



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA  
E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea Magistrale in  
BIOLOGIA MOLECOLARE E APPLICATA**

**ADERENZA ALLA DIETA MEDITERRANEA E ALLA  
SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE NEI SOGGETTI CON AD E MCI,  
ANCHE IN RIFERIMENTO A MARKERS ANTIOSSIDANTI  
PLASMATICI**

**ADHERENCE TO THE MEDITERRANEAN DIET AND  
ENVIRONMENTAL SUSTAINABILITY IN SUBJECTS WITH AD  
AND MCI, ALSO IN REFERENCE TO PLASMA ANTIOXIDANT  
MARKERS**

Tesi di Laurea Magistrale di:

Ilaria Galli

Relatore: Chiar.ma  
Prof.ssa Arianna Vignini

Correlatore: Chiar.ma  
Dott.ssa Valentina Membrino

Sessione: Luglio 2024  
Anno Accademico 2023/2024

# **INDICE**

PREMESSA \_\_\_\_\_

## **1. INTRODUZIONE**

### **1.1 DIETA MEDITERRANEA E SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE**

1.1.1 LA DIETA MEDITERRANEA

1.1.2 SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE

### **1.2 MALATTIE NEURODEGENERATIVE**

1.2.1 MALATTIA DI ALZHEIMER E LIEVE  
DETERIORAMENTO COGNITIVO

1.2.2 FATTORI DI RISCHIO

1.2.3 FATTORI PROTETTIVI

### **1.3 INFIAMMAZIONE E MARKERS ANTIOSSIDANTI**

1.3.1 MARKERS ANTIOSSIDANTI PLASMATICI

1.3.2 APPROCCIO NUTRIZIONALE PER MODULARE  
L'INFIAMMAZIONE

1.3.3 POLIFENOLI

## **2. SCOPO DELLA TESI**

### **3. MATERIALI E METODI**

#### **3.1 RECLUTAMENTO PAZIENTI E TEST DIAGNOSTICI**

#### **3.2 QUESTIONARIO DI ADERENZA ALLA MEDI**

#### **3.3 QUESTIONARIO DI SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE**

#### **3.4 METODICHE DI LABORATORIO: DOSAGGIO MARKERS PLASMATICI**

##### **3.4.1 DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI POLIFENOLI TOTALI PLASMATICI**

##### **3.4.2 DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI FLAVONOIDI PLASMATICI**

##### **3.4.3 VALUTAZIONE DEL POTERE ANTIOSSIDANTE SECONDO LA METODICA ORAC**

#### **3.5 ANALISI STATISTICA**

### **4. RISULTATI**

#### **4.1 RISULTATI DEL QUESTIONARIO SULL'ADERENZA ALLA MEDI**

#### **4.2 CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE DEGLI AGENTI ANTIOSSIDANTI IN DIVERSE CLASSI DI ADERENZA NEI PAZIENTI AD**

**4.3 CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE DEGLI AGENTI ANTIOSSIDANTI IN DIVERSE CLASSI DI ADERENZA NEI PAZIENTI MCI**

**4.4 CONFRONTO TRA AD E MCI IN RELAZIONE ALLE CONCENTRAZIONI MEDIE PLASMATICHE DI CIASCUNO AGENTE ANTIOSSIDANTE STUDIATO, ALL'INTERNO DELLA STESSA CATEGORIA DI ADERENZA**

**4.5 RISULTATI QUESTIONARIO MEDQ-SUS: CONFRONTO TRA SOGGETTI AD E MCI TRA LE DIVERSE CLASSI DI SOSTENIBILITÀ**

**5. CONCLUSIONI**

**6. BIBLIOGRAFIA**

**7. RINGRAZIAMENTI**

## **PREMESSA**

La malattia di Alzheimer (AD) è un disordine neurodegenerativo che si manifesta con un progressivo decadimento cognitivo associato ad una perdita dell'autonomia funzionale. L'AD colpisce circa 46.8 milioni di individui nel mondo, con una previsione di quadruplicare la sua incidenza nelle prossime decadi a causa dell'invecchiamento della popolazione globale, tanto da essere ora considerata un'epidemia nel ventunesimo secolo. L'eziopatogenesi è tutt'oggi sconosciuta, ma è evidente un'alterazione del sistema infiammatorio e un aumento dello stress ossidativo nei pazienti affetti da questa patologia. Le terapie farmacologiche disponibili offrono solo benefici sintomatici, senza affrontare efficacemente la progressione neurodegenerativa o la cura della malattia stessa, pertanto l'identificazione di misure preventive e terapeutiche efficaci che possano ritardare l'insorgenza o invertire il corso della malattia è essenziale. Diversi studi recenti hanno evidenziato il ruolo chiave dei fattori legati allo stile di vita nel ridurre il rischio di lieve deterioramento cognitivo (MCI), di sviluppare l'AD o nel posticiparne i sintomi clinici. Tra questi fattori, una dieta equilibrata ha attratto particolare attenzione poiché può influenzare significativamente il rischio di declino cognitivo, demenza e Alzheimer.

Il modello alimentare più equilibrato e sano a livello globale è rappresentato dalla Dieta Mediterranea (MeDi), che garantisce una maggior longevità ed un

invecchiamento sano. Questo modello è basato sul consumo preferenziale di prodotti di origine vegetale come frutta, verdura, legumi, cereali e frutta secca, l'uso dell'olio extravergine d'oliva come principale fonte di grassi utilizzata per condire e cucinare, ed un moderato consumo di prodotti di origine animale come carne, pesce e latticini. L'origine di questo modello è attribuita ai Paesi del bacino del Mediterraneo meridionale (Italia, Spagna e Grecia) degli anni '50, concepito come uno stile di vita improntato su un'alimentazione frugale, un apporto energetico normocalorico e su uno stile di vita fisicamente attivo: un tempo tante energie venivano spese proprio per la coltivazione e la preparazione di questi ortaggi. Questo concetto si lega con un altro punto chiave a favore di questo modello alimentare: la sostenibilità a livello ambientale. Il consumatore attraverso le proprie scelte alimentari può fare molto per la propria salute e per la tutela dell'ambiente, come per esempio preferire un'alimentazione a base vegetale (senza rinunciare ad una piccola quota di prodotti animali per evitare eventuali carenze specifiche). Il consumo eccessivo di carne, oltre ad essere associato ad una serie di problemi di salute, rappresenta infatti uno dei processi produttivi che contribuiscono maggiormente alle emissioni di CO<sub>2</sub>, oltre che al consumo di risorse idriche e di utilizzo del suolo a causa degli allevamenti intensivi di animali. Oltre alla scelta degli alimenti, anche la loro reperibilità incide come indicatore di

sostenibilità ambientale: in questo la MeDi esorta alla scelta di frutta e verdura di stagione e a chilometro zero, evitando la coltivazione in serra o l'eccessivo utilizzo di imballaggi.

La MeDi, nota per favorire una maggiore longevità e ridurre il rischio di molte malattie croniche, emerge come un modello alimentare salutare che potrebbe offrire protezione contro i cambiamenti legati all'età nella funzione cognitiva e nelle condizioni precoci di demenza.

Numerose evidenze scientifiche descrivono l'AD come un disturbo ad eziologia multifattoriale, tra i fattori di rischio più rilevanti troviamo: età, fattori genetici, basso livello di istruzione, comorbidità con altre patologie, elevato indice di massa corporea, basso livello di attività fisica ed errate abitudini come alcolismo e tabagismo. Sono state formulate diverse ipotesi che indicano un aumentato stress ossidativo e l'alterazione dell'infiammazione tra i possibili meccanismi coinvolti nella patogenesi dell'AD. L'individuazione dei markers specifici per MCI e AD presenti nel plasma sanguigno potrebbe indicare la presenza o il rischio di sviluppare queste condizioni neurodegenerative.

# **1. INTRODUZIONE**

# **1.1 DIETA MEDITERRANEA E SOSTENIBILITÀ**

## **1.1.1 LA DIETA MEDITERRANEA**

Per secoli, molti studiosi hanno indagato sulla relazione tra alimentazione e benessere, un tema che risale addirittura al padre della medicina Ippocrate, noto per aver affermato: "Che il cibo sia la tua medicina e che la medicina sia il tuo cibo". Sin dall'antichità, l'uomo ha considerato il cibo come un mezzo di protezione per prevenire malattie. Uno dei primi scienziati a esaminare approfonditamente questa connessione è stato Ancel Keys, fisiologo americano noto per i suoi studi nel campo della nutrizione e della salute cardiovascolare, il quale, osservando la popolazione del sud Italia, notò un'incidenza inferiore di malattie cardiovascolari rispetto ad altre regioni, suscitando così l'interesse verso i possibili legami tra Dieta Mediterranea (MeDi) e salute (Testo "Eating well to be well", Ancel and Margaret Keys, Ed.Piccin).

La MeDi rappresenta un modello alimentare vario, equilibrato e gradevole al palato che è divenuto in tutto il mondo sinonimo di un'alimentazione che fa parte di uno stile di vita sano, in grado di mantenere l'organismo in salute, proteggendolo da gran parte delle patologie tipiche del nostro tempo e garantendo una maggiore aspettativa di vita. Questo modello alimentare è stato inserito nel 2010 nella lista dei patrimoni culturali immateriali dell'umanità dall'Unesco, ed esplica la sua azione protettiva e salutare tramite il consumo

preferenziale di prodotti vegetali quali frutta, verdura, legumi, cereali e frutta secca, il moderato/scarso consumo di prodotti di origine animale e l'uso di olio extravergine di oliva come principale grasso per condire e cucinare (Linee guida per una sana alimentazione, CREA 2018).

I vantaggi della MeDi sono stati ulteriormente documentati da Keys et al. nello studio Seven Countries. Il Seven Countries Study, avviato alla fine degli anni '50 e all'inizio degli anni '60, coinvolse 16 coorti di individui di età compresa tra i 40 ei 59 anni. Le coorti furono selezionate negli Stati Uniti, Finlandia, Olanda, Italia, Ex Jugoslavia (Croazia e Serbia), Grecia e Giappone, coinvolgendo complessivamente 12.763 individui. Queste coorti rappresentavano una vasta gamma di culture e contesti nazionali e le ipotesi principali dello studio includevano la valutazione di eventuali differenze reali nella prevalenza, incidenza e mortalità per malattie cardiache coronariche e altre patologie cardiovascolari tra le popolazioni diverse coinvolte. Inoltre, si voleva indagare se tali differenze potessero essere attribuite a vari stili di vita, abitudini alimentari e altre caratteristiche specifiche di ciascuna popolazione. Infine, lo studio mirava a identificare all'interno di ciascuna popolazione specifici fattori di rischio che potessero predire la comparsa di eventi coronarici e cardiovascolari futuri (Menotti et al., 2014).

