate	37.7	36.7	31.6	28.9	41.4	42.5	
Heavy	4.9	4.8	6.6	8.9	9.0	7.1	
Education level (%)							
High	74.1	76.2	86.8	68.9	78.6	67.5	0.039

Considerando il campione nel suo insieme (tabella 2), l'introito di grassi vegetali, di MUFA e di acido oleico, si associa a un ridotto rischio di essere affetto da asma attiva (RRR rispettivamente 0.80 (95% CI 0.65-0.99) per i grassi vegetali, 0.66 (95% CI 0.47-0.92) per i MUFA e 0.66 (95% CI 0.48-0.93) per l'acido oleico). Quindi, prendendo ad esempio il risultato relativo ai grassi di origine vegetale, a parità di introito calorico totale, per ogni 10 grammi di grassi di origine vegetale assunti con la dieta, il rischio di un soggetto di essere affetto da asma corrente diminuisce del 20%, rispetto a una popolazione di controllo sana per patologie

respiratorie. Risultato sovrapponibile è quello dei grassi totali (RRR 0.83, 95% CI 0.70-0.99). L'introito totale di energia non è associato a nessuna delle patologie, con dati che sono ampiamente sovrapponibili tra tutti i soggetti.

Tab 2. Adjusted\* RRR<sup>#</sup> (and 95%CI) to be a case of asthma (past, n=76 or current, n=147), of chronic bronchitis without asthma (n=45) or of rhinitis without asthma and without chronic bronchitis (allergic, n=145 or non allergic, n=127) according to the intake of fats in the GEIRD study.<sup>§</sup>

	Current asthma	Past asthma	Chronic Bronchitis	Allergic Rhinitis	Non allergic Rhinitis
Animal fat (10 g)	0.92 (0.73;1.15)	1.02 (0.75;1.38)	1.13 (0.78;1.64)	1.06 (0.84;1.33)	1.11 (0.87;1.41)
Vegetable fat (10 g)	<b>0.80 (0.65;0.99)</b>	1.24 (0.95;1.62)	1.10 (0.78;1.55)	1.02 (0.83;1.26)	1.08 (0.87;1.33)
Total Energy (100 kcal)	0.98 (0.95;1.01)	1.04 (1.00;1.08)	1.02 (0.97;1.07)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.98;1.04)
Saturated fat (10 g)	1.03 (0.68;1.55)	0.92 (0.53;1.59)	1.19 (0.62;2.29)	1.13 (0.75;1.69)	1.07 (0.70;1.64)
MUFA (10 g)	<b>0.66 (0.47;0.92)</b>	1.25 (0.81;1.92)	1.07 (0.61;1.87)	1.05 (0.74;1.49)	1.04 (0.74;1.45)
Polyunsaturated fat (10 g)	1.53 (0.49;4.79)	1.55 (0.29;8.31)	0.94 (0.11;7.78)	0.57 (0.13;2.48)	1.57 (0.53;4.68)
Total Energy (100 kcal)	0.98 (0.94;1.01)	1.04 (1.00;1.08)	1.02 (0.97;1.07)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.98;1.05)
Saturated fat	0.99 (0.66;1.49)	0.93 (0.55;1.59)	1.20 (0.63;2.27)	1.12 (0.75;1.67)	1.08 (0.71;1.64)
Oleic Acid (10 g)	<b>0.66 (0.48;0.93)</b>	1.25 (0.82;1.90)	1.07 (0.62;1.85)	1.06 (0.75;1.50)	1.02 (0.73;1.42)
Polyunsaturated fat	1.48 (0.47;4.64)	1.56 (0.29;8.27)	0.94 (0.12;7.67)	0.56 (0.13;2.40)	1.61 (0.55;4.72)
Total Energy (100 kcal)	0.98 (0.94;1.01)	1.04 (1.00;1.08)	1.02 (0.97;1.07)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.98;1.04)
Total fat (10 g) <sup>§</sup>	<b>0.83 (0.70;0.99)</b>	1.14 (0.91;1.44)	1.12 (0.83;1.50)	1.03 (0.86;1.23)	1.09 (0.90;1.30)
Total Energy (100 kcal)	0.98 (0.95;1.01)	1.03 (0.99;1.07)	1.02 (0.97;1.07)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.98;1.04)

\* The estimates were adjusted for age, gender, centre, study cohort, BMI, smoking habits, alcohol intake, physical activity, educational level, total protein intake and total energy intake.

<sup>§</sup> Significant results are in bold.

<sup>#</sup> RRRs for a difference in intake equal to 10 g/l standard deviation of the distribution of controls.

<sup>§</sup> Total fat was considered in a separate model, which did not include specific types of fats.

MUFA: Monounsaturated fatty acids.

Non sono emerse invece associazioni significative per le altre condizioni morbose considerate, ovvero asma nel passato, bronchite cronica e rinite allergica e non allergica.

La tabella 3 (suddivisa in sottotabelle 3a, 3b e 3c per le diverse patologie) riporta il rischio relativo di un soggetto di essere un caso di una delle patologie considerate (secondo un modello di valutazione gerarchico) rispetto alla popolazione di controllo e in rapporto a quartili di assunzione di grassi animali e vegetali, acidi grassi e acido oleico.

Tab 3. Adjusted\* RRR<sup>#</sup> (and 95%CI) to be a case of asthma (past, n=76 or current, n=147), of chronic bronchitis without asthma (n=45) or of rhinitis without asthma and without chronic bronchitis (allergic, n=145 or non allergic, n=127) according to quartiles of fat intake (based on the distribution of controls) in the GEIRD study.

Tab 3a. Current and Past asthma

	Quartile of intake				P (Trend)
	1	2	3	4	
<b>Current asthma</b>					
Animal fat	1.00	1.20 (0.66;2.16)	0.83 (0.44;1.58)	1.11 (0.57;2.16)	0.999
Vegetable fat	1.00	0.86 (0.49;1.51)	0.86 (0.49;1.52)	<b>0.49 (0.26;0.94)</b>	0.052
Saturated fat	1.00	1.24 (0.68;2.25)	1.14 (0.61;2.14)	1.42 (0.72;2.78)	0.385
Monounsaturated fat	1.00	0.74 (0.41;1.34)	0.61 (0.32;1.16)	<b>0.38 (0.17;0.81)</b>	<b>0.015</b>
Polyunsaturated fat	1.00	0.81 (0.44;1.47)	1.08 (0.56;2.05)	1.15 (0.57;2.31)	0.596
Saturated fat	1.00	1.23 (0.68;2.21)	1.11 (0.59;2.08)	1.34 (0.69;2.60)	0.482
Oleic Acid	1.00	0.59 (0.33;1.08)	0.68 (0.37;1.26)	<b>0.38 (0.18;0.80)</b>	<b>0.025</b>
Polyunsaturated fat	1.00	0.83 (0.46;1.51)	1.07 (0.56;2.02)	1.10 (0.55;2.22)	0.678
Total fat <sup>s</sup>	1.00	0.86 (0.49;1.49)	0.68 (0.38;1.24)	0.62 (0.33;1.16)	0.099
<b>Past asthma</b>					
Animal fat	1.00	2.05 (0.95;4.41)	0.90 (0.37;2.17)	1.28 (0.51;3.22)	0.847
Vegetable fat	1.00	0.98 (0.45;2.16)	1.19 (0.53;2.67)	1.65 (0.73;3.73)	0.179
Saturated fat	1.00	1.20 (0.56;2.61)	0.77 (0.33;1.80)	0.93 (0.39;2.26)	0.619
Monounsaturated fat	1.00	1.08 (0.48;2.42)	0.60 (0.24;1.51)	1.35 (0.53;3.44)	0.773
Polyunsaturated fat	1.00	1.38 (0.57;3.34)	2.14 (0.88;5.23)	1.48 (0.56;3.96)	0.364
Saturated fat	1.00	1.15 (0.54;2.48)	0.75 (0.32;1.75)	0.89 (0.37;2.13)	0.567
Oleic Acid	1.00	1.20 (0.54;2.65)	0.63 (0.25;1.58)	1.53 (0.62;3.79)	0.593
Polyunsaturated fat	1.00	1.32 (0.55;3.17)	2.00 (0.83;4.83)	1.39 (0.52;3.67)	0.440
Total fat <sup>s</sup>	1.00	2.10 (0.96;4.57)	1.37 (0.58;3.20)	1.56 (0.66;3.71)	0.611

Tab 3b. Chronic Bronchitis

	Quartile of intake				P (Trend)
	1	2	3	4	
<b>Chronic Bronchitis</b>					
Animal fat	1.00	0.65 (0.25;1.72)	0.42 (0.14;1.25)	0.87 (0.30;2.51)	0.715
Vegetable fat	1.00	2.20 (0.86;5.66)	1.06 (0.36;3.09)	1.74 (0.62;4.93)	0.582
Saturated fat	1.00	1.38 (0.51;3.70)	0.59 (0.19;1.85)	1.59 (0.53;4.80)	0.682
Monounsaturated fat	1.00	0.86 (0.31;2.41)	0.75 (0.25;2.28)	1.07 (0.32;3.60)	0.947
Polyunsaturated fat	1.00	0.82 (0.28;2.39)	1.41 (0.50;4.00)	0.92 (0.29;2.92)	0.897
Saturated fat	1.00	1.41 (0.53;3.75)	0.61 (0.20;1.91)	1.71 (0.58;5.07)	0.578
Oleic Acid	1.00	0.71 (0.26;1.93)	0.74 (0.26;2.09)	0.74 (0.23;2.38)	0.658
Polyunsaturated fat	1.00	0.86 (0.30;2.48)	1.52 (0.55;4.22)	1.08 (0.35;3.34)	0.679
Total fat <sup>s</sup>	1.00	1.98 (0.78;4.98)	0.52 (0.15;1.77)	1.63 (0.58;4.60)	0.767