Lo studio seguì la struttura di un classico studio epidemiologico longitudinale, e fu il primo studio ad essere condotto su scala internazionale in forma multicentrica, in modo da consentire il confronto sia tra gruppi che tra i singoli individui. Dopo un esame iniziale, che vide una partecipazione media superiore al 90% degli individui (con alcune punte vicine al 100%), si effettuarono due revisioni in tutte le coorti nei successivi 10 anni. Per un decennio, sono stati raccolti dati sull'incidenza delle malattie cardiovascolari in tutte le coorti, mentre i dati sulla mortalità sono stati monitorati per 25 anni in tutte le coorti e per 40 anni in 13 delle 16 coorti. Attualmente, è in fase di completamento il follow-up sulla mortalità a 50 anni per le stesse 13 coorti. Le stime ottenute dall'indagine dietetica condotta durante l'esame iniziale, in sotto-campioni provenienti dalle diverse regioni, hanno rivelato consumi significativamente diversi di grassi saturi. Le coorti del Nord America e del Nord Europa mostravano consumi più elevati di grassi saturi, mentre quelli nel Sud Europa, in particolare nelle aree Mediterranee e in Giappone, erano notevolmente inferiori. I modelli alimentari osservati differivano considerevolmente tra le regioni, in Finlandia, ad esempio, i consumi prevalenti includevano latte, patate, grassi animali e dolci, con uno schema simile, ma in misura leggermente inferiore, anche nei Paesi Bassi. Negli Stati Uniti, erano comuni consumi elevati di carne, frutta e dolci. In Italia, invece, dominavano i consumi di cereali

come pane e pasta, oltre al vino. In Serbia e in Croazia (Ex Jugoslavia), si riscontravano consumi elevati di pane, ad eccezione di Belgrado, dove si consumavano molti vegetali e pesce, soprattutto nella regione della Dalmazia. In Grecia, erano tipici consumi elevati di olio d'oliva e frutta, mentre in Giappone erano più elevati i consumi di pesce, riso e prodotti a base di soia.

Dopo 5 e 10 anni dall'esame iniziale, è stato possibile analizzare le correlazioni tra i consumi medi di alcuni nutrienti (per coorte) e l'incidenza e la mortalità per cardiopatia coronarica. È emerso che le correlazioni tra il consumo di grassi saturi (come proporzione dell'energia totale) e l'incidenza e la mortalità per cardiopatia coronarica erano consistenti e statisticamente significative.

I rapporti elevati tra grassi monoinsaturi e saturi (M/S) solitamente indicavano un uso frequente di olio d'oliva, caratteristico delle regioni mediterranee. Questi risultati sono stati confermati attraverso dati sulla mortalità coronarica a 15, 20 e 25 anni di follow-up. Inoltre, si è osservato che il consumo di flavonoidi, una categoria importante di antiossidanti, era inversamente correlato alla mortalità per malattie coronariche e tumori.

Grazie ai risultati raccolti, gli studiosi si accorsero che un'assunzione frequente di alimenti di origine animale e di zuccheri era direttamente correlata con la mortalità coronarica, mentre osservarono una correlazione inversa tra il consumo di alimenti di origine vegetale, pesce e l'assunzione di moderate

quantità di alcol (vino). Alcuni esempi di tali correlazioni sono riportati nella Tabella sottostante (Tabella 1).

Nutrienti o alimenti	Manifestazione clinica	Anni di follow-up	Coefficiente di correlazione lineare
Grassi totali	Eventi coronarici maggiori	5	0,40
Grassi saturi	Eventi coronarici maggiori	5	0,81 (*)
Grassi saturi	Tutti gli eventi coronarici	5	0,84 (*)
Grassi totali	Mortalità coronarica	10	0,50 (*)
Grassi saturi	Mortalità coronarica	10	0,84 (*)
Grassi saturi	Eventi coronarici maggiori	10	0,73 (*)
Rapporto P/S <sup>(*)</sup>	Mortalità coronarica	10	-0,82 (*)
Rapporto P/S <sup>(*)</sup>	Mortalità per tutte le cause	10	-0,47
Rapporto M/S (15 coorti) <sup>(**)</sup>	Mortalità per tutte le cause	15	-0,63 (*)
Rapporto M/S (15 coorti) <sup>(**)</sup>	Mortalità coronarica	15	-0,82 (*)
Rapporto M/S (15 coorti) <sup>(**)</sup>	Mortalità per tumori	15	-0,57 (*)
Grassi saturi (12 coorti)	Mortalità coronarica	20	0,90 (*)
Grassi saturi	Mortalità coronarica	25	0,88 (*)
Flavonoidi	Mortalità coronarica	25	-0,50 (*)
Olio	Mortalità coronarica	25	-0,57 (*)
Legumi	Mortalità coronarica	25	-0,57 (*)
Latte	Mortalità coronarica	25	0,60 (*)
Burro	Mortalità coronarica	25	0,89 (*)
Carne	Mortalità coronarica	25	0,65 (*)
Zucchero	Mortalità coronarica	25	0,60 (*)
Dolci	Mortalità coronarica	25	0,75 (*)
Alcool	Mortalità coronarica	25	0,61 (*)
Complesso alimenti vegetali	Mortalità coronarica	25	-0,52
Complesso alimenti animali	Mortalità coronarica	25	0,80 (*)

\*P<0,05; <sup>(\*)</sup>Rapporto P/S: rapporto poli-insaturi/saturi; <sup>(\*\*)</sup> Rapporto M/S: rapporto mono-insaturi/saturi.

Tabella 1: Riporta i coefficienti di correlazione lineare tra vari nutrienti o alimenti e le manifestazioni cliniche correlate agli eventi coronarici, in base a diversi periodi di follow-up.

In conclusione, attraverso questa ricerca, gli studiosi hanno notato che i paesi del Sud Europa, come Grecia, Italia, Serbia e Croazia mostravano livelli di

aspettativa di vita tra i più alti al mondo, mentre i tassi di malattie coronariche, diversi tipi di cancro e altre patologie croniche risultavano particolarmente bassi.

Naturalmente, lo studio presentava dei limiti, principalmente legati al contesto storico in cui è stato condotto: questi limiti includono difficoltà economiche, difficoltà organizzative e un limitato numero di Paesi (7) e di coorti (16) disponibili per l'analisi e la selezione. L'obiettivo dello studio era quello di confrontare culture con stili di vita e abitudini alimentari molto diverse tra loro, ma la scelta finale fu tuttavia influenzata da diversi fattori.

Va sottolineato che le abitudini alimentari e la dieta non sono gli unici fattori determinanti per le malattie coronariche, le malattie cardiovascolari e la longevità, poiché altri fattori comportamentali e non comportamentali contribuiscono al rischio complessivo.

Nuove evidenze provenienti da studi epidemiologici e clinici indicano che modifiche dello stile di vita, inclusa l'adozione di una dieta sana, e l'aumento dell'attività fisica, rappresentano un'alternativa terapeutica efficace per contrastare il declino cognitivo e prevenire la demenza. Poiché l'età rappresenta il principale fattore di rischio per lo sviluppo della demenza e spesso è associata a una riduzione della bioenergetica cellulare e dei processi metabolici, seguire una dieta ricca di nutrienti risulta cruciale per mantenere in salute il cervello.

Gli alimenti predominanti nella MeDi, oltre che in altri regimi alimentare progettati per migliorare la salute del cervello e ridurre il rischio di malattie neurodegenerative come la MIND (Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay) e la DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), sono frutta, verdura a foglia verde, pesce, noci e olio d'oliva, tutti alimenti che possono contribuire a prevenire o ritardare il declino cognitivo (Arora et al., 2023).

### **1.1.2 SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE**

Negli ultimi anni, l'espansione della globalizzazione alimentare e l'intensificazione della produzione agricola hanno spesso trascurato l'importanza della sostenibilità degli ecosistemi nel contesto alimentare. Tuttavia, recentemente vi è stato un rinnovato interesse per il concetto di dieta sostenibile (Burlingame et al., 2011).

Il modello alimentare mediterraneo assicura la conservazione della cultura del cibo, della biodiversità e della conoscenza degli alimenti locali.

La stagionalità dei prodotti svolge un ruolo cruciale poiché i prodotti freschi sono naturalmente ricchi di nutrienti, mentre tali valori possono diminuire con le tecniche impiegate dalle industrie alimentari. Nei prodotti freschi, diversi fattori influenzano il loro valore nutrizionale, come i metodi di coltivazione

adottati, le varietà specifiche selezionate, il grado di maturazione al momento della raccolta, le pratiche di manipolazione post-raccolta, il metodo di raccolta e la distanza del trasporto. Pertanto, ogni fase del processo, dal seme alla tavola, può influenzare significativamente il contenuto di nutrienti (Linee guida per una sana alimentazione, CREA 2018).

La MeDi non rappresenta solamente una lista di cibi, bensì un modello culturale che abbraccia l'intero ciclo alimentare, dalla selezione e produzione degli alimenti fino alla loro distribuzione ai consumatori. Inoltre, la MeDi favorisce la sostenibilità ambientale, poiché comporta una riduzione del consumo di alimenti di origine animale e, rispetto ai modelli occidentali, comporta una minore richiesta di risorse del suolo, acqua ed energia. Questi aspetti ne riflettono la natura sostenibile, particolarmente rilevante in un contesto sempre più globalizzato.

Sono stati proposti diversi criteri per valutare l'impatto ambientale degli alimenti e delle diete, tra cui il più diffuso è rappresentato dalle emissioni di gas serra (GHG) espresse in equivalenti di anidride carbonica, comunemente note come impronta di carbonio, che includono CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O e CH<sub>4</sub>, seguite dall'utilizzo di suolo, acqua ed energia (Jones et al., 2016).

Attualmente, una delle principali sfide è garantire la conservazione delle risorse naturali per le future generazioni, mantenendo nel contempo la capacità di

fornire cibo in quantità e qualità sufficienti per soddisfare le necessità alimentari di una popolazione mondiale in continua crescita. I prossimi decenni richiederanno cambiamenti sostanziali nella produzione e nel consumo alimentare (Smith et al., 2013). Di conseguenza, è fondamentale adottare misure transdisciplinari urgenti per affrontare sia il problema della malnutrizione che quello dell'eccesso di nutrizione, promuovendo la diversificazione delle diete, riducendo gli sprechi alimentari e minimizzando l'impatto ambientale (Whitmee et al., 2015).

Le nazioni del Mediterraneo meridionale e orientale stanno affrontando una fase di "transizione nutrizionale" caratterizzata dalla coesistenza di problemi legati alla denutrizione insieme a quelli legati all'eccesso di peso, all'obesità e alle malattie croniche correlate all'alimentazione (Dernini et al., 2017). A seguito dell'insorgenza di queste problematiche, nel 2010 in occasione del simposio scientifico internazionale su "Biodiversità e diete sostenibili: uniti contro la fame", tenutosi presso la FAO a Roma, è stato raggiunto un accordo sulla seguente definizione di *dieta sostenibile*: "Le diete sostenibili sono quelle diete a basso impatto ambientale che contribuiscono alla sicurezza alimentare e nutrizionale e alla vita sana delle generazioni presenti e future. Le diete sostenibili sono protettive e rispettose della biodiversità e degli ecosistemi, culturalmente accettabili, accessibili, economicamente giuste e convenienti;

nutrizionalmente adeguato, sicuro e sano; ottimizzando le risorse naturali e umane”.

È ampiamente riconosciuto che il sistema alimentare globale attuale non sia sostenibile. Si stima che oltre due miliardi di persone siano malnutrite, con quasi 800 milioni di individui che soffrono di sottanutrizione e oltre un miliardo affetti da sovrappeso e obesità. La produzione e il consumo di cibo sono tra le principali cause di degrado ambientale, mettendo a rischio le risorse naturali stesse. Approssimativamente un terzo del cibo prodotto viene perso o sprecato. Secondo la FAO, si prevede che la richiesta globale di cibo aumenterà del 60% entro il 2050 rispetto al 2007, a causa dei cambiamenti nei modelli di consumo e della crescita demografica (Alexandratos et al., 2012).

Studi recenti mettono in luce le sinergie tra diete più salutari e minori impatti ambientali, portando all'idea di diete sostenibili per promuovere sia la salute umana che quella degli ecosistemi (Meybeck et al., 2017).

Una dieta rappresenta la scelta individuale degli alimenti consumati, selezionati all'interno del sistema alimentare disponibile. Al contrario, la somma di tutte le diete costituisce la domanda complessiva di cibo che guida i sistemi alimentari. Le diete possono costituire un punto di partenza utile per individuare le azioni che possono essere intraprese a livello individuale e collettivo per migliorare i sistemi alimentari e le loro dinamiche (Meybeck et al., 2017).

Hammond e Dubé (2012) hanno proposto un quadro di sistema per la sicurezza alimentare e nutrizionale, definendo i sistemi agroalimentari come interconnessi con il sistema ambientale e il sistema sanitario e delle malattie. Sobal et al. (1998) hanno sviluppato un modello concettuale integrato del sistema alimentare e nutrizionale, evidenziando l'importanza della nutrizione e dei collegamenti tra produzione alimentare, consumo alimentare e salute nutrizionale. Questo modello definisce il sistema alimentare e nutrizionale come "l'insieme di operazioni e processi coinvolti nella trasformazione delle materie prime in alimenti e nella trasformazione dei nutrienti in risultati sanitari, che funzionano tutti come un sistema all'interno di contesti biofisici e socioculturali". Identifica tre sottosistemi: il sottosistema produttore, il sottosistema consumatore e il sottosistema nutrizione, ognuno dei quali si riversa nel successivo. Sebbene si concentri sulle relazioni lineari tra questi sottosistemi, questo modello riconosce l'interazione di diversi sistemi, come quelli sanitario, economico, culturale, ecologico, governativo e di trasporto, con il sistema di nutrizione alimentare. Questo approccio mette il consumatore al centro del sistema, considerandolo un intermediario tra la produzione alimentare e i risultati nutrizionali, rendendolo particolarmente utile per l'analisi delle diete all'interno dei sistemi alimentari (Sobal et al., 1998).

## **1.2. MALATTIE NEURODEGENERATIVE**

### **1.2.1 MALATTIA DI ALZHEIMER E LIEVE**

#### **DETERIORAMENTO COGNITIVO**

Il morbo di Alzheimer (AD) è un disordine neurodegenerativo che si manifesta con un progressivo decadimento cognitivo associato ad una perdita dell'autonomia funzionale. In generale, le malattie neurodegenerative sono caratterizzate da una progressiva perdita funzionale dei neuroni nel cervello, che provoca danni cognitivi e incapacità dei motoneuroni. Sebbene le interazioni multifattoriali siano evidenti, la nutrizione svolge un ruolo essenziale nella patogenesi e nell'evoluzione di queste malattie.

L'AD rappresenta il tipo più comune di demenza, il cui tasso di incidenza è in rapida crescita, tanto da essere ora considerato un'epidemia nel ventunesimo secolo (Sito del Ministero della Salute, Dati Epidemiologici, 2023). Questa condizione contribuisce in modo significativo alla malattia e alla mortalità tra gli anziani, generando crescente preoccupazione per la salute pubblica e impatti socio-economici rilevanti. Attualmente, le terapie farmacologiche disponibili offrono solo un modesto sollievo dai sintomi senza affrontare efficacemente la progressione neurodegenerativa o la cura della malattia stessa. Pertanto, l'identificazione di misure preventive e terapeutiche efficaci che possano ritardare l'insorgenza o invertire il corso della malattia è essenziale. Diversi

studi hanno evidenziato il ruolo chiave dei fattori legati allo stile di vita nel ridurre il rischio di sviluppare il morbo di Alzheimer o nel posticiparne i sintomi clinici. Tra questi fattori, una dieta equilibrata ha attratto particolare attenzione poiché può influenzare significativamente il rischio di declino cognitivo, demenza e AD. La MeDi, nota per favorire una maggiore longevità e ridurre il rischio di molte malattie croniche, emerge come un modello alimentare salutare che potrebbe offrire protezione contro i cambiamenti legati all'età nella funzione cognitiva e nelle condizioni precoci di demenza (Sito del Ministero della Salute, Dati Epidemiologici, 2023).

L'AD rappresenta la principale causa di demenza nella popolazione anziana. Si prevede che questo numero aumenterà a causa dell'invecchiamento della società. L'Alzheimer's Disease International (ADI) avverte che il numero di persone affette da AD potrebbe raggiungere i 13.8 milioni entro il 2060 (Gaugler et al., 2022).

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), l'Alzheimer è una malattia progressiva che si sviluppa in tre fasi cliniche distinte. Il primo stadio è il deterioramento cognitivo lieve (MCI), una fase intermedia tra il normale funzionamento cognitivo e l'AD. Il MCI influisce sulla memoria degli individui, con o senza avere un impatto significativo sulla loro vita quotidiana. Esempi di situazioni tipiche di soggetti affetti da MCI includono la perdita di

oggetti personali e la dimenticanza di appuntamenti. Il MCI può persistere per tutta la vita o progredire verso forme lievi, moderate o avanzate di AD. In altre parole, il MCI può essere considerato un precursore dell'AD. I sintomi dell'AD avanzato includono la perdita di memoria a lungo termine, la difficoltà nel riconoscere i propri cari e difficoltà nell'eseguire attività quotidiane come mangiare, andare in bagno e vestirsi (Arora et al., 2023).

Un ampio insieme di prove spiega l'AD come un disturbo multifattoriale, di conseguenza sono state formulate diverse ipotesi circa la sua insorgenza, tra cui l'ipotesi infiammatoria.

La neuroinfiammazione nell'AD inizia nei pazienti con MCI e aumenta nelle fasi successive della malattia. La mancata risoluzione dell'infiammazione può portare a una risposta infiammatoria cronica, mentre la risoluzione viene propagata dalla produzione di molecole antinfiammatorie derivate dagli acidi grassi polinsaturi omega-3 (PUFA).

I PUFA sono componenti cruciali delle membrane cellulari neuronali, ne regolano l'eccitabilità e migliorano la trasmissione neuronale, migliorando la memoria e l'apprendimento nelle persone sane. Sono grandi fonti di omega 3 alcuni pesci dalla carne grassa (come sgombro, salmone, aringa, sardine e tonno), frutti oleosi come le noci e semi come il lino, ma anche in parte nei legumi come nei fagioli secchi.

Oltre ai PUFA, esistono diversi marcatori antiossidanti plasmatici che possono essere utilizzati per valutare il livello di difese antiossidanti nell'organismo e il loro potenziale nell'affrontare i danni causati dai radicali liberi, che vedremo successivamente nel capitolo ad essi dedicato.

La prima associazione tra maggiore aderenza ad una dieta di tipo mediterraneo e minore incidenza di AD è stata riportata da Scarmeas et al. (2006) che nel 1992 avviò il progetto Washington Heights-Inwood Columbia Aging (WHICAP). Nello studio sono stati reclutati 2258 individui statunitensi di età superiore ai 65 anni, privi di demenza, seguendoli per un periodo medio di 4 anni (con un intervallo compreso tra 0.2 e 13.9 anni). Durante il periodo di monitoraggio, sono stati identificati 262 nuovi casi di AD. All'inizio dello studio, è stata valutata l'aderenza alla MeDi utilizzando il punteggio MeDi, che varia da 0 a 9 punti. Un maggiore punteggio MeDi è risultato associato a un rischio ridotto di sviluppare AD [hazard ratio (HR) = 0.91, intervallo di confidenza al 95% 0.83-0.98 per ogni punto aggiuntivo del punteggio MeDi,  $P = 0.01$ ], dopo aver considerato i principali fattori confondenti. Rispetto agli individui nel terzo punteggio inferiore del MeDi (punteggi da 0 a 3, indicanti una bassa aderenza alla MeDi), coloro appartenenti al terzo medio (punteggi 4 o 5) hanno mostrato un rischio di AD inferiore del 21%, mentre quelli appartenenti al terzo superiore (punteggi da 6 a 9) hanno presentato un rischio

inferiore del 40%, con una significativa tendenza dose-risposta ( $P$  per tendenza = 0.007) in modelli completamente corretti. In un sottogruppo di 1393 individui dello studio WHICAP, seguiti per una media di 4.5 anni, 275 persone hanno sviluppato MCI. È stata riscontrata un'associazione significativamente marginale tra una maggiore aderenza alla MeDi e un ridotto rischio di MCI [HR = 0.72, intervallo di confidenza al 95% 0.52-1.00, per ogni punto aggiuntivo nel punteggio MeDi,  $P = 0.05$ ]. Inoltre, tra 482 individui con MCI all'inizio dello studio, 106 hanno sviluppato AD durante il follow-up. I pazienti con MCI che avevano una aderenza alla MeDi moderata (punteggi 4 o 5) o alta (punteggi 6-9) all'inizio dello studio hanno mostrato rispettivamente un rischio inferiore del 45% e del 48% di sviluppare AD rispetto a coloro con una bassa aderenza (punteggi 0-3;  $P$  per trend = 0.02). Tuttavia, in queste analisi, in cui la valutazione delle abitudini alimentari è stata condotta su individui con deficit di memoria, non è stato possibile escludere completamente un potenziale errore (Scarmeas et al., 2009).

Successivamente, nello studio WHICAP è stato esaminato l'impatto di uno stile di vita salutare complessivo, che integra dieta ed esercizio fisico, sul rischio di AD. Tra i 1880 partecipanti senza demenza all'inizio dello studio, 282 sono stati successivamente diagnosticati con AD durante un periodo medio di follow-up di 5.4 anni. Sono emerse associazioni inverse, indipendenti, tra

l'attività fisica, l'aderenza alla MeDi e il rischio di AD [l'HR per una quantità considerevole di attività fisica rispetto a nessuna attività fisica è stato di 0.67, intervallo di confidenza al 95% 0.47-0.95,  $P = 0,02$ ; l'HR per un'aderenza elevata (punteggi 6-9) rispetto a una bassa aderenza alla MeDi (punteggi 0-3) è stato di 0.60, intervallo di confidenza al 95% 0.42-0.87,  $P = 0.007$ ]. Inoltre, gli stessi ricercatori hanno esaminato la relazione tra l'aderenza alla MeDi e la mortalità nei pazienti con AD all'interno dello studio WHICAP. Tra i 192 individui diagnosticati con AD all'inizio dello studio e seguiti per una media di 4.4 anni, ottantacinque sono deceduti. Rispetto ai pazienti con AD nel terzo inferiore del punteggio della MeDi all'inizio dello studio (punteggi 0-3), coloro nel terzo superiore (punteggi 6-9) hanno mostrato un rischio significativamente ridotto di mortalità (HR = 0.27, intervallo di confidenza al 95% 0.10-0.69,  $P$  per trend = 0.003), con una sopravvivenza media più lunga di 3.9 anni. Questo risultato suggerisce che l'aderenza alla MeDi può influenzare non solo il rischio di AD, ma anche la successiva progressione della malattia.

## **1.2.2 FATTORI DI RISCHIO**

L'AD è una malattia estremamente complessa e non ancora completamente compresa, sembra però che la causa della demenza e dell'AD coinvolga una serie di interazioni complesse tra fattori genetici e ambientali, che attivano diversi meccanismi fisiopatologici (Féart et al., 2013). Dal punto di vista

genetico, esistono forme monogeniche e poligeniche della malattia, con quest'ultima che rappresenta oltre il 95% dei casi. In altre parole, la maggior parte dei casi di AD non è causata da un singolo gene, ma è il risultato dell'interazione di vari geni insieme a fattori ambientali e allo stile di vita. Si stima che circa un terzo dei casi di AD possa essere correlato a bassi livelli di istruzione, fumo, consumo di alcol, depressione, diabete, ipertensione, obesità e inattività fisica (Norton et al., 2014).