Tab 3c. Allergic and Non Allergic Rhinitis

	Quartile of intake				P (Trend)
	1	2	3	4	
<b>Allergic Rhinitis</b>					
Animal fat	1.00	<b>1.98 (1.08;3.62)</b>	1.09 (0.55;2.16)	1.79 (0.90;3.54)	0.327
Vegetable fat	1.00	0.77 (0.43;1.39)	1.13 (0.64;2.00)	0.86 (0.46;1.61)	0.964

Saturated fat	1.00	1.54 (0.82; 2.90)	1.59 (0.83;3.05)	1.74 (0.87;3.49)	0.161
Monounsaturated fat	1.00	1.39 (0.75;2.59)	1.07 (0.54;2.11)	1.13 (0.53;2.44)	1.000
Polyunsaturated fat	1.00	0.62 (0.34;1.14)	0.74 (0.40;1.40)	0.59 (0.29;1.20)	0.213
Saturated fat	1.00	1.57 (0.84;2.94)	1.62 (0.85;3.09)	1.75 (0.88;3.48)	0.153
Oleic Acid	1.00	1.23 (0.67;2.25)	1.05 (0.54;2.01)	1.13 (0.54;2.35)	0.901
Polyunsaturated fat	1.00	0.64 (0.35;1.17)	0.75 (0.40;1.40)	0.57 (0.28;1.17)	0.187
Total fat <sup>§</sup>	1.00	1.70 (0.93;3.13)	<b>1.95 (1.04;3.65)</b>	1.39 (0.71;2.73)	0.368

	1	2	3	4	P (Trend)
<b>Non allergic rhinitis</b>					
Animal fat	1.00	1.69 (0.91;3.12)	1.19 (0.60;2.33)	1.46 (0.72;2.98)	0.517
Vegetable fat	1.00	0.55 (0.28; 1.07)	1.25 (0.69;2.25)	0.86 (0.45; 1.63)	0.750
Saturated fat	1.00	1.49 (0.79;2.82)	1.24 (0.63;2.46)	1.66 (0.82;3.35)	0.264
Monounsaturated fat	1.00	0.69 (0.35;1.34)	0.67 (0.33;1.36)	0.70 (0.32;1.52)	0.417
Polyunsaturated fat	1.00	1.18 (0.60;2.31)	1.49 (0.73;3.04)	1.43 (0.68;3.03)	0.307
Saturated fat	1.00	1.44 (0.77;2.70)	1.21 (0.61;2.38)	1.59 (0.79;3.18)	0.298
Oleic Acid	1.00	0.75 (0.39;1.44)	0.76 (0.38;1.49)	0.77 (0.36;1.63)	0.536
Polyunsaturated fat	1.00	1.13 (0.58;2.19)	1.41 (0.70;2.83)	1.36 (0.65;2.87)	0.362
Total fat <sup>§</sup>	1.00	1.01 (0.54;1.87)	1.16 (0.62;2.18)	1.14 (0.59;2.22)	0.600

\* The estimates were adjusted for age, gender, centre, study cohort, BMI, smoking habits, alcohol intake, physical activity, educational level, total protein intake and total energy intake.

<sup>§</sup> Significant results are in bold.

<sup>§</sup> Total fat was considered in a separate model, which did not include specific types of fats.

Per quanto riguarda l'asma corrente (tab 3a), c'è una associazione negativa e significativa rispetto al quarto quartile di assunzione di grassi vegetali, di MUFA e di acido oleico. Inoltre, il trend inter-quartile per MUFA e acido oleico (P-Trend 0.015 per MUFA e 0.025 per acido oleico rispettivamente) è, in modo analogo, significativo: all'aumentare della quantità di acido oleico introdotto con la dieta, diminuisce il rischio relativo di asma corrente. Pur essendo biologicamente chiaro un simile andamento relativo all'assunzione di grassi di origine vegetale, tale dato raggiunge la significatività statistica solo nei soggetti appartenenti al quarto quartile, ovvero quelli caratterizzati da un maggiore consumo degli acidi grassi vegetali (RRR 0.49, 95% CI 0.26-0.94). In questo caso, il trend inter-quartile è ai limiti della significatività statistica (P-trend 0.052). La condizione di asma del passato, invece, non trova associazioni statisticamente significative e anche un giudizio sul dato biologico risentirebbe di una ampia distribuzione degli intervalli di confidenza.

La tabella 3b si riferisce alla bronchite cronica. Come già evidenziato nella popolazione in toto, anche la suddivisione in quartili per l'assunzione di grassi

non offre associazioni significative. Nella tabella 3c viene posta attenzione sulle condizioni di rinite allergica e non allergica. La nostra analisi evidenzia una associazione positiva statisticamente significativa tra un modesto consumo di acidi grassi di origine animale e la probabilità di essere un caso di rinite allergica. Tale associazione, però, si manifesta in modo chiaro solo nel primo quartile di assunzione di grassi animali (RRR 1.98, 95%CI 1.08-3.62); analogamente, nei soggetti con rinite allergica si evidenzia una associazione positiva con il consumo totale di grassi: il dato raggiunge la significatività solo nel secondo quartile dei soggetti (RRR 1.95, 95% CI 1.04-3.65). Nessuna associazione è significatiava quando si considera la rinite non allergica.

È interessante da notare come (tabella 4) si riscontri una associazione negativa statisticamente significativa tra presenza di asma attiva e consumo di olio d'oliva (RRR 0.78 95%CI 0.64-0.96).

Tab 4. Adjusted\* RRR<sup>#</sup> (and 95%CI) to be a case of asthma (past, n=76 or current, n=147), of chronic bronchitis without asthma (n=45) or of rhinitis without asthma and without chronic bronchitis (allergic, n=145 or non allergic, n=127) according to the intake of olive oil, vegetable oils different from olive oil, butter and margarine in the GEIRD study.<sup>§</sup>

	<b>Current asthma</b>	<b>Past asthma</b>	<b>Chronic Bronchitis</b>	<b>Allergic Rhinitis</b>	<b>Non allergic Rhinitis</b>
Olive oil (10 g)	<b>0.78</b> <b>(0.64;0.96)</b>	1.22 (0.96;1.56)	0.98 (0.72;1.34)	1.00 (0.82;1.21)	1.02 (0.84;1.25)
Saturated fat (10 g)	0.85 (0.58;1.26)	1.04 (0.63;1.73)	1.23 (0.67;2.27)	1.14 (0.78;1.67)	1.10 (0.74;1.64)
Total Energy (100 kcal)	0.98 (0.95;1.01)	1.04 (1.00;1.08)	1.02 (0.97;1.07)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.98;1.04)
Vegetable oil different from olive oil (10 g)	1.09 (0.54;2.20)	0.85 (0.22;3.25)	6.86e-10 (0.00;62.54)	1.13 (0.58;2.22)	1.00 (0.53;1.90)
Saturated fat (10 g)	0.78 (0.49;1.25)	1.04 (0.57;1.90)	1.17 (0.56;2.44)	0.90 (0.57;1.43)	1.13 (0.69;1.87)
Total Energy (100 kcal)	1.00 (0.96;1.03)	1.04 (0.99;1.09)	1.03 (0.98;1.09)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.97;1.05)

Tab 4. Continues

	<b>Current asthma</b>	<b>Past asthma</b>	<b>Chronic Bronchitis</b>	<b>Allergic Rhinitis</b>	<b>Non allergic Rhinitis</b>
Butter (10 g)	0.89 (0.45;1.76)	0.58 (0.15;2.20)	0.54 (0.09;3.18)	0.78 (0.33;1.82)	0.73 (0.33;1.67)
Total fat (10 g)	0.83 (0.67;1.02)	1.05 (0.80;1.38)	1.09 (0.78;1.53)	0.93 (0.76;1.13)	1.01 (0.81;1.26)
Total Energy (100 kcal)	0.99 (0.96;1.03)	1.05 (1.00;1.09)	1.03 (0.98;1.09)	0.99 (0.96;1.03)	1.01 (0.97;1.05)
Margarine (10 g)	0.51 (0.01;31.27)	1.14 (0.01;149.01)	4.55e-15 (0.00;0.003)	2.35 (0.08;75.83)	0.01 (0.00;14.88)
Total fat (10 g)	<b>0.80</b> <b>(0.65;1.00)</b>	1.02 (0.77;1.36)	1.15 (0.80;1.66)	0.89 (0.72;1.10)	1.07 (0.85;1.35)
Total Energy (100 kcal)	1.00 (0.96;1.03)	1.04 (0.99;1.09)	1.03 (0.97;1.09)	0.99 (0.96;1.03)	1.02 (0.98;1.06)

\* The estimates were adjusted for age, gender, centre, study cohort, BMI, smoking habits, alcohol intake, physical activity, educational level, total protein intake and total energy intake.

<sup>#</sup> RRRs or ORs for a difference in intake of olive oil, vegetable oil different from olive oil, saturated fat or total fat equal to 10 g/1 standard deviation of the distribution of controls. RRRs or ORs for a difference in total energy equal to 100 kcal /1 standard deviation of the distribution of controls.

<sup>§</sup> Significant results are in bold.

L'introito di olio d'oliva non si associa a nessuna delle altre condizioni morbose, così come il consumo di burro (che, a differenza dell'olio d'oliva, non è associato neanche all'asma attiva). Risulta pressoché impossibile valutare le possibili associazioni tra le diverse malattie e il consumo di margarina visto l'introito medio molto basso di questo alimento nella popolazione in esame.

La tabella 5 descrive le quantità di grassi totali, animali e vegetali, di acidi grassi, di acido oleico, di olio d'oliva e di burro assunti con la dieta dai soggetti

esaminati, qui suddivisi per singola patologia, non emergendo alcuna differenza significativa.

Tab 5. Median, first (p25) and third (p75) quartile of fat intake and of some foods with fat content (cooking oils) (g/die) in subjects without respiratory diseases and in subjects with CA (Current Asthma, n=147), PA (Past Asthma, n=76), CB (Chronic Bronchitis, n=145) and NAR (Non Allergic Rhinitis, n=127) in the GEIRD study.

	Controls			CA			PA			CB			AR			NAR			P
	Median	p25;p75		Median	p25;p75		Median	p25;p75		Median	p25;p75		Median	p25;p75		Median	p25;p75		
Total fat	72.4	56.4;94.0	71.3	57.0;89.7	80.3	59.0;107.6	77.9	56.6;106.2	77.0	60.3;95.9	74.9	59.2;91.7	0.1270						
Animal fat	39.9	26.9;53.2	38.2	28.8;51.7	42.5	29.6;57.9	44.9	27.6;65.1	42.2	30.0;55.4	40.4	30.7;49.6	0.4033						
Vegetable fat	33.4	22.4;42.2	32.1	20.9;39.0	35.9	26.3;47.2	33.8	25.8;43.5	32.2	24.6;41.9	31.8	24.5;43.8	0.1904						
Saturated fat	24.9	18.5;32.7	23.8	18.8;32.2	24.5	20.5;38.1	28.3	17.7;38.8	27.3	19.5;33.7	25.5	19.4;32.0	0.2626						
Monounsaturated fat	35.3	27.1;44.5	35.1	25.7;41.7	36.9	29.3;50.7	36.3	28.4;48.3	36.6	28.7;45.1	35.2	27.5;45.0	0.1160						
Polyunsaturated fat	8.1	6.5;10.6	8.0	6.2;10.3	9.2	6.9;11.5	9.3	6.9;12.4	8.2	6.7;10.1	8.6	6.6;10.7	0.0988						
Oleic acid	33.4	25.3;42.0	32.9	23.8;38.9	35.3	27.5;48.5	34.0	26.8;44.6	34.1	26.7;41.6	35.3	27.5;48.5	0.1260						
Olive oil	21.1	14.0;29.3	19.7	12.7;27.2	22.4	18.4;34.2	21.7	15.9;28.0	21.2	14.8;30.1	20.4	14.6;31.1	0.1096						
Butter	0.3	0.1;0.9	0.4	0.1;1.1	0.3	0.1;0.4	0.3	0.1;0.7	0.4	0.1;1.4	0.3	0.1;0.7	0.3208						

## DISCUSSIONE

Nel contesto della coorte di popolazione oggetto dell'indagine GEIRD, l'obiettivo di questa analisi è stato valutare il rapporto che intercorre tra l'assunzione di acidi grassi con la dieta (e delle loro possibili fonti alimentari) e le malattie respiratorie (asma, bronchite, rinite).

Il presente studio dimostra per la prima volta una associazione negativa tra il rischio di un soggetto di essere affetto da asma bronchiale attiva (come descritto in precedenza) e l'introito alimentare di acidi grassi monoinsaturi (MUFA), in particolare, l'acido oleico, con un trend inter-quartile statisticamente significativo. Analogo riscontro si ottiene analizzando il dato relativo ai grassi di origine vegetale (in questo caso, però, il trend inter-quartile è ai limiti della significatività). Da sottolineare come l'introito totale di grassi sia, nel nostro studio, associato negativamente e significativamente alla presenza di asma, considerando l'intera popolazione in esame. La significatività statistica si perde analizzando il dato per quartili di assunzione di grassi totali; sebbene anche il trend inter-quartile non sia significativo, è possibile vedere una progressiva diminuzione del rischio d'asma all'aumentare dell'introito alimentare di grassi totali.

Inoltre, sempre considerando il gruppo di soggetti affetti da asma attiva, si riscontra una associazione negativa e statisticamente significativa tra presenza di malattia e consumo di olio d'oliva: anche questo dato viene qui descritto per la prima volta.

Nel nostro studio si evidenzia anche una associazione positiva statisticamente significativa tra consumo di acidi grassi di origine animale e la probabilità di essere un caso di rinite allergica. Tale associazione, però, si manifesta in modo chiaro solo nel primo quartile di assunzione di grassi animali, dato che necessita di ulteriori approfondimenti per una più valida interpretazione. Analogamente, nei soggetti con rinite allergica si evidenzia una associazione positiva con il consumo totale di grassi: il dato raggiunge la significatività solo nel secondo quartile dei soggetti.

### **Acidi grassi mono-insaturi, olio d'oliva e asma**

Il risultato che l'assunzione con la dieta di acido oleico e di acidi grassi monoinsaturi sia protettivo nei confronti dell'asma bronchiale è in contrasto con quanto dimostrato da Nagel e Linseisen<sup>55</sup>, i quali nello studio pubblicato nel 2005 hanno dimostrato come un elevato introito alimentare di acido oleico si associasse positivamente al rischio di sviluppare asma in età adulta. Lo studio citato è di tipo prospettico ed è teso ad indagare l'associazione tra gli acidi grassi, gli antiossidanti e i principali alimenti possibili fonti di questi nutrienti e lo sviluppo di asma nell'adulto. Ai soggetti esaminati è stato sottoposto il FFQ EPIC, come avvenuto nel nostro studio.

Analogamente, Heinrich in uno studio ecologico del 2002<sup>56</sup> ha riscontrato che l'introito alimentare di MUFA si associava positivamente alla prevalenza di atopia, una volta che l'analisi statistica fosse stata aggiustata per apporto calorico totale.

In controtendenza, in uno studio su una coorte di oltre 1000 adolescenti di Taiwan<sup>57</sup>, l'introito di MUFA era inversamente correlato alla prevalenza dell'asma. Tuttavia, la quantità di MUFA presente nella dieta di questi soggetti era molto ridotta.

I dati di letteratura sono comunque spesso discordi e le evidenze a volte conflittuali. Ad esempio, nello studio spagnolo di Rodriguez-Rodriguez<sup>58</sup> non si evidenzia nessuna associazione tra consumo di acido oleico e asma. Questo studio valuta sempre la relazione tra acidi grassi e asma, ma in un gruppo di 638 bambini di età compresa tra gli 8 e i 13 anni.

L'altro elemento di novità del presente studio è l'associazione negativa e statisticamente significativa registrata tra il consumo di olio d'oliva e l'asma. Numerosi studi in letteratura sono stati rivolti alla descrizione della relazione tra dieta e asma, ma i dati relativi in modo specifico all'olio d'oliva sono molto scarsi.

Un recente trial randomizzato danese<sup>59</sup>, su una popolazione di donne gravide al terzo trimestre, ha dimostrato che un aumentato introito di acidi grassi  $\omega$ -3 provenienti da supplementi dietetici di olio di pesce può conferire una protezione

verso l'asma nel nascituro (dati valutati fino al sedicesimo anno di età). Pur essendo l'obiettivo di questo studio molto diverso rispetto al nostro, è interessante sottolineare come nel braccio di controllo, il placebo fosse costituito da capsule contenenti olio d'oliva (totale di 4g/die). Il presupposto fondamentale spiegato dagli autori è che l'olio d'oliva sia inerte in rapporto agli endpoint previsti (in particolare, che l'olio d'oliva non sia un fattore di rischio per l'asma). Viene quindi spiegato come nei paesi mediterranei, dove il consumo di olio d'oliva è molto maggiore rispetto a quanto somministrato nello studio, la prevalenza di asma non sia maggiore rispetto ad altre nazioni. Inoltre, viene sottolineato come le sostanze contenute nell'olio d'oliva (essenzialmente acido oleico e, in minor concentrazione, acido linoleico) non siano acidi grassi essenziali, ma sostanze endogene, cioè che possono essere prodotte dal corpo umano. Tuttavia, non viene ipotizzato un possibile ruolo benefico dell'olio d'oliva nei confronti dell'asma. Inoltre, l'outcome considerato è l'insorgenza di nuovi casi di asma (allergico e non).