I numerosi fattori di rischio fino ad oggi identificati suggeriscono che l'AD sia a eziologia multifattoriale, e tra questi fattori pro-infiammatori possiamo citare, oltre a quelli riportati in precedenza, il consumo frequente di alimenti quali carni rosse, cibi processati, carboidrati raffinati, alimenti fritti o grassi trans, il cui consumo è associato ad un alto rischio di dislipidemie, ipertensione, anormale metabolismo del glucosio e malattie coronariche. Il rischio e la progressione della maggior parte, se non di tutti, questi aspetti caratteristici dell'AD possono diminuire a seguito di abitudini salutari associate ad una dieta equilibrata, attività fisica regolare, un sonno adeguato e di qualità, interazione sociale, evitare l'esposizione all'inquinamento atmosferico e al fumo passivo, la cessazione del fumo e la moderazione del consumo di alcol (Arora et al., 2023).

Oltre alle funzioni cognitive, diversi gruppi hanno studiato gli effetti della MeDi sulla struttura cerebrale e sulle caratteristiche neuropatologiche dell'AD. Ad esempio, un punteggio più elevato di aderenza alla MeDi è stato associato a un minore accumulo di  $\beta$ -amiloide in 77 soggetti cognitivamente normali che hanno partecipato allo studio denominato "Australian Imaging Biomarkers and Lifestyle Study of Aging", che sono stati classificati come controlli sani (cognitivamente "normali") e hanno completato il questionario sulla frequenza alimentare del Cancer Council of Victoria (CCVFFQ) e che sono stati classificati come "A $\beta$  accumulatori". Il CCVFFQ è un questionario sulla frequenza di 74 alimenti singoli, semiquantitativo, scansionabile meccanicamente, che viene utilizzato per fornire i grammi al giorno di assunzione di cibo e sostanze nutritive (Rainey-Smith et al., 2018).

Gli alimenti e i nutrienti della MeDi possono contribuire a ritardare il declino cognitivo legato all'invecchiamento attraverso molteplici vie biologiche, incluse le vie vascolari, antiossidanti e antinfiammatorie. Inoltre, la MeDi è ricca di composti antiossidanti, come i polifenoli presenti nell'olio d'oliva e nel vino, nonché vitamine C, E e carotenoidi contenuti nella frutta e nella verdura, che possono contrastare il danno ossidativo implicato nella patogenesi dell'AD (Féart et al., 2013).

### **1.2.3 FATTORI PROTETTIVI**

Le scelte di stile di vita, compresa la dieta, vengono viste come una valida terapia complementare per ridurre il declino cognitivo, il segno distintivo dell'AD (Duplantier et al., 2021). È necessaria un'azione terapeutica precoce per affrontare i processi biologici che potrebbero già essere compromessi e prima che l'AD progredisca da uno stato di MCI a fallimento cognitivo (Lloret et al., 2019).

L'assunzione alimentare di antiossidanti, vitamine del gruppo B, polifenoli e PUFA, presenti in verdure, frutta, noci, cereali integrali, legumi, semi e vino rosso, può svolgere un ruolo nel ridurre il rischio di AD o di ritardarne l'esordio.

I PUFA sono componenti cruciali delle membrane cellulari neuronali, ne regolano l'eccitabilità e incrementano la trasmissione neuronale, migliorando la memoria e l'apprendimento nelle persone sane. Questi nutrienti inibiscono la formazione di oligomeri e fibre del peptide beta-amiloide associati all'AD (Hu et al., 2013). Sono grandi fonti di omega 3 alcuni pesci dalla carne grassa (come sgombro, salmone, aringa, sardine e tonno), frutti oleosi come le noci e semi come il lino, ma anche in parte nei legumi come nei fagioli secchi.

Oltre ai PUFA, esistono diversi marcatori antiossidanti plasmatici che possono essere utilizzati per valutare il livello di difese antiossidanti nell'organismo e il loro potenziale nell'affrontare i danni causati dai radicali liberi.

Oltre ai PUFA, vi sono i grassi monoinsaturi (MUFA) presenti nell'olio d'oliva, nelle noci e nei semi che giocano un ruolo significativo nel promuovere l'autofagia, un processo carente nelle prime fasi dell'AD. L'autofagia è coinvolta nella rimozione e nel metabolismo della beta-amiloide e nell'assemblaggio della proteina tau. Pertanto, il suo malfunzionamento può contribuire alla progressione della malattia.

Studi recenti hanno evidenziato come l'acido docosaesaenoico (DHA), presente nei pesci grassi come il salmone, riduce i livelli di proteina tau nei modelli animali e favorisce la presenza di LR11, una proteina importante per la salute cerebrale. La carenza di LR11 è associata a un aumento della produzione di beta-amiloide. Gli antiossidanti, le vitamine del gruppo B, i polifenoli, i PUFA, i MUFA e il DHA possono anche ridurre il rischio di infiammazione sistemica e stress ossidativo, fattori fortemente correlati all'AD (Duplantier et al., 2021). Lo studio clinico *Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED)* (Miguel et al., 2015) ha esaminato l'effetto della MeDi sulla prevenzione cardiovascolare primaria in anziani ad alto rischio cardiovascolare. Inizialmente, lo studio ha coinvolto una popolazione di 4774 individui, con età compresa tra 55 e 80 anni. Questi partecipanti non avevano precedenti episodi cardiovascolari, ma presentavano un rischio elevato a causa della presenza di almeno tre fattori tra

fumo, ipertensione, alto colesterolo LDL, basso colesterolo HDL, sovrappeso o obesità, e familiarità con le malattie cardiovascolari (CVD).

Nello studio, i partecipanti sono stati divisi in tre gruppi in rapporto 1:1:1 e assegnati casualmente a uno dei tre gruppi di trattamento: il primo gruppo ha seguito una MeDi integrata con olio extravergine di oliva (1 litro a settimana), il secondo gruppo una MeDi arricchita con una porzione giornaliera di frutta secca mista (30 g al giorno, tra nocciole, mandorle e noci), mentre il terzo gruppo ha seguito una dieta standard di controllo. I risultati dello studio PREDIMED hanno dimostrato che entrambe le diete mediterranee hanno aumentato le prestazioni cognitive e hanno ridotto significativamente il rischio di eventi cardiovascolari in modo maggiore rispetto alla dieta di controllo. Questi risultati hanno sottolineato l'importanza della MeDi nella prevenzione delle malattie cardiovascolari e neurodegenerative e hanno contribuito a rafforzare le raccomandazioni dietetiche per la salute cardiovascolare.

La MeDi, la DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) e la MIND (Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay) offrono un ricco apporto di antiossidanti, vitamine del gruppo B, polifenoli, PUFA, MUFA e DHA. Queste diete sono prevalentemente a base vegetale e includono una varietà di alimenti come verdure, frutta, noci, cereali integrali, legumi, semi, olio extravergine d'oliva, pesce e pollame, ricchi di nutrienti essenziali e, al

contempo, riducono l'assunzione di carne rossa, dolci, alimenti trasformati e bevande zuccherate, comunemente associati alle diete occidentali.

Va tenuto presente che gli alimenti e i nutrienti agiscono sinergicamente piuttosto che come agenti fisiologici isolati, e questi modelli dietetici sono stati concepiti "a priori". Un elenco delle componenti dietetiche di questi tre modelli e dei loro potenziali benefici neuroprotettivi è presentato nella tabella 2 (Van den Brink et al., 2019).

<b>Componente dietetica</b>	<b>Protezione vascolare</b>	<b>Protezione antinfiammatoria</b>	<b>Protezione antiossidante</b>	<b>Protezione neurale</b>
Cereali integrali	X	X	X	X
Verdure (la dieta MIND enfatizza le verdure a foglia verde oltre ad altre verdure)	X	X	X	
Frutta (la dieta MIND enfatizza le bacche rispetto ad altri frutti)	X	X	X	
Pesce grasso (ad es. salmone, tonno, sardine)	X	X	X	X
Legumi/Fagioli	X	X	X	X
Frutta secca	X	X	X	X

Componente dietetica	Protezione vascolare	Protezione antinfiammatoria	Protezione antiossidante	Protezione neurale
Olio d'oliva (diete Medi, MIND)		X	X	
Vino rosso (diete Medi, MIND)		X	X	

“X” indica l’associazione con il beneficio neuroprotettivo elencato.

**TABELLA 2:** Componenti dietetici Medi/DASH/MIND e potenziali benefici neuroprotettivi.

Sebbene le diete MeDi/DASH/MIND siano tutte a base vegetale, ci sono differenze fondamentali non solo nelle tipologie di cibo, ma anche nelle quantità raccomandate di determinati alimenti (Tabella 3).

	<b>MeDi</b>	<b>DASH</b>	<b>MIND</b>
<b>ASSUNZIONE ELEVATA</b>	Olio d'oliva (esclusivo)	-	-
	<b>Pesce</b>	-	-
	<b>Cereali (non raffinati)</b>	Cereali	<b>Cereali (interi)</b>
	Frutta	Frutta	Frutti di bosco
	Verdure	<b>Verdure</b>	Verdure a foglia verde
	-	-	<b>Altre verdure</b>
	Patate	-	-
	Legumi	Legumi	-
	Fagioli	-	Fagioli
	<b>Noccioline</b>	<b>Noccioline</b>	<b>Noccioline</b>
	Semi	Semi	-
	-	Basso contenuto di grassi	-
<b>ASSUNZIONE MODERATA</b>	<b>Pollame</b>	<b>Pollame</b>	<b>Pollame</b>

	-	<b>Pesce</b>	<b>Pesce</b>
	Alcol (vino)	-	Alcol (vino)
	-	-	Olio d'oliva (primario)
	Latticini interi	-	-
<b>ASSUNZIONE SCARSA</b>	<b>carne rossa</b>	carne rossa	<b>carne rossa</b>
	Carne lavorata	-	-
	<b>Dolci</b>	<b>Dolci</b>	<b>Dolci/pasticcini</b>
	-	Grassi saturi	-
	-	Sodio <2400 mg/giorno	-
<b>ASSUNZIONE LIMITATA</b>	-	-	Formaggio
	-	-	Burro/margarina
	-	-	Cibi veloci/fritti

**TABELLA 3:** Confronto tra le componenti dietetiche delle diete MeDi, DASH e MIND. Le componenti in grassetto sono comuni a tutti e tre i modelli dietetici.

Consumare frutta e verdura fresca, ricca di vitamine e minerali essenziali, rappresenta un pilastro fondamentale di una dieta sana. Seguire le raccomandazioni dell'OMS di consumare almeno cinque porzioni al giorno tra frutta e verdura può contribuire a mantenere un adeguato livello di idratazione e a ridurre il rischio di demenza in età avanzata. Uno studio longitudinale condotto su una vasta coorte di 17.700 anziani senza demenza a Hong Kong per sei anni ha evidenziato una correlazione tra il consumo quotidiano di frutta e verdura e una ridotta incidenza di demenza (Gorii et al., 2018).

In particolare, il consumo di verdure a foglia verde, ricche di fibre, acido folico, fillochinone e luteina, è stato associato a un rallentamento del declino cognitivo anche in una popolazione anziana degli Stati Uniti (Morris et al., 2018).

Il vino rosso, elemento cardine della MeDi, è noto per la sua ricchezza di composti fenolici. Tra questi, il resveratrolo ha dimostrato proprietà antiossidanti che possono contrastare la tossicità associata alle placche di beta-amiloide nel cervello (Conte et al., 2003).

Un follow-up condotto su 5.033 partecipanti ad uno studio longitudinale in Norvegia ha rivelato che un consumo leggero o moderato di vino era associato a prestazioni cognitive superiori sette anni dopo (Arntzen et al., 2010). Ulteriori ricerche hanno suggerito che il resveratrolo potrebbe anche avere un ruolo nella regolazione dell'infiammazione cerebrale, rendendolo un potenziale obiettivo

terapeutico per l'AD. Tuttavia, è importante consumare vino con moderazione, in quanto il consumo eccessivo di alcol può aumentare il rischio di demenza. Bisogna quindi prestare attenzione a non superare l'assunzione giornaliera raccomandata, poiché un consumo eccessivo di alcol può annullare i benefici del resveratrolo e aumentare il rischio di problemi di salute (Yasar et al., 2018). Féart et al. (2013) hanno suggerito che l'effetto benefico nel ritardare il declino cognitivo e posticipare l'inizio della demenza potrebbe essere limitato a una finestra temporale specifica. Questo periodo favorevole si estende fino a circa 5 anni prima della diagnosi clinica di demenza, poiché oltre questo limite i processi fisiopatologici potrebbero essere troppo avanzati per essere influenzati dalla dieta. Di conseguenza, l'efficacia di un trattamento farmacologico sarebbe più evidente solo quando viene somministrato almeno 5 anni prima della diagnosi di demenza, quando i danni neurologici sono ancora contenuti.

### **1.3.3 POLIFENOLI**

Esiste una classe di nutrienti non essenziali chiamati polifenoli, che rappresentano una vasta classe di composti chimici naturalmente presenti nelle piante, caratterizzati dalla presenza di uno o vari anelli fenolici (Quiñones et al., 2012). Questi composti sono noti per le loro proprietà antiossidanti e per il

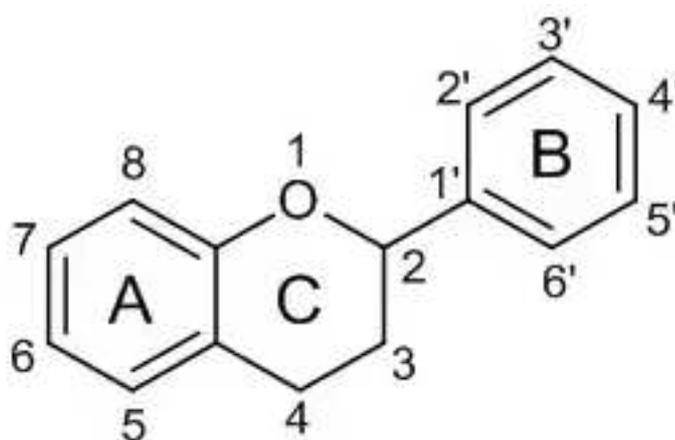
loro ruolo nella prevenzione di diverse patologie croniche, inclusa l'azione terapeutica nell'AD e nella demenza (Bhullar et al., 2013).

I polifenoli si distinguono per la loro struttura chimica complessa, che può variare notevolmente, tuttavia, tutti condividono una caratteristica comune: la presenza di uno o più anelli aromatici con gruppi ossidrilici (-OH) attaccati. Questa struttura è responsabile delle loro potenti proprietà antiossidanti, poiché gli anelli aromatici sono in grado di neutralizzare i radicali liberi donando un elettrone, riducendo così lo stress ossidativo nelle cellule.

Questi sono metaboliti secondari naturali delle piante che dimostrano la capacità di controllare e modulare i ROS, la tossicità dei metalli, l'infiammazione, l'apoptosi, la trasduzione del segnale, i canali ionici e i neurotrasmettitori. Gli antiossidanti polifenolici presenti negli alimenti, come il resveratrolo, la quercetina, l'epigallocatechina gallato (EGCG) e altri polifenoli della frutta, sono potenti neuroprotettori. Il loro impiego diretto e l'integrazione nella dieta potrebbero fornire una terapia antiossidante e neuroprotettiva efficace per il trattamento di queste malattie (Bhullar et al., 2013).

I flavonoidi sono i polifenoli più abbondanti nella dieta dell'uomo, nella frutta e nella verdura si trovano generalmente in forma di glicosidi e in alcuni casi in forma di acilglicosidi, mentre meno frequentemente, ed in concentrazioni

minori, in forme acilate, metilate e solfate. Sono molecole idrosolubili che si accumulano all'interno dei vacuoli vegetali (Petruzza E. et al. 2013). La loro struttura di base è costituita da due anelli benzenici (indicati come A e B) collegati da una catena di tre atomi di carbonio che forma un anello piranico (anello eterociclico contenente ossigeno) chiuso con l'anello benzenico A, che è detto anello C (Figura 1).



*Fig 1. Struttura chimica di base dei flavonoidi.*

La loro struttura è pertanto definita anche come C6-C3-C6. Nella maggior parte dei casi l'anello B si lega all'anello C in posizione 2, ma può legarsi anche in posizione 3 o 4; questo, insieme con le caratteristiche strutturali dell'anello B e gli schemi di glicosilazione ed idrossilazione dei tre anelli, fa sì che i flavonoidi siano il gruppo di fitochimici più ampio e diversificato presente in natura (Cheynier V. 2005).

I flavonoidi possono essere presenti sotto forma di agliconi o glicosidi. I glicosidi sono più polari, più assorbibili e meno reattivi nei confronti dei radicali dell'ossigeno. I glicosidi possono essere legati ad uno zucchero, generalmente il D-glucosio, ma sono comuni anche le strutture come L-ramnosio, galattosio, xilosio, arabinosio, e disaccaridi come il rutinosio. I flavonoidi in cui l'anello B si lega in posizione 3 dell'anello C sono detti isoflavoni; quelli in cui l'anello B si lega in posizione 4, sono detti neoflavonoidi, mentre quelli in cui l'anello B si lega in posizione 2 a loro volta possono essere suddivisi in sei sottogruppi sulla base delle caratteristiche strutturali dell'anello C: flavoni, flavonoli, flavanoni, flavanonoli, flavanoli o catechine ed antociani (Figura 2).

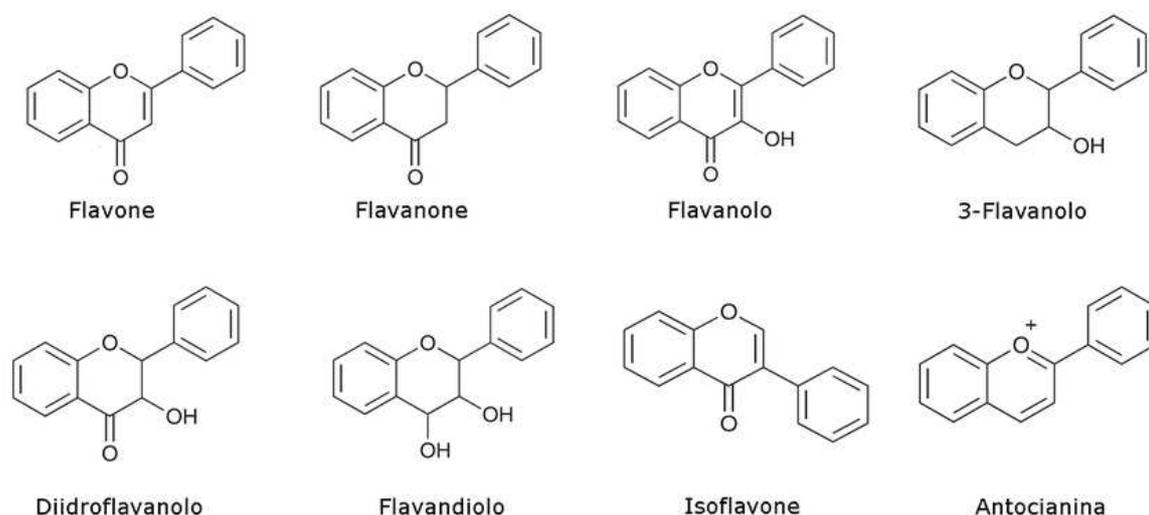


Figura 2. Struttura chimica di alcuni flavonoidi.

Nella letteratura scientifica sono riportati numerosissimi studi, la maggior parte svolti in vitro, che attribuiscono a tali composti organici, una volta ingeriti dall'uomo, diverse attività nel miglioramento dello stato di salute, come ridurre lo stress ossidativo e l'infiammazione (Rong et al., 2010).

L'approvvigionamento di molecole polifenoliche avviene esclusivamente attraverso l'alimentazione e varia in base alla dieta alimentare seguita (esistono in commercio anche integratori specifici di polifenoli). Tra le varie abitudini alimentari, la dieta delle popolazioni dell'Asia orientale e la dieta mediterranea ricoprono un importante ruolo nell'assunzione dei polifenoli. Le popolazioni asiatiche seguono un regime alimentare ricco di prodotti a base di soia e legumi, noti per il loro elevato contenuto in polifenoli.

I composti polifenolici si trovano nei vegetali, nella frutta, verdura, cereali, legumi e in molti alimenti, cioccolato, vino, tè e caffè, tutti alimenti comuni alla MeDi. A titolo di esempio, sono state individuate le principali 100 fonti di polifenoli, e queste sostanze sono risultate particolarmente presenti ad elevata concentrazione nelle spezie e nelle erbe aromatiche (J Perez et al., 2010).

In tabella 4 sono indicati i principali alimenti che contengono flavonoidi.

CLASSE	COMPOSTO	ALIMENTO
Isoflavoni	Genisteina Daidzeina	Legumi Legumi
Flavoni	Rutina Luteolina Crisina Apigenina Esperedina Tangeretina	Cipolle, mele, uva, broccoli, thè. Limone, olive, sedano. Buccia della frutta. Sedano, prezzemolo. Arance. Agrumi.
Flavonoli	Quercetina Miricetina Kemferolo	Thè, cipolle, broccoli, fagioli, cereali, mele, uva. Uva. Indivia, broccoli, thè.
Antocianine	Enina Cianidina Delfinidina	Uva nera e vino rosso. Uva, lamponi, fragole. Melanzane.
Flavanoli	Catechina Epicatechina Epigallocatechina	Mele, thè, vino, cioccolato, cereali integrali. Uva nera, vino rosso, legumi. Mele, thè, vino, cioccolato, legumi.
Flavanoni	Naringinina Taxifolina	Buccia degli agrumi. Agrumi.

*Tab 4. Flavonoidi contenuti nei principali alimenti.*

I flavonoli sono molecole prive di colore che si accumulano principalmente nei tessuti esterni ed aerei, quindi in buccia ed in foglie di frutta e verdura, poiché la loro biosintesi è stimolata dalla luce solare, mentre sono assenti nella polpa. I flavonoli più diffusi negli alimenti sono la quercetina e kampferolo (Yao L. H. et al. 2004), contenuti principalmente in frutta, verdura, e bevande quali il thè ed il vino rosso. La fonte più ricca è rappresentata dai capperi, che ne contengono fino a 490 mg/100 g di peso fresco, ma sono contenuti anche in cipolle, cavolo riccio, broccoli, porri, frutti di bosco, uva ed in alcune erbe

aromatiche e spezie, dove il contenuto varia da 10 a 100 mg/100 g di peso fresco (Slimestad R. et al. 2007). Anche il cacao, il thè (sia verde che nero), ed il vino rosso, ne sono ricchi.

I flavanoni sono abbondanti in pomodori ed in piante aromatiche come la menta, ma sono presenti in concentrazioni elevate solo negli agrumi (He D. et al. 2011).

I flavoni, come apigenina e luteolina, si trovano prevalentemente in sedano, prezzemolo ed in molte erbe aromatiche. Anche alcuni cereali come il miglio ed il grano contengono C-glicosidi di flavoni (Brazier-Hicks M. et al. 2009).