In uno studio trasversale retrospettivo dell'Università di Santiago del Cile<sup>60</sup> è stato dimostrato che l'olio d'oliva se utilizzato come principale fonte oleosa per cucinare e condire i cibi durante la gravidanza, si associa a una minor presenza di sintomi asmatici (essenzialmente fischi) nel bambino, durante il suo primo anno di vita. Gli autori di questo studio hanno predisposto uno score teso a valutare il grado di "mediterraneità" della dieta seguita dalla madre, attribuendo punteggi ai singoli alimenti tanto più alti quanto più questi fossero in linea con i parametri della dieta mediterranea (ad esempio, frutta, pesce, verdure, legumi, cereali, pasta, riso, patate, mentre carne, latte, e prodotti lavorati sono considerati "anti" mediterranei). Da segnalare che lo score ottenuto era simile nelle madri che usavano olio d'oliva e in quelle che non lo usavano, stando ciò a significare che, al di là di un potenziale effetto benefico della dieta mediterranea sull'asma, l'olio d'oliva aveva un valore protettivo indipendente.

Entrando brevemente nello specifico dell'olio d'oliva, sono numerosi i potenziali meccanismi con cui questo prezioso alimento può estrinsecare i suoi effetti benefici. I componenti principali dell'olio d'oliva includono l'acido oleico,

derivati fenolici (idrossitirosolo, tirosolo, oleuropeina e ligstroside) e squalene: tutte queste sostanze hanno una potente attività antiossidante.

Se povera è la letteratura relativa al ruolo dell'olio nelle malattie respiratorie, altrettanto non si può dire per quanto riguarda altri settori della medicina. Una recente revisione di Rigacci e Stefani<sup>61</sup> riporta i risultati di evidenze in vivo e in vitro sugli effetti dell'olio d'oliva e dei suoi componenti riguardo le malattie legate all'invecchiamento (malattie dell'apparato cardiovascolare, tumori, malattie neurodegenerative, patologie metaboliche). I principali elementi attivi in senso protettivo verso questi disordini sono i polifenoli, un gruppo molto numeroso di sostanze contenute nelle piante e caratterizzate dalla presenza di uno o più anelli aromatici con uno o più gruppi idrossili. L'olivo produce i suoi propri polifenoli che includono alcoli fenolici, tirosolo e i loro precursori tra cui l'oleuropeina (responsabile del gusto tendente all'amaro dei derivati dell'olivo, in particolare dalla lavorazione delle foglie) la quale può legarsi alla oleaceina o all'oleocantale, la molecola responsabile della sensazione pungente e quasi urente che l'olio provoca nel retrofaringe. Le proprietà dei polifenoli di interesse includono attività anti-aterogena, anti-epatotossica, ipoglicemizzante, anti-infiammatorie, antitumorale, immunomodulatoria e antivirale. L'attività antiossidante dei polifenoli spiega solo in parte questi effetti.

Uno dei meccanismi invocati per spiegare l'azione dei polifenoli è che queste sostanze abbiano un meccanismo simile a quello della restrizione calorica (CR)<sup>62</sup> nel rallentare il processo di invecchiamento. La CR prolunga l'aspettativa di vita riducendo il rischio di patologie età correlate ed è uno dei più potenti meccanismi in questo senso che si è ampiamente conservato tra le specie nel corso dell'evoluzione. Analogamente alla CR, i polifenoli dell'olio d'oliva modulano direttamente l'asse insulina-IGF1-mTOR con un effetto finale molto complesso pro-longevità e antiinfiammatorio. I polifenoli possono anche controllare lo stato di fosforilazione di molecole di segnale come PI3K, Akt, eNOS, AMPK e STAT3, molecole che sono implicate nel meccanismo di preconditionamento ischemico e nella promozione dell'autofagia. Inoltre, i polifenoli sembrerebbero attivare la via biologica delle sirtuine dando origine a una attivazione a cascata di numerosi fattori di trascrizione coinvolti nel controllo di apoptosi, autofagia, proliferazione

cellulare, stress ossidativo, infiammazione, metabolismo lipidico e proteico. Nell'uomo non è stata ancora definitivamente dimostrata l'attività della via di segnale delle sirtuine nell'incremento della longevità.

Riguardo le malattie cardiovascolari, vari esperimenti hanno mostrato l'attività antiaterogena dell'olio d'oliva sia in vitro sia nel modello animale, con un'azione diretta sul trasporto del colesterolo, amplificando l'espressione genica di geni correlati all'azione del C-HDL nell'uomo. Nel modello animale inoltre, è stata dimostrata una riduzione dei valori di colesterolo totale e frazionato e di trigliceridi dopo somministrazione di oleuropeina.

Esistono poi alcuni trial clinici e studi epidemiologici condotti su diverse coorti tesi a valutare l'effetto dell'olio di oliva sull'uomo. Nel "Three city study"<sup>63</sup>, che ha arruolato circa 7000 anziani è stato dimostrato come il consumo di olio d'oliva si associasse a una ridotta probabilità di deficit cognitivo; inoltre nella stessa coorte è stata osservata una minore incidenza di ictus. Lo studio spagnolo PREDIMED<sup>64</sup>, teso a valutare l'impatto della dieta mediterranea in una popolazione ad elevato rischio cardiovascolare suggerisce, in alcune delle analisi secondarie, che l'uso dell'olio d'oliva migliori significativamente lo stato cognitivo e riduca il rischio cardiovascolare globale e la mortalità. È stato inoltre dimostrata una riduzione dei livelli di trigliceridi e glucosio nel sangue con un aumento dell'ossido nitrico a sua volta correlato a una diminuzione significativa della pressione arteriosa. I polifenoli provenivano sia dall'olio d'oliva, sia da frutta a guscio, in due gruppi distinti.

Recentemente presso l'Università di Cordoba in Spagna è stato proposto uno studio prospettico (CORDIOPREV)<sup>65</sup> con l'obiettivo di confrontare la capacità della dieta mediterranea ricca in olio di oliva rispetto a una dieta povera di grassi di influenzare un indice composito formato da diversi eventi cardiovascolari con un follow up di sette anni, in soggetti ad alto rischio (quindi in prevenzione secondaria). Lo studio è ancora in corso, essendo finita da poco la fase di reclutamento che ha coinvolto oltre mille soggetti, l'obiettivo è quello di colmare il gap attualmente esistente sul ruolo che la dieta possa avere nel prevenire la progressione di malattia oltre che nella sua prevenzione.

### **Acidi grassi *trans*, margarina e asma**

Nagel e Linseisen, nella coorte di Heidelberg<sup>55</sup>, hanno osservato che un elevato consumo di margarina è associato a un aumento del rischio di manifestazioni cliniche dell'asma. Tale considerazione segue al dato di associazione positiva tra acido oleico e asma riscontrato nel medesimo studio. Gli autori hanno analizzato diversi alimenti possibili fonti di acido oleico (che, nell'ambito di una dieta normale per popolazioni tedesche, sono prevalentemente carne e prodotti derivati, burro, latte e derivati, formaggio) senza però trovare alcuna associazione. Pertanto viene ipotizzato che il MUFA analizzato sia la variante *trans* (C18:1 t9) che si trova con abbondanza nella margarina. Tale ipotesi peraltro si sposa bene ad altre evidenze che associano i disturbi allergici all'introito di acidi grassi *trans*. L'ipotesi conclusiva che viene formulata è che l'acido oleico possa essere un indicatore della variante *trans* dell'acido grasso monoinsaturo con catena a 18 atomi di carbonio.

Anche per la margarina, comunque, la letteratura non è concorde. In uno studio trasversale condotto su un campione di 2348 bambini tra i 5 e i 14 anni, dell'Istituto di Epidemiologia di Neuherberg<sup>66</sup>, gli autori si pongono come obiettivo di stabilire se il consumo di margarina sia o meno associato alla sensibilizzazione allergica e patologie ad essa correlate, trovando una associazione positiva. I risultati sono significativi solo per i maschi. Gli autori concludono dicendo che la differenza di genere nell'associazione tra uso di margarina e sensibilizzazione allergica è in accordo con la più alta concentrazione di IgE e la più alta prevalenza di atopia che si riscontrano normalmente nei bambini rispetto alle bambine e che l'aumentato consumo di determinati PUFA potrebbe ulteriormente stimolare la produzione di IgE nei maschi. In un altro recente studio su popolazioni pediatriche dell'area del Pacifico, si dimostra come il consumo abituale di margarina sia associato ad una aumentata probabilità di avere sintomi asmatici. D'altra parte però, nel già citato studio sulla coorte di bambini spagnoli, Rodriguez-Rodriguez non trova nessuna associazione tra uso di margarina e asma.

Relativamente al nostro studio, il consumo di margarina procapite è stato troppo basso per essere meritevole di una analisi specifica.

I motivi di così ampie discrepanze riscontrabili in diversi studi sono molteplici. In primo luogo, parlando di abitudini alimentari, è di primaria importanza l'identificazione della popolazione da studiare, essendo le differenze geografiche, socio-economiche e storico-culturali alla base anche di differenze nelle abitudini alimentari. Relativamente allo studio di Nagel e Linseisen, quello che ha più elementi in comune con il nostro, la differenza nell'alimentazione quotidiana di una popolazione tedesca, rispetto a quella italiana non può essere trascurata come elemento fondamentale nell'analisi e interpretazione dei risultati ottenuti. Infatti, è ragionevole ritenere che l'acido oleico derivi prevalentemente (se non esclusivamente) dall'olio d'oliva nel nostro studio, a differenza di quanto visto dagli autori tedeschi, in cui la fonte principale di MUFA è la margarina.

La considerazione che si può trarre è che grande attenzione vada posta non solo al singolo nutriente, ma all'alimento che è fonte dello stesso. In altre parole, la qualità del cibo, dell'alimento non si esaurisce in una somma di nutrienti che, a loro volta, più che responsabili di un certo effetto possono essere visti come indicatori dell'assunzione di un particolare alimento.

### **Acidi grassi poli-insaturi, alimenti derivati dalla pesca e asma**

Uno dei possibili meccanismi con cui diverse diete si associano o meno al rischio di asma è legato agli acidi grassi e ai lipidi<sup>8,67</sup>. Numerosi studi hanno studiato questa relazione, con risultati spesso contrastanti. Alcuni autori hanno riportato l'associazione tra l'aumento del rischio di asma e malattie atopiche e l'aumento dell'apporto di acidi grassi  $\omega$ -6 polinsaturi e una parallela riduzione dell'apporto degli acidi  $\omega$ -3. Una possibile spiegazione di questi risultati può essere legata al processo infiammatorio, in cui sono coinvolti gli acidi grassi stessi. Gli acidi grassi  $\omega$ -6 (specialmente l'acido linoleico) e gli oli vegetali possono essere metabolizzati ad acido arachidonico, precursore delle prostaglandine e dei leucotrieni. Al contrario, il metabolismo di acidi  $\omega$ -3 come l'acido eicosapentanoico e l'acido docosaesanoico, riduce la produzione di questi mediatori infiammatori. Questa dicotomia tra  $\omega$ -3 ed  $\omega$ -6 è generalmente vera, ma è una visione semplicistica dell'infiammazione, dal momento che è stato

dimostrato che un mediatore che si comporti come pro infiammatorio in un tessuto o in una malattia, possa essere invece anti infiammatorio in altre condizioni, come ad esempio la prostaglandina PG(E)<sub>2</sub><sup>68</sup>.

I principali mediatori flogogeni dell'acido arachidonico nell'asma sono le prostaglandine e i cistenil-leucotrieni, derivati dal metabolismo degli acidi grassi  $\omega$ -6. Per questo una delle ipotesi che cerca di spiegare l'incremento della prevalenza di asma registrato nelle ultime decadi del secolo scorso è quella dietetica<sup>8</sup>: nei paesi occidentali, il graduale passaggio a una dieta più ricca di acidi  $\omega$ -6 e povera di  $\omega$ -3 potrebbe essere una delle cause del riscontro epidemiologico. Tale ipotesi è corroborata da numerose evidenze osservative: ad esempio le popolazioni eschimesi, che consumano molto pesce e quindi molti PUFA  $\omega$ -3 hanno una bassa prevalenza di asma<sup>69</sup>. L'ipotesi è biologicamente plausibile, visto l'effetto meno proinfiammatorio e potenzialmente anti infiammatorio dei derivati degli acidi  $\omega$ -3, ma i risultati di studi osservazionali non sono concordi. Alcuni studi infatti hanno evidenziato come basse concentrazioni di  $\omega$ -3 o una riduzione del rapporto  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 sia protettivo nei confronti dell'asma<sup>9,10</sup>. Certamente è difficile paragonare tra loro studi che hanno disegni e metodologie di raccolta dati e di intervento spesso molto diversi tra loro. Un commento analogo può essere fatto riguardo trial randomizzati controllati di intervento (diverse metodologie, diverse combinazioni di acidi  $\omega$ -3 utilizzati). Una recente revisione Cochrane di 9 RCT non ha dimostrato nessun miglioramento negli obiettivi clinici prefissati, tanto che gli autori concludono per l'impossibilità di raccomandare l'uso di acidi grassi  $\omega$ -3 nell'ambito di un trattamento combinato dell'asma<sup>70</sup>.

Nel nostro studio, in accordo con numerose evidenze della letteratura, non si riscontra nessuna associazione tra asma e introito alimentare di PUFA.

### **Acidi grassi saturi, burro e asma**

Anche riguardo gli acidi grassi saturi, dai dati elaborati nel presente studio non è possibile descrivere nessuna associazione tra consumo alimentare e asma. Gli studi dedicati agli acidi grassi saturi e alla loro relazione con l'asma sono pochi, ma la maggior parte ha dimostrato un'associazione positiva<sup>71</sup>. In particolare, l'introito di quantità di acidi grassi saturi maggiore rispetto alle razioni

abituamente consigliate si associa ad un aumentato rischio d'asma. Nello studio di Rodriguez-Rodriguez<sup>58</sup> sulla coorte di bambini spagnoli, l'apporto energetico dato dagli acidi grassi saturi è maggiore rispetto a quanto raccomandato e si associa all'asma corrente. Una ipotesi meccanicistica mette in relazione gli acidi grassi saturi a una attivazione diretta del toll-like receptor 4, che attiva la cascata infiammatoria mediata da NFkB; inoltre l'attivazione della proteina chinasi C e di altre proteine chinasi, indotta dagli acidi grassi saturi, induce l'espressione di geni proinfiammatori in cellule del sistema immunitario<sup>72</sup>. L'autore spagnolo osserva come nella sua popolazione siano gli acidi grassi palmitico e miristico ad associarsi all'asma corrente, acidi che si trovano in grande quantità nel burro (alimento che mostra una analoga associazione). Tuttavia anche questo riscontro non è unanime nella letteratura: in una coorte di ragazzi svedesi<sup>16</sup>, il burro è infatti un fattore protettivo per l'asma, con l'ipotesi, non dimostrata, che l'aumentato introito di acidi grassi saturi si associ a un ridotto apporto di  $\omega$ -6 PUFA, impedendo quindi lo sviluppo di asma.

Nel nostro studio, il consumo di burro, molto basso in valore assoluto, non si associa all'asma.

### **Pattern dietetici e asma**

Cercando di ampliare ulteriormente l'orizzonte e facendo un ulteriore passo che dal particolare vada verso il generale, se dal singolo nutriente siamo passati all'alimento, analogamente si può speculare sul ruolo di una dieta completa nello sviluppo delle malattie respiratorie. Il guardare alla dieta nel suo insieme può aiutare a comprendere possibili effetti sinergici tra i sistemi biologico-molecolari che connettono tra loro oligoelementi, nutrienti ed alimenti. L'olio d'oliva è un elemento molto importante della dieta mediterranea, per lo meno per quanto riguarda la popolazione italiana. La letteratura riguardante l'associazione tra dieta mediterranea e asma è ricca, ma non sempre concorde<sup>74,75</sup>. Un recente studio di Barros<sup>76</sup> all'Università di Porto analizza il ruolo di diversi pattern dietetici nei confronti dell'asma, mostrando un'associazione protettiva tra alcuni componenti essenziali della dieta mediterranea (pattern "pesce, frutta e verdura") e la prevalenza dell'asma; all'opposto una dieta ricca di grassi, zuccheri e sale,

caratterizzata da un elevato rapporto calorie/nutrienti si associa alla prevalenza e alla gravità dei sintomi di asma, indipendentemente da altri fattori sociali e stili di vita. Lo studio, con un disegno di tipo trasversale e condotto su una popolazione portoghese, ha coinvolto oltre 32000 soggetti. Gli effetti benefici del pattern “salutare” sono indipendenti dall’esercizio fisico. Gli autori concludono affermando il razionale per futuri studi di intervento sullo stile di vita nei soggetti asmatici basati su pattern dietetici che includano frutta, verdura e pesce, riducendo contemporaneamente l’apporto di zuccheri, sale e cibi particolarmente grassi.

Uno studio giapponese<sup>77</sup>, che ha coinvolto studentesse universitarie, ha analogamente mostrato una riduzione del rischio di asma associato a un pattern dietetico caratterizzato dalla presenza di “pesce, frutta e latte”.

Una recente metanalisi di Lv<sup>78</sup> ha cercato di focalizzare la relazione tra pattern dietetici e asma nell’adulto e nel bambino. Riguardo la popolazione adulta, sono stati selezionati dodici studi (quattro trasversali, uno caso-controllo, un RCT e sei studi di coorte) sparsi tra Europa, Australia, USA e Asia. Gli indicatori dell’asma, variabili tra i vari studi, sono sia i sintomi, sia i dati strumentali oltre alla valutazione soggettiva qualità di vita. Considerate queste differenze, sei studi su dodici riportano una associazione significativa tra alcuni pattern dietetici e l’asma. I pattern dietetici potenzialmente benefici (tenuto conto dei diversi modi di valutare l’asma e il suo controllo nei vari studi) includono un pattern “prudente” (frutta, verdura, olio di pesce, cereali integrali), formaggio-pane integrale, noci e vino e la dieta mediterranea. Allo stesso modo, pattern dietetici potenzialmente nocivi includono carne e formaggio, pattern cinese tradizionale (riso e verdure fresche), la dieta tradizionale olandese (carne e patate) e la Western diet (pizza, torte salate, dolci e carni lavorate). Da segnalare in particolare un RCT neozelandese<sup>79</sup> su 38 adulti con asma sintomatica: la dieta mediterranea proposta non ha mostrato nessun effetto su sintomi, funzione polmonare, qualità di vita, marcatori infiammatori. In conclusione, la metanalisi effettuata non ha evidenziato alcuna associazione tra l’asma e nessun tipo di pattern dietetico. Gli autori comunque affermano che ancora pochi sono gli studi basati sulla popolazione tesi ad investigare l’associazione tra asma e pattern dietetici e come sia necessario predisporre studi prospettici.