Gli isoflavoni hanno una distribuzione tassonomica limitata, trovandosi quasi esclusivamente nelle piante appartenenti alla famiglia delle Leguminose o Fabacee, in particolare nella soia. che ne contiene tra 580 e 3800 mg/kg di peso fresco, mentre il contenuto di isoflavoni nel latte di soia è compreso tra 30 e 175 mg/L. Gli isoflavoni sono presenti anche nei fagioli e nelle fave, ma in concentrazioni minori rispetto a quelle della soia e dei prodotti derivati (Mazur W. M. et al. 1998).

I flavanoli, come le catechine, sono contenuti in molte varietà di frutta, quali le albicocche, che ne contengono circa 250 mg/kg di peso fresco. Sono anche presenti nel vino rosso (fino a 300 mg/L), ma il thè verde ed il cioccolato sono

di gran lunga le fonti più ricche. Un infuso di tè verde contiene fino a 200 mg/L di catechine (Manach C. et al. 2004).

Gli antociani sono pigmenti solubili in acqua, per cui essi sono disciolti nella linfa vacuolare dei tessuti epidermici di fiori e frutta, e sono responsabili dei colori della maggior parte dei petali, della frutta e verdura, e di alcune varietà di cereali come il riso nero. Sono contenuti in melanzane, cavoli, fagioli, cipolle, ravanelli e nel vino. Il contenuto negli alimenti è proporzionale all'intensità del colore e può raggiungere valori fino a 2-4 g/kg di peso fresco, ad esempio nel ribes nero o nelle more (Clifford M.N. 2000).

Alla luce di tutti questi dati possiamo affermare che i polifenoli, e in particolare i flavonoidi, rappresentano una classe di composti bioattivi con straordinarie potenzialità terapeutiche. Le loro proprietà antiossidanti e antinfiammatorie, insieme alla loro capacità di modulare diverse vie metaboliche e di segnalazione, li rendono cruciali nella prevenzione e nella gestione di diverse patologie croniche, e che la ricerca futura potrebbe focalizzarsi sulla comprensione dei meccanismi molecolari alla base dei loro effetti benefici e sull'ottimizzazione delle strategie di assunzione alimentare per massimizzare i loro benefici per la salute umana.

## **2. SCOPO DELLA TESI**

Seguire uno stile di vita alimentare conforme ai principi della MeDi rappresenta un punto cruciale, integrando la prevenzione del benessere fisico con la sostenibilità ambientale, economica e sociale. Con il crescente numero di diagnosi di Alzheimer e altre demenze, è essenziale approfondire la comprensione di queste patologie. L'AD comporta un significativo disagio psicofisico per i pazienti e un impatto psicologico per le famiglie, oltre a rappresentare un peso economico e sociale per il sistema sanitario nazionale. Pertanto, è fondamentale indirizzare le risorse verso la ricerca di metodi semplici ed efficaci per prevenire queste malattie.

Promuovere un'alimentazione sana è cruciale per prevenire patologie croniche. La MeDi, intesa come stile di vita piuttosto che come semplice elenco di nutrienti, ha dimostrato benefici per la salute, incluso il miglioramento della funzione cognitiva. Numerosi studi indicano che l'aderenza alla MeDi è associata a migliori performance cognitive, un minor declino cognitivo e una riduzione del rischio di sviluppare MCI e AD.

Infatti, un modello alimentare basato su verdure, pesce, legumi, cereali, frutta e carne prevalentemente bianca, tipico delle nostre zone e di alcuni paesi asiatici quali Cina, Giappone e India, svolgerebbe un'azione protettiva, tanto da contrastare l'avanzamento del declino cognitivo. Ma abbasserebbe anche il rischio di contrarre comorbidità, prime fra tutte diabete e obesità.

Quindi, la presente tesi è volta a verificare l'aderenza, o meno, alla MeDi e la sostenibilità ambientale dei regimi alimentari seguiti dai pazienti con AD e MCI all'esordio di malattia.

Ai soggetti in studio sono stati somministrati questionari semiquantitativi per valutare l'aderenza alla MeDi e la sostenibilità ambientale della dieta. Inoltre, nei campioni di plasma sono state effettuate misurazioni di fitonutrienti come polifenoli e flavonoidi, caratteristici della MeDi, insieme al test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) per valutare la capacità antiossidante del plasma stesso.

Non ci sono cibi che da soli possano considerarsi anti-Alzheimer ma, da numerose ricerche scientifiche, è emerso che buone abitudini alimentari e uno stile di vita sano (comportamenti salutari verso un consumo di fumo o alcool, alimentazione corretta, attività motoria regolare, socializzazione, attività cognitiva) possono essere i primi fattori che riducono il rischio di sviluppare l'Alzheimer, demenze vascolari, malattie cardiovascolari e croniche.

Mangiare sano e bene aiuta a mantenere in salute il cervello e a controllare i fattori di rischio; la MeDi è forse il regime alimentare che più di altri riunisce in sé questi ingredienti.

### **3. MATERIALI E METODI**

### **3.1 RECLUTAMENTO PAZIENTI E TEST DIAGNOSTICI**

Lo studio, di tipo osservazionale retrospettivo, ha coinvolto una coorte di 90 soggetti con un'età media di  $76.9 \pm 8.7$  anni, composta da 37 uomini (età media  $76.0 \pm 11.0$ ) e 53 donne (età media  $77.0 \pm 9.0$ ). I pazienti sono stati visitati presso la Clinica Neurologica degli Ospedali Riuniti di Ancona tra novembre 2022 e marzo 2023. Durante il processo diagnostico, è stata raccolta un'anamnesi iniziale, inclusa l'informazione sul livello di istruzione. I pazienti sono stati valutati mediante test diagnostici per Alzheimer (AD) e Mild Cognitive Impairment (MCI). Sono stati somministrati test neuropsicologici, come il Mini Mental State Examination (MMSE), per esaminare i vari domini cognitivi di ciascun paziente. Questi test hanno permesso di distinguere i soggetti con AD, caratterizzati da gravi alterazioni in più domini cognitivi, dai soggetti con MCI, che presentavano lievi alterazioni in un singolo dominio cognitivo. Inoltre, sono stati eseguiti esami ematochimici per la diagnostica differenziale e per individuare eventuali patologie concomitanti. Sono state misurate le concentrazioni di colesterolo totale, HDL, LDL, acido folico, vitamina B12, omocisteina e il profilo APOE.

Lo studio ha ricevuto l'approvazione del Review Board dell'Università Politecnica delle Marche, e ogni partecipante ha fornito un consenso informato per l'arruolamento.

### **3.2. QUESTIONARIO DI ADERENZA ALLA MEDI**

Ai pazienti è stato chiesto di completare il questionario di Aderenza alla MeDi chiamato Medi-Lite (Sofi et al., 2017). Con l'aiuto dei loro familiari o tutori, è stato possibile rispondere a tutte le domande del questionario. Il Medi-Lite è stato creato con l'obiettivo di offrire uno strumento pratico e di facile utilizzo per valutare l'aderenza alla dieta Mediterranea, basandosi su ampi dati scientifici presenti in letteratura. Il nome Medi-Lite deriva dalla fusione dei termini Mediterranean e Literature, indicando che il questionario è fondato su risultati derivati dalla ricerca scientifica. Il questionario comprende 9 semplici domande relative al consumo giornaliero o settimanale di 9 gruppi alimentari (*Figura 3*). Ogni domanda si focalizza su un gruppo alimentare, suddiviso in tre categorie di consumo, a ciascuna delle quali viene assegnato un punteggio. Specificamente, il punteggio per il consumo giornaliero e/o settimanale di alimenti tipici della MeDi (frutta, verdura, cereali, legumi e pesce) è differente rispetto a quello per alimenti non tipici (carne e prodotti a base di carne, latticini). Per gli alimenti tipici della MeDi, sono stati attribuiti 2 punti alla categoria di consumo più alta, 1 punto alla categoria intermedia e 0 punti alla categoria più bassa. Invece, per gli alimenti non tipici della MeDi, sono stati assegnati 2 punti al consumo più basso, 1 punto al consumo intermedio e 0 punti al consumo più elevato. Per l'alcol, sono state utilizzate le categorie

relative alle unità alcoliche (1 unità alcolica = 12 g di alcol), assegnando 2 punti alla categoria media (1-2 unità alcoliche al giorno), 1 punto alla categoria più bassa (1 unità alcolica al giorno) e 0 punti alla categoria di consumo più alta (>2 unità alcoliche al giorno). Infine, sono stati attribuiti 2 punti per l'uso regolare dell'olio d'oliva, 1 punto per l'uso frequente e 0 punti per l'uso occasionale. Il punteggio finale, variabile da 0 a 18, permette di classificare i pazienti in tre livelli di aderenza: Bassa aderenza (BA) per i punteggi da 0 a 9, Media aderenza (MA) per i punteggi da 10 a 15, e Alta aderenza (AA) per i punteggi da 16 a 18.

### Qual è il consumo dei seguenti gruppi alimentari?

Questionario di aderenza alla dieta Mediterranea

<b>FRUTTA</b> <i>1 porzione: 150 g (esempio: 1 mela, pera, arancia; 3 prugne, mandarini)</i>	<1 porzione/die	1-2 porzioni/die	>2 porzioni/die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>VERDURA</b> <i>1 porzione: 100 g (esempio: 1 piatto di insalata; 2 pomodori; ½ rascetta di verdura cotta)</i>	<1 porzione/die	1-2,5 porzioni/die	>2,5 porzioni/die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>LEGUMI</b> <i>1 porzione: 70 g (esempio: ½ scatoletta di fagioli o ceci o lenticchie o piselli)</i>	<1 porzione/sett.	1-2 porzioni/sett.	>2 porzioni/sett.	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>CEREALI</b> (pane, pasta, biscotti etc.) <i>1 porzione: 130 g (Esempi: 1 porzione pasta: 80 g; 4 biscotti frollini: 50 g)</i>	<1 porzione/die	1-1,5 porzioni/die	>1,5 porzioni/die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>PESCE</b> (eccetto molluschi e crostacei) <i>1 porzione: 100 g</i>	<1 porzione/sett.	1-2,5 porzioni/sett.	>2,5 porzioni/sett.	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>CARNE E SALUMI</b> <i>1 porzione: 80 g (Esempi: 1 porzione carne: 100 g; 1 porzione salumi: 50 g (esempio: ½ rascetta prosciutto))</i>	<1 porzione/die	1-1,5 porzioni/die	>1,5 porzioni/die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>LATTE E LATTICINI</b> <i>1 porzione: 180 g (Esempi: 1 tazza di latte: 150 g; 1 yogurt: 125)</i>	<1 porzione/die	1-1,5 porzioni/die	>1,5 porzioni/die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>ALCOL</b> <i>1 U.A. = 1 bicchiere di vino; 1 lattina birra</i>	<1 U.A./die	1-2 U.A./die	>2 U.A./die	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>OLIO D'OLIVA</b>	Occasionalmente	Frequentemente	Regolarmente	<b>Totale:</b>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>

Adattato da Sofi et al., Public Health Nutr 2014

*Figura 3. Questionario MediLite con 9 domande riguardo le frequenze di consumo degli alimenti descritti in ciascuna riga. Consumi su base settimanali sono valutati per legumi e pesce. Consumi su base giornaliera sono valutati per frutta, verdura, cereali, carne/salumi, latte/latticini, alcol e olio d'oliva.*

### **3.3 QUESTIONARIO DI SOSTENIBILITÀ AMBIENTALE**

Come già affermato, la MeDi rappresenta un modello alimentare sostenibile e il ridotto impatto ambientale, economico e sociale dello stile di vita mediterraneo avvalorano i numerosi benefici in termini di salute. Nello studio si è ritenuto importante valutare questa dimensione attraverso un questionario, il quale consente di stabilire se il regime alimentare dei soggetti esaminati sia una scelta sostenibile o non sostenibile per l'ambiente (Ruggeri et al., 2022). In questo contesto i gruppi alimentari validati sono 8 e comprendono frutta, verdura, cereali, legumi, pesce, carne e prodotti a base di carne, latte e latticini, e olio d'oliva. Per ognuno di essi viene chiesto il consumo su base giornaliera o settimanale (*Figura 4*). Il punteggio totale della dieta sostenibile (SUS) va da 0 (nessuna aderenza) a 8 (alta aderenza) ed è stato suddiviso in tre classi sulla base della distribuzione del punteggio: Bassa aderenza alla Sostenibilità (BS) per un punteggio da 0 a 3, Media aderenza alla Sostenibilità (MS) per un

punteggio di 4 e Alta aderenza alla Sostenibilità (AS) per un punteggio da 5 a 8.