Infatti, accanto a questi risultati negativi, ci sono anche evidenze incoraggianti sulla relazione tra dieta mediterranea e asma sia nei bambini, sia negli adulti.

Una recente metanalisi di Garcia-Marcos<sup>80</sup> sull'influenza della dieta mediterranea sull'asma nei bambini ha dimostrato che l'aderenza alla dieta mediterranea durante l'età pediatrica è un fattore protettivo verso il sintomo "fischio", ma non per l'asma grave. Tuttavia, viene anche segnalato un possibile effetto legato all'area geografica di origine, essendo i soggetti provenienti da località mediterranee più protetti dalla dieta in ogni condizione di asma, anche le forme gravi. Essendo gli studi analizzati di tipo trasversale, non si può trarre alcuna conclusione sulla possibile relazione causale tra dieta mediterranea e asma.

Sempre riguardo la popolazione pediatrica, de Batlle<sup>30</sup> ha dimostrato un effetto protettivo della dieta mediterranea in una coorte di bambini messicani (non è stato però valutato il ruolo specifico dell'olio d'oliva).

Un recente trial randomizzato (studio pilota) di Ma ha valutato l'effetto della DASH diet (Dietary approach to Stop Hypertension) sull'asma in 90 soggetti adulti<sup>81,82</sup>. La dieta DASH è simile alla dieta mediterranea ed è caratterizzata da un elevato introito di frutta, verdura, prodotti caseari a basso contenuto di grassi, cereali integrali, noci, semi, legumi, basso apporto di zuccheri, grassi saturi, sale, alcol. Viene raccomandata dal Dipartimento dell'Agricoltura statunitense per la prevenzione e il trattamento dell'ipertensione arteriosa. I soggetti che hanno seguito questo regime dietetico per sei mesi hanno avuto un significativo miglioramento del controllo della malattia e della qualità di vita.

In precedenza, un trial randomizzato di Wood<sup>83</sup> aveva valutato l'impatto di una dieta ad alto contenuto antiossidante (5 porzioni di verdura e 2 di frutta al giorno) sull'asma, ottenendo come risultato che una dieta altamente ricca di antiossidanti porta a un miglioramento del FEV<sub>1</sub> e della FVC, a una riduzione del rischio di esacerbazioni insieme a una ridotta infiammazione sistemica rispetto a una dieta meno ricca di antiossidanti. Per il particolare disegno dello studio (crossover, in una seconda fase veniva aggiunto a un gruppo randomizzato un integratore antiossidante, il licopene estratto dal pomodoro) l'autore può concludere che l'integratore non è superiore al placebo nell'effetto antiinfiammatorio. È questa la prima evidenza diretta che un approccio basato su una dieta complessiva ricca di

frutta e verdura può essere più utile rispetto ad una supplementazione con un agente antiossidante nel controllo dell'asma.

### **Acidi grassi e rinite**

I dati analizzati nel nostro studio evidenziano una significativa associazione tra un moderato consumo di acidi grassi di origine animale e di grassi totali con la rinite allergica. La significatività viene raggiunta solo nel primo e secondo quartile di intake rispettivamente. Tale caratteristica non è di immediata e facile comprensione, essendo nuovi studi e approfondimenti necessari per meglio chiarire il rapporto tra gli acidi grassi e la rinite. Meritevole di attenzione è il diverso comportamento degli acidi grassi rispetto alle forme allergica e non allergica della rinite (nessuna significatività per la NAR): senza poter trarre conclusioni definitive, è possibile quantomeno speculare su una diversa azione immunomodulatoria degli acidi grassi in soggetti che abbiano una disregolazione immunitaria, come nel caso dell'atopia/allergia, rispetto a una popolazione che manifesti gli stessi sintomi rinitici ma non causati dall'allergia. La letteratura dedicata ai rapporti tra acidi grassi e rinite allergica non è molto ampia; la maggior parte degli studi è rivolta all'analisi dell'interazione tra alimentazione e allergia (soprattutto in popolazioni pediatriche) mentre l'asma e i suoi sintomi sono le manifestazioni cliniche respiratorie più frequentemente considerate. Una recente revisione di Saadeh<sup>84</sup> ha raccolto studi e trial clinici riguardanti i rapporti tra dieta e disturbi allergici in popolazioni di età compresa tra zero e diciotto anni, concludendo come le evidenze raccolte siano spesso contraddittorie e talvolta di scarso significato clinico; la metodologia dei diversi studi è molto variegata, rendendo difficile un adeguato confronto; gli autori comunque concludono dicendo che una dieta ricca di antiossidanti e di acidi grassi  $\omega$ -3 adottata sia dalla madre durante la gravidanza, sia dai bambini nei primi anni di vita possa ridurre la prevalenza e l'incidenza di malattie allergiche tra cui la rinite anche in soggetti geneticamente predisposti. Analizzando nello specifico il ruolo dei grassi, lo studio di Miyake<sup>85</sup> condotto su una coorte di 23000 bambini giapponesi di età compresa tra i 6 e i 15 anni ha mostrato una associazione inversa tra l'apporto dietetico di acidi  $\omega$ -6 (in particolare l'acido arachidonico) e la rino-congiuntivite.

Lo stesso autore, in un precedente studio aveva osservato in una popolazione di donne gravide che il consumo di acido eicosapentanoico e docosaesanoico ( $\omega$ -3 PUFA) era associato a una riduzione della prevalenza di rinite allergica. In altri studi, le popolazioni oggetto di osservazione presentano anche sintomi asmatici oltre a quelli della rinite: i risultati, come già riportato a proposito dell'asma, sono spesso discordi.

Asma e rinite allergica sono due condizioni che molto frequentemente si trovano associate in uno stesso soggetto: è ben documentato un andamento parallelo nella prevalenza delle due condizioni morbose, essendo la rinite allergica presente in una percentuale variabile tra l'ottanta e il cento per cento dei soggetti asmatici<sup>86</sup>, a seconda della popolazione studiata. La rinite allergica, inoltre, riveste verosimilmente anche un ruolo patogenetico per lo sviluppo dell'asma<sup>87</sup>. Nel nostro studio è evidente e chiara una differente risposta all'assunzione di acidi grassi in soggetti che sono affetti solo da una delle due patologie (considerato il modello gerarchico utilizzato nel reclutamento dei soggetti). In base a tale riscontro, si possono quindi ipotizzare differenti meccanismi alla base delle due malattie: grassi e acidi grassi con diverse origine (animali/vegetali) e proprietà strutturali e biochimiche (saturi/monoinsaturi) hanno un ruolo proprio nella modulazione della flogosi e della risposta immunitaria<sup>88</sup>.

Nel nostro studio, a differenza di quanto riscontrato per asma e rinite allergica, non si evidenzia nessuna associazione significativa tra consumo di grassi, acidi grassi, olio d'oliva e il rischio di essere affetto da bronchite cronica.

### **Limiti delle indagini nutrizionali**

Gli studi tesi ad indagare i rapporti tra nutrizione e il rischio di malattia devono ineludibilmente confrontarsi con alcune potenziali limitazioni: la corretta valutazione dell'introito alimentare e la definizione dei casi di malattia. Il Food Frequency Questionnaire da noi usato è ampiamente utilizzato in letteratura e validato. La principale limitazione di questo approccio all'indagine dietetica è la necessità di validazione per una particolare popolazione, in modo da assicurare

che i principali alimenti di quella specifica dieta siano realmente inclusi nello studio. D'altra parte, questo è il metodo più utilizzato perchè applicabile a vasti coorti e perchè capace di raccogliere informazioni su molti alimenti e nutrienti. Permette di valutare la dieta nel medio-lungo termine, è relativamente facile da somministrare e compilare e permette eventuali rivalutazioni in modo da considerare i cambiamenti di una dieta nel tempo. Per quanto riguarda la definizione dei casi di malattia, le definizioni proposte in questo studio sono precise e rigorose. L'approccio gerarchico offre poi una reale considerazione della singola patologia, considerato il frequente sovrapporsi clinico delle condizioni considerate. Probabilmente, la popolazione di soggetti con asma del passato è quella più difficile da definire, essendo i criteri definenti essenzialmente di esclusione e relativi alla vita passata del soggetto. Inoltre, se il disegno dello studio (caso-controllo) non permette di trarre conclusioni su un eventuale rapporto di causalità tra i fattori considerati, bisogna sottolineare che i soggetti sono stati arruolati dalla popolazione generale, limitando così quanto più possibile ogni bias di selezione.

Da un punto di vista di analisi statistica, numerosi sono i possibili fattori confondenti, soprattutto quando le considerazioni siano fatte su uno studio nutrizionale. Infatti, l'interazione tra cibi, il loro potenziale effetto biologico sinergico, l'introito del singolo alimento e il rapporto rispetto agli altri, sono elementi che possono incidere notevolmente sul risultato finale. L'analisi statistica eseguita nel nostro studio ha tenuto conto di molti fattori di aggiustamento nelle operazioni di regressione, cercando di ridurre al minimo il peso dei numerosi possibili confondenti.