Cereali e prodotti a base di cereali (compresi gli integrali, esclusi i dolci)	<1 porzione/giorno 0	1-1.5 porzione/giorno 0	>1.5 porzione/giorno 1
Legumi	<1 porzione/settimana 0	1-2 porzione/settimana 0	>2 porzione/settimana 1
Verdure fresche	<1 porzione/giorno 0	1-2.5 porzione/giorno 1	>2.5 porzione/giorno 1
Frutta fresca	<1 porzione/giorno 0	1-2 porzione/giorno 1	>2 porzione/giorno 0
Latticini	<1 porzione/giorno 0	1-1.5 porzione/giorno 1	>1.5 porzione/giorno 0
Pesce e prodotti ittici (esclusi molluschi e crostacei)	<1 porzione/settimana 0	1-2.5 porzione/settimana 1	>2.5 porzione/settimana 1
Carne e prodotti a base di carne	<1 porzione/giorno 1	1-1.5 porzione/giorno 0	>1.5 porzione/giorno 0
Olio d'oliva	Consumo Occasionale (<5 cucchiaini/giorno) 0	Consumo Regolare (circa 4-5 cucchiaini/giorno) 1	Consumo Frequente (>4 cucchiaini/giorno) 0

*Figura 4. Questionario MedQ-Sus con 8 domande riguardo le frequenze di consumo degli alimenti descritti in ciascuna riga. Consumi su base settimanali sono valutati per legumi e pesce. Consumi su base giornaliera sono valutati per frutta, verdura, cereali, carne/salumi, latte/latticini e olio d'oliva.*

### 3.4 METODICHE DI LABORATORIO: DOSAGGIO MARKERS

#### PLASMATICI

L'analisi dei campioni di plasma dei soggetti studiati è stata condotta presso il laboratorio di Biochimica Medica e della Nutrizione del Dipartimento di Scienze Cliniche Specialistiche e Odontostomatologiche dell'Università Politecnica delle Marche. Le sostanze analizzate, ovvero i polifenoli plasmatici, i flavonoidi plasmatici e la capacità antiossidante misurata tramite

ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), forniscono un indicatore delle sostanze antiossidanti che può essere associato all'assunzione alimentare in base all'aderenza alla MeDi.

### **3.4.1 DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI POLIFENOLI**

#### **TOTALI PLASMATICI**

Il contenuto di polifenoli totali nel plasma dei soggetti reclutati è stato misurato utilizzando il metodo Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1965), con alcune modifiche apportate seguendo lo studio di Wruss et al. (2015). Per la determinazione della curva standard, è stata preparata una soluzione stock di acido gallico a concentrazione 1 mg/ml, dissolvendo 10 mg di acido gallico in 10 ml di acqua distillata, e da essa sono state preparate 5 diluizioni. L'assorbanza di ciascun campione e degli standard è stata misurata a 765 nm utilizzando un lettore di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek). I risultati dei livelli di polifenoli nei campioni sono espressi in mg equivalenti di acido gallico (GAE)/ml di campione.

### **3.4.2 DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI FLAVONOIDI PLASMATICI**

Il contenuto di flavonoidi nel plasma dei soggetti reclutati è stato determinato utilizzando il metodo del Cloruro di Alluminio descritto da Smirnova et al. nel 1998, con l'apporto di alcune modifiche. La soluzione per la creazione della curva standard è stata preparata con Epicatechina. Dopo aver incubato le provette contenenti lo standard e i campioni con i reattivi (nitrito di sodio al 5%, cloruro di alluminio al 10% e idrossido di sodio al 4%) per circa 10 minuti a temperatura ambiente, l'assorbanza è stata misurata a 415 nm utilizzando un lettore di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek). I risultati sono espressi in mg equivalenti di catechina (CAE) per ml di campione.

### **3.4.3. VALUTAZIONE DEL POTERE ANTIOSSIDANTE SECONDO LA METODICA ORAC**

La valutazione dell'attività antiossidante del plasma è stata effettuata utilizzando il saggio ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Questo metodo si basa sulla capacità degli antiossidanti presenti nel campione di proteggere una molecola bersaglio dall'ossidazione indotta da radicali perossilici, utilizzando la fluoresceina (FL) come sonda fluorescente e l'AAPH come agente ossidante. L'AAPH è un azocomposto idrosolubile che,

decomponendosi a 37°C, produce radicali perossilici a una velocità costante. La FL, una volta eccitata a 485 nm, emette fluorescenza a 530 nm. L'ossidazione della FL da parte dei radicali perossilici provoca una diminuzione della fluorescenza. Gli antiossidanti nei campioni neutralizzano questi radicali, proteggendo la FL e ritardando il decadimento della fluorescenza. Il potere antiossidante del campione viene determinato calcolando la differenza tra le aree sotto la curva (AUC) di decadimento della fluorescenza della FL del campione e del bianco senza antiossidanti aggiunti:

$$\text{AUC} = \text{AUC campione} - \text{AUC bianco}$$

Questo parametro è proporzionale alla quantità di antiossidanti presenti nel campione. I risultati sono espressi in micromoli equivalenti di Trolox (TE). Il Trolox, un analogo idrosolubile della vitamina E, è usato come standard. Il saggio ORAC è stato eseguito con un lettore di micropiastre. Le micropiastre sono state caricate con soluzioni contenenti: 25 µl di PBS (75 mM) o Trolox (standard) o campione, 150 µl di FL e 25 µl di AAPH. Il decadimento della fluorescenza della FL è stato monitorato per 3 ore. La velocità di decadimento della fluorescenza in presenza di ROS è stata confrontata con la capacità antiossidante del Trolox, utilizzando concentrazioni tra 5 µM e 300 µM (Magalhães et al., 2008).

### 3.5 ANALISI STATISTICA

Le analisi sui campioni di plasma sono state eseguite in doppio, e i risultati sono stati espressi come Media  $\pm$  Deviazione Standard. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il test t di Student a due variabili indipendenti (T-test a due code) con il pacchetto statistico SAS (Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA). Le variabili quantitative analizzate includono le medie delle concentrazioni plasmatiche di polifenoli, flavonoidi e le misurazioni ORAC, valutate per ciascuna classe di aderenza (Alta, Media e Bassa) in relazione all'AD o al MCI. Ogni valore è stato confrontato prima tra le diverse classi di aderenza per la stessa malattia (AD o MCI), poi tra le stesse classi di aderenza per malattie differenti.

Per lo studio della sostenibilità, sono stati utilizzati grafici a torta per confrontare facilmente le diverse classi di sostenibilità (Bassa, Media e Alta) tra i pazienti con AD e quelli con MCI. Il livello di significatività è stato fissato a *p-value* < 0.05.

## **4. RISULTATI**

#### 4.1. CARATTERISTICHE DEI SOGGETTI RECLUTATI

Il presente studio ha coinvolto una coorte di 90 soggetti (età media  $76.9 \pm 8.7$ ), di cui 37 Maschi (età media  $76.0 \pm 11.0$ ) e 53 Femmine (età media  $77.0 \pm 9.0$ ). Alla fine del percorso diagnostico è emerso che diversi soggetti non rientravano nello spettro dell'AD e MCI, ma erano riconducibili ad altri disturbi come Malattia di Parkinson, Demenza a Corpi di Lewy, Disturbo soggettivo di memoria, Demenza Frontotemporale e esiti da trauma cranico. Pertanto il campione finale è risultato essere costituito da 29 pazienti con Malattia di Alzheimer (età media  $77.0 \pm 7.0$  anni), di cui 18 Femmine (età media  $79.0 \pm 6.3$  anni) e 11 Maschi (età media  $75.0 \pm 6.33$  anni), e 25 pazienti con Lieve Deterioramento Cognitivo (età media  $78.0 \pm 8.0$  anni), di cui 18 Femmine (età media  $79.0 \pm 9.2$  anni) e 7 Maschi (età media  $77.0 \pm 6.4$  anni). I 29 pazienti AD e i 25 pazienti MCI rappresentano il campione di studio, estratto dalla coorte di pazienti arruolati inizialmente.

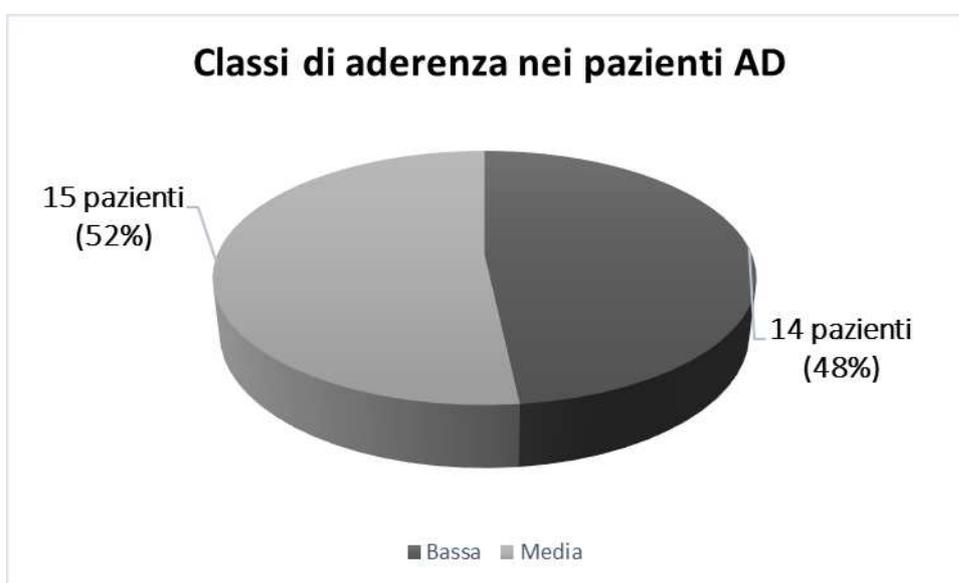
Le caratteristiche dei pazienti arruolati sono riassunte nella *Tabella 4.1*.