## CONCLUSIONI

1. Il nostro studio dimostra che l'assunzione di olio d'oliva e di acido oleico, riduce il rischio di asma attiva.

I dati della presente analisi sono pertanto in contrasto con studi precedenti che hanno dimostrato una associazione positiva tra introito di MUFA, acido oleico e asma. Questa discrepanza può essere legata alla diversa fonte di MUFA in differenti regimi alimentari, olio d'oliva nella nostra dieta e margarina in quella occidentale.

2. La rinite allergica si associa positivamente ad un consumo moderato di grassi animali e di grassi totali, mentre la rinite non allergica e la bronchite cronica non mostrano una chiara associazione con nessuno dei nutrienti considerati. Tali dati non sono di immediata e facile comprensione; ulteriori studi sono necessari per meglio approfondire il ruolo di queste associazioni.
3. I nostri risultati nel loro insieme suggeriscono un rapporto tra alimentazione e malattie dell'apparato respiratorio, associazione che sembra legata non solo alla qualità della dieta ma anche al tipo di malattia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Cazzoletti L, Zanolin ME, Spelta F, Bono R, Chamitava L, Cerveri I et al. Dietary fats, olive oil and respiratory diseases in Italian adults: a population-based study. *Clin Exp Allergy*, 2019, 49(6):799-807.
2. Bousquet J and Khaltaev N (editors). *Global surveillance, prevention and control of Chronic Respiratory Diseases - A comprehensive approach*. WHO. 2007.
3. Burney P, Jarvis D and Perez-Padilla R. The global burden of chronic respiratory disease in adults. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015, 19:10-20.
4. Holgate ST. Pathogenesis of Asthma. *Clinical and experimental Allergy*. 2008, 338:872-97.
5. Romieu I and Trenga C. Diet and Obstructive Lung Diseases. *Epidemiol Rev*. 2001, 23(2):268-87.
6. Schwartz J. Role of polyunsaturated fatty acids in lung disease. *Am J Clin Nutr* 2000, 71 (suppl): 393S-6S.
7. Leaf A, Weber PC. Cardiovascular effects of n3 fatty acids. *N Engl J Med* 1988, 318:549-57.
8. Black PN and Sharpe S. Dietary fat and asthma: is there a connection?. *Eur Resp J*. 1997, 10:6-12.
9. Barros R, Moreira A, Fonseca J, Delgado L, Graca Castel-Branco M, Haahtela T, et al. Dietary intake of  $\alpha$ -linolenic acid and low ratio of n-6:n-3 PUFA are associated with decreased exhaled NO and improved asthma control. *British Journal of Nutrition* 2011, 106:441-50.
10. Willemsen LEM. Dietary n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in allergy prevention and asthma treatment. *European Journal of Pharmacology* 2016, 78:174-86.
11. Moreira A, Moreira P, Delgado L et al. Pilot study of the effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma. *J Investg Allergol* 2007, 17:309-13.

12. Pauwels EKJ. The protective effect of Mediterranean diet: focus on cancer and cardiovascular risk. *Med Princ Pract* 2011, 20:103-11.
13. Bermudez B, Lopez S, Ortega A et al. Oleic acid in olive oil: from metabolic framework toward a clinical perspective. *Curr Pharm Des* 2011, 17:831-43.
14. Agra LC, Lins MP, da Silva Marques P et al. Uvaol attenuates pleuritis and eosinophilic inflammation in ovalbumin-induced allergy in mice. *Eur J Pharmacol* 2016, 780:232-42.
15. Wood LG, Hazlewood LC, Foster PS, Hansbro PM. Lypirinol reduces inflammation and improves lung function in a mouse model of allergic airway disease. *Clin Exp Allergy* 2010, 40:1785-93.
16. Kim JL, Elfman L, Mi Y, Johansson M, Smedje G and Norback D (2005). Current asthma and respiratory symptoms among pupils in relation to dietary factors and allergens in the school environment. *Indoor Air*. 2005, 15:170–82.
17. Shore SA. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2008, 121:1087-93.
18. Asher MI, Montefort S, Bjorkstein B et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood : ISAAC Phases One and Three repeat multi country cross-sectional surveys. *Lancet*. 2006, 368:733-43.
19. Allan K and Devereux G. Diet and Asthma: Nutrition Implications from Prevention to Treatment. *Journal of the American Dietetic Association*. 2011, 111:258-68.
20. Han YY, Forno E, Holguin F and Celedon J. Diet and Asthma: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015, 15:369-74.
21. Arvaniti F, Priftis KN and Panagiotakos DB. Dietary habits and asthma: a review. *Allergy Asthma Proc*. 2010, 31:e1-e10.
22. Devereux G and Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005, 115:1109-17.

23. Schwarts J and Weiss ST. Relationship between dietary vitamin C intake and pulmonary function in the First National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 1). *Am J Clin Nutr.* 1994, 59:110-14.
24. Troisi RJ, Willett WC, Weiss ST, et al. A prospective study of diet and adult onset asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995, 151:1401-8.
25. Rubin RN, Navon L and Cassano PA. Relationship of serum antioxidants to asthma prevalence in youth. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004, 169:393-8.
26. Smit H, Grievink L and Tabak C. Dietary influence on chronic lung disease and asthma: a review of the epidemiological evidence. *Proceedings of the Nutrition Society.* 1999, 58:309-19.
27. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. *Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: 2018 Report.* Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. 2018, 1–142.
28. Maslova E, Strom M, Oken E, Campos H, Lange C, Gold D and Olsen SF. Fish intake during pregnancy and the risk of child asthma and allergic rhinitis – longitudinal evidence from the Danish National Birth Cohort. *Br J Nutr.* 2013, 110:1313-25.
29. Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Ohya Y, Miyamoto S et al. Fish and fat intake and prevalence of Allergic Rhinitis in Japanese Females: the Osaka Maternal and Child Health Study. *Journal of the American College of Nutrition.* 2007, 26:279-87.
30. de Battle J, Garcia-Aymerich J, Barraza-Villareal A, Anto JM and Romieu I. Mediterranean diet is associated with reduced asthma and rhinitis in Mexican children. *Allergy.* 2008,63, 1310-16.
31. Miyake Y, Tanaka K, Okubo H, Sasaki S and Arakawa M. Dietary meat and fat intake and prevalence of rhinoconjunctivitis in pregnant Japanese women: baseline data from the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study. *Nutrition Journal.* 2012, 11:19-26.

32. Rosenkranz RR, Rosenkranz SK and Neessen KJJ. Dietary factors associated with lifetime asthma or hayfever diagnosis in Australian middle-aged and older adults: a cross-sectional study. *Nutritional Journal* 2012, 11:84-93.
33. Magnusson J, Kull I, Rosenlund H, Hakansson N, Wolk A, Melen E et al. Fish consumption in infancy and development of allergic disease up to age 12y. *Am J Clin Nutr.* 2013, 97:1324-30.
34. Wood LG. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and chronic obstructive pulmonary diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2015, 18:1228-32.
35. Pizzini A, Lunger L, Sonnweber T, Weiss G, Tancevski I. The role of omega-3 fatty acids in the setting of coronary artery disease and COPD: a review. *Nutrients* 2018, 10:1864.
36. Scoditti E, Massaso M, Garbarino S, Toraldo DM. Role of diet in chronic obstructive pulmonary disease prevention and treatment. *Nutrients* 2019, 11:1357.
37. Yao H, Rahman I. Current concepts on oxidative/carbonyl stress, inflammation and epigenetics in pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011, 254:72-85.
38. Fulton A, Hill AM, Williams MT, Howe PR, Coates AM. Paucity of evidence for a relationship between long-chain omega-3 fatty acids intake and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Nutr Rev* 2015, 73:612-23.
39. Cornell K, Alam M, Lyden E, Wood L, LeVan TD, Nordgren TM, Bailey K, Hanson C. Saturated fat intake is associated with lung function in individuals with airflow obstruction: results from NHANES 2007-2012. *Nutrients* 2019, 11:317.
40. Efthmiou J, Mounsey PJ, Benson DN, Madgwick R, Coles SJ, Benson MK. Effect of carbohydrate rich versus fat rich loads on gas exchange and walking performance in patients with chronic obstructive lung disease. *Thorax* 1992, 47:451-6.
41. Kaluza J, Harris HR, Linden A, Wolk A. Long-term consumption of fruits and vegetables and risk of chronic obstructive pulmonary disease: a prospective cohort study of women. *International Journal of Epidemiology* 2018, 47:1897-909.

42. Meteran H, Thomsen SF, Miller MR, Hjelmberg J, Sigsgaard T, Backer V. Self-reported intake of fruit and vegetables and risk of chronic obstructive pulmonary diseases: a nation-wide twin study. *Respiratory Medicine* 2018, 144:16-21.
43. Butler LM, Koh WP, Lee HP, Yu MC, London SJ. Dietary fiber and reduced cough with phlegm – a cohort study in Singapore. *Am J Respir Crit Care Med* 2004, 170:279-87.
44. Butler LM, Koh WP, Lee HP, Tseng M, Yu MC, London SJ. Prospective study of dietary patterns and persistent cough with phlegm among Chinese Singaporeans. *Am J Respir Crit Care Med* 2006, 173:264-70.
45. de Marco R, Accordini S, Antonicelli L, Bellia V, Bettin MD, Bombieri C, Bonifazi F, Bugiani M, Carosso A, Casali L, Cazzoletti L, Cerveri I, Corsico AG, Ferrari M, Fois AG, Lo Cascio V, Marcon A, Marinoni A, Olivieri M, Perbellini L, Pignatti P, Pirina P, Poli A, Rolla G, Trabetti E, Verlato G, Villani S, Zanolin ME, GEIRD Study Group. The Gene-Environment Interactions in Respiratory Diseases (GEIRD) Project. *Int Arch Allergy Immunol* 2010, 152:255–63.
46. de Marco R, Cappa V, Accordini S, Rava M, Antonicelli L, Bortolami O, Braggion M, Bugiani M, Casali L, Cazzoletti L, Cerveri I, Fois AG, Girardi P, Locatelli F, Marcon A, Marinoni A, Panico MG, Pirina P, Villani S, Zanolin ME, Verlato G, GEIRD Study Group: Trends in the prevalence of asthma and allergic rhinitis in Italy between 1991 and 2010. *Eur Respir J* 2012, 39:883–92.
47. de Marco R, Poli A, Ferrari M, Accordini S, Giammanco G, Bugiani M, Villani S, Ponzio M, Bono R, Carrozzi L, Cavallini R, Cazzoletti L, Dallari R, Ginesu F, Lauriola P, Mandrioli P, Perfetti L, Pignato S, Pirina P, Struzzo P; ISAYA study group. Italian Study on Asthma in Young Adults. The impact of climate and traffic-related NO<sub>2</sub> on the prevalence of asthma and allergic rhinitis in Italy. *Clin. Exp. Allergy* 2002, 32(10):1405–12.
48. American Thoracic Society: Standardization of spirometry, 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 52:1107–36.

49. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, Enright PL, Hankinson JL, Ip MS, Zheng J, Stocks J; ERS Global Lung Function Initiative. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012, 40(6):1324-43.
50. Chinn S, Burney P, Jarvis D, Luczynska C: Variation in bronchial responsiveness in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *Eur Respir J* 1997, 10:2495– 501.
51. Pisani P, Faggiano F, Krogh V, Palli D, Vineis P, Berrino F. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the Italian EPIC centres. *Int J Epidemiol*. 1997, 26 Suppl 1:S152-60.
52. Salvini S, Parpinel M, Gnagnarella P, Maisonnneuve P, Turrini A (1998). Banca Dati di Composizione degli Alimenti per Studi Epidemiologici in Italia. Istituto Europeo di Oncologia: Milan, Italy.
53. Willett W, Stampfer MJ. Total energy intake, implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol*. 1986, 124:17–27.
54. Hu FB, Stampfer MJ, Rimm E, Ascherio A, Rosner BA, Spiegelman D, Willett WC. Dietary fat and coronary heart disease: a comparison of approaches for adjusting for total energy intake and modeling repeated dietary measurements. *Am J Epidemiol*. 1999, 149(6):531-40.
55. Nagel G, Linseisen J. Dietary intake of fatty acids, antioxidants and selected food groups and asthma in adults. *Eur J Clin Nutr*. 2005, 59:8-15.
56. Heinrich J, Hoelscher B, Bolte G and Winkler G. Allergic sensitization and diet: analysis in selected European cities. *Eur Resp J*. 2002, 17:395-402.
57. Huang SL and Pan WH. Dietary fats and asthma in teenagers: analyses of the first Nutrition and Health Survey in Taiwan (NAHSIT). *Clin Exp Allergy*. 2001, 31:1875–80.
58. Rodriguez-Rodriguez E, Perea JM, Jimenez A et al. Fat intake and asthma in Spanish schoolchildren. *Eur J Clin Nutr*. 2010, 64:1065-71.

59. Olsen SF, Osterdal ML, Slvig JD et al. Fish oil intake compared with olive oil intake in late pregnancy and asthma in the offspring: 16 y of registry-based follow up from a RCT. *Am J Clin Nutr.* 2008, 88:167-75.
60. Castro-Rodriguez JA, Garcia-Marcos L, Sanchez-Solis M et al. Olive Oil during pregnancy is associated with reduced wheezing during the first year of life of the offspring. *Pediatric Pulmonology.* 2010, 45:395-402.
61. Rigacci S and Stefani M. Nutraceutical properties of olive oil polyphenols. An itinerary from cultured cells through animal models to humans. *Int J Molecular Sci.* 2016, 17:843.
62. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending Healthy Life Span from yeasts to humans. *Science.* 2010, 328:321-6.
63. Berr C, Portet F, Carriere L et al. Olive oil and cognition: results from the three city study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009, 28: 357-64.
64. Martinez-Gonzalez MA, Salas Salvado J et al. PREDIMED investigators. Benefits of the Mediterranean diet: insights from the PREDIMED study. *Prog Cardiovasc Dis.* 2015, 58:50-60.
65. Delgado Lista J, Perez Martinez P, Garcia Rios A et al. CORonary Diet Intervention with Olive oil and cardiovascular PREvention study (the CORDIOPREV study): rationale, methods and baseline characteristics: A clinical trial comparing the efficacy of a Mediterranean diet rich in olive oil versus a low-fat diet on cardiovascular disease in coronary patients. *Am Heart J.* 2016, 177:42-50.
66. Bolte G, Frye C, Holescher B et al. Margarine consumption and allergy in children. *AM J Respir Crit Care Med.* 2001, 163:277-9.
67. Wendell SG, Baffi C and Holguin F. Fatty acids, inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2014, 133:1255-64.
68. Morris A, Noakes M and Clifton PM. The role of n-6 Polyunsaturated Fat in Stable Asthmatics. *Journal of Asthma.* 2001, 38:311-9.

69. Horrobin DF. Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acids (EFA) metabolism or a combination of both?. *Med Hypotheses*. 1987, 22(4):421-8.
70. Thien FCK, De Luca S, Woods RK and Abramson MJ – Cochrane Airways Group. Dietary marine fatty acids (fish oil) for asthma in adults and children – Cochrane review, the Cochrane collaboration. 2002, updated 2010.
71. de Luis DA, Izaola O, Aller R, Armentia A and Cuellar L. Antioxidant and fat intake in patients with pollinic asthma. *Med Clin (Barc)*. 2003, 121:653–4.
72. Wood LG and Gibson PG. Dietary factors lead to innate immune activation in asthma. *Pharmacol Ther*. 2009, 123:7–53.
73. Kim JL, Elfman L, Mi Y, Johansson M, Smedje G and Norback D (2005). Current asthma and respiratory symptoms among pupils in relation to dietary factors and allergens in the school environment. *Indoor Air*. 2005, 15:170–82.
74. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO and Lerman A. The Mediterranean diet, its components and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*. 2015, 128:229- 38.
75. Chatzi L, Apostolaki G, Bibakis I, Skypala I, et al. Protective effect of fruits, vegetables and the Mediterranean diet on asthma and allergies among children in Crete. *Thorax* 2007, 62:677–83.
76. Barros R, Moreira A, Padrao P et al. Dietary patterns and asthma prevalence, incidence and control. *Clinical and Experimental Allergy*. 2015, 45:1673-80.
77. Takaoka M and Norback D. Diet among Japanese female university students and asthmatic symptoms, infections pollen and furry pet allergy. *Respir Med* 2008, 102:1045-54.
78. Lv N, Xiao L and Ma J. Dietary pattern and asthma: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Asthma and Allergy*. 2014, 7:105-21.

79. Sexton P, Black P, Metcalf P et al. Influence of Mediterranean diet on asthma symptoms, lung function and systemic inflammation: a randomized controlled trial. *J Asthma*. 2013, 50:75-81.
80. Garcia-Marcos L, Castro-Rodriguez JA, Weinmayr G, Panagiotakos DB, Priftis KN and Nagel G. Influence of Mediterranean diet on asthma in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013, 24:330-8.
81. Ma J, Strub P, Lavori PW, Buist AS, Camargo Jr CA, Nadeau KC et al. DASH for asthma: a pilot study of the DASH diet in not-well-controlled adult asthma. *Contemporary Clinical Trials*. 2013, 35:55-67.
82. Blonstein AC, LV N, Camargo Jr CA, Wilson SR, Buist AS, Rosas LG, Strub P and Ma J. Acceptability and feasibility of the “DASH for Asthma” intervention in a randomized controlled trial pilot study. *Public Health Nutrition*. doi:10.1017/S136898001500350X.
83. Wood LG, Garg ML, Smart JM et al. Manipulating antioxidant intake in asthma: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2012, 96:534–43.
84. Saadeh D, Salameh P, Baldi I and Rahersin C. Diet and allergic disease among population aged 0 to 18 years: Myth or Reality?. *Nutrients*. 2013, 5:3399-423.
85. Miyake Y, Tanaka K, Sasaki S and Arakawa M. Polyunsaturated fatty acid intake and prevalence of eczema and rhinoconjunctivitis in Japanese children: The Ryukyus Child Health Study. *BMC Public Health*. 2011, 11:358-66.
86. Kim H, Bouchard J, Renzix PM. The link between allergic rhinitis and asthma: a role for antileukotrienes?. *Can Respir J*. 2008, 15(2):91-98.
87. Marple BF. Allergic rhinitis and inflammatory airway diseases: interactions within the united airspace. *Am J Rhinol Allergy*. 2010, 24(4):249-54.
88. Galli C and Calder PC. Effect of fat and fatty acid intake on inflammatory and immune responses: a critical review. *Ann Nutr Metab*. 2009, 55:123-39.