	<b>Pazienti AD (N°=29)</b>	<b>Pazienti MCI (N°=25)</b>	<b>p</b>
Età media (anni)	77.0±7.0	78.0±8.0	NS
M/F	11/18	7/18	NS
Scolarità (anni)	6.3±3.3	7.8±4.1	NS
Colesterolo (mg/dL)	181.6±8.4	202.3±6.5	<0.05
HDL(mg/dL)	54.0±2.5	60.3±6.2	NS
LDL(mg/dL)	113.0±2.3	113.0±3.3	NS
Vit B12(pg/mL)	289.6±8.6	292.5±7.5	NS
Acido folico (ng/mL)	9.3±1,1	7.6±0.8	0.05
Omocisteina (µmol/L)	17.7±5.6	22.4±8.3	0.05

***Tabella 4.1. Caratteristiche dei pazienti arruolati***

#### 4.1 RISULTATI DEL QUESTIONARIO SULL'ADERENZA ALLA MEDI

Dalle risposte ottenute tramite il questionario MediLite, è emerso che tra i 29 soggetti con AD, 14 (48%) hanno mostrato una bassa aderenza (BA), di cui 10 femmine e 4 maschi. Gli altri 15 pazienti con AD (52%), di cui 8 femmine e 7 maschi, hanno presentato una media aderenza (MA). Nessuno dei soggetti con AD ha raggiunto un'alta aderenza (*Figura 5*). Per quanto riguarda i 25 soggetti con MCI, 15 (60%) hanno mostrato una bassa aderenza (11 femmine e 4 maschi), mentre i restanti 10 soggetti con MCI (40%) hanno presentato una media aderenza. Anche tra i pazienti con MCI, nessuno ha raggiunto un punteggio di alta aderenza (*Figura 6*).



*Figura 5.* Classi di aderenza alla MeDi nei pazienti AD in base ai risultati di MediLite.



*Figura 6.* Classi di aderenza alla MeDi nei pazienti MCI in base ai risultati di MediLite.

#### **4.2 CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE DEGLI AGENTI ANTIOSSIDANTI IN DIVERSE CLASSI DI ADERENZA NEI PAZIENTI AD**

##### *Polifenoli*

La concentrazione media di polifenoli nei soggetti con AD è risultata essere  $0.65 \pm 0.07$  mg eq di acido gallico/ml. Nei soggetti AD con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è stata di  $0.67 \pm 0.07$  mg eq di acido gallico/ml. Nei soggetti AD con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è risultata essere  $0.63 \pm 0.07$  mg eq di acido gallico/ml. La differenza tra i due gruppi è risultata essere statisticamente significativa ( $p < 0.02$ ) (*Figura 7*).

### *Flavonoidi*

La concentrazione media totale di flavonoidi è risultata essere  $120.8 \pm 40.3$   $\mu\text{g}$  eq di catechina/ml. Nei soggetti AD con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di flavonoidi è stata di  $130.94 \pm 49.7$   $\mu\text{g}$  eq di catechina/ml. Nei soggetti AD con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di flavonoidi è risultata essere  $112.03 \pm 30.48$   $\mu\text{g}$  eq di catechina/ml. La differenza tra le medie dei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.08$ ) (*Figura 8*).

### *ORAC*

La misurazione media totale ORAC è risultata essere  $13181.0 \pm 3486,6$  Trolox equivalenti. Nei soggetti AD con bassa aderenza alla MeDi, la misurazione ORAC è risultata essere  $12788.8 \pm 3197,1$  Trolox equivalenti. Nei soggetti AD con media aderenza alla MeDi, la misurazione ORAC è risultata essere  $13276.9 \pm 3787.6$  Trolox equivalenti. La differenza tra le medie dei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.6$ ) (*Figura 9*).

### **4.3 CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE DEGLI AGENTI ANTIOSSIDANTI IN DIVERSE CLASSI DI ADERENZA NEI PAZIENTI MCI**

#### *Polifenoli*

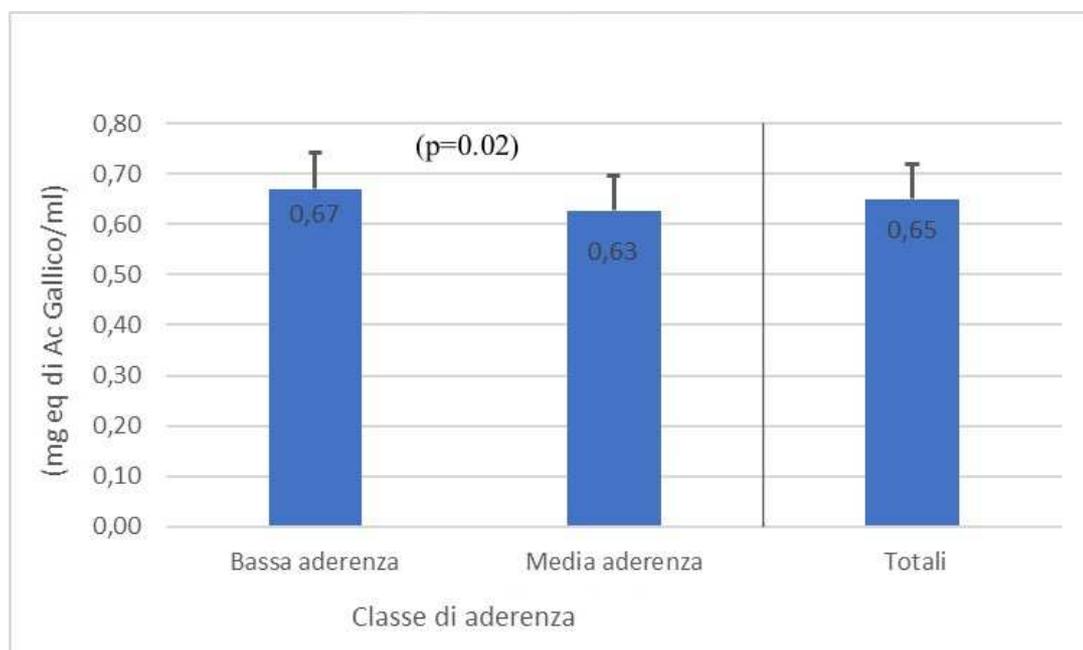
La concentrazione media di polifenoli nei soggetti MCI è risultata essere  $0.68 \pm 0.09$  mg eq di acido gallico/ml. Nei soggetti MCI con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è stata di  $0.67 \pm 0.08$  mg eq di acido gallico/ml. Nei soggetti MCI con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è risultata essere  $0.69 \pm 0.11$  mg eq di acido gallico/ml. La differenza tra le medie dei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.5$ ) (*Figura 10*).

#### *Flavonoidi*

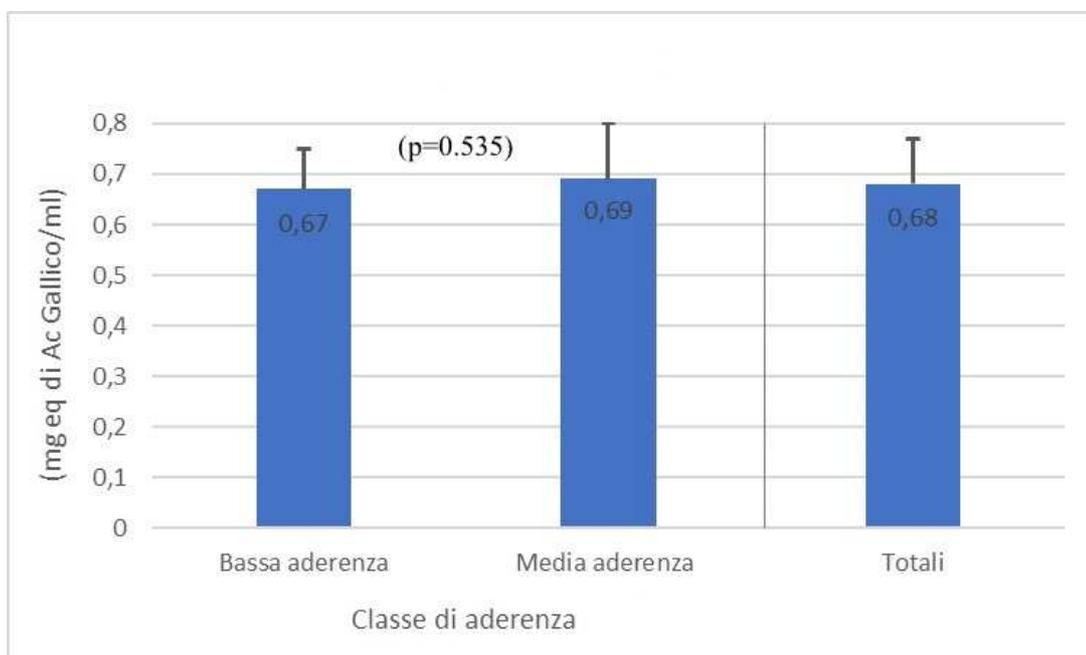
La concentrazione media totale di flavonoidi nei soggetti MCI è risultata essere  $106.8 \pm 18.04$   $\mu$ g eq di catechina/ml. Nei soggetti MCI con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di flavonoidi è stata di  $108.23 \pm 20.19$   $\mu$ g eq di catechina/ml. Nei soggetti MCI con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di flavonoidi è risultata essere  $105.46 \pm 16.08$   $\mu$ g eq di catechina/ml. La differenza tra le medie dei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.59$ ) (*Figura 11*).

## ORAC

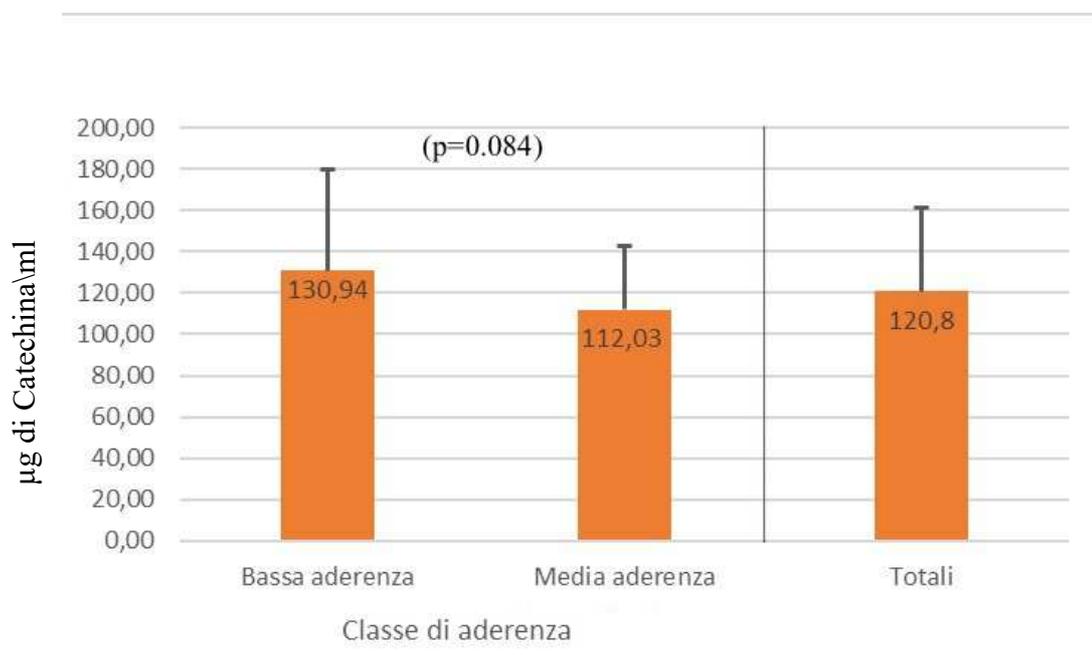
La misurazione media totale ORAC (considerando sia i soggetti con bassa che media aderenza) è risultata essere  $14642.8 \pm 4418.7$  Trolox equivalenti. Nei soggetti MCI con bassa aderenza alla MeDi, la misurazione ORAC è stata di  $13885.01 \pm 3642.87$  Trolox equivalenti. Nei soggetti MCI con media aderenza alla MeDi, la misurazione ORAC è risultata essere  $14676.7 \pm 4372.94$  Trolox equivalenti. La differenza tra le medie dei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.5$ ) (*Figura 12*).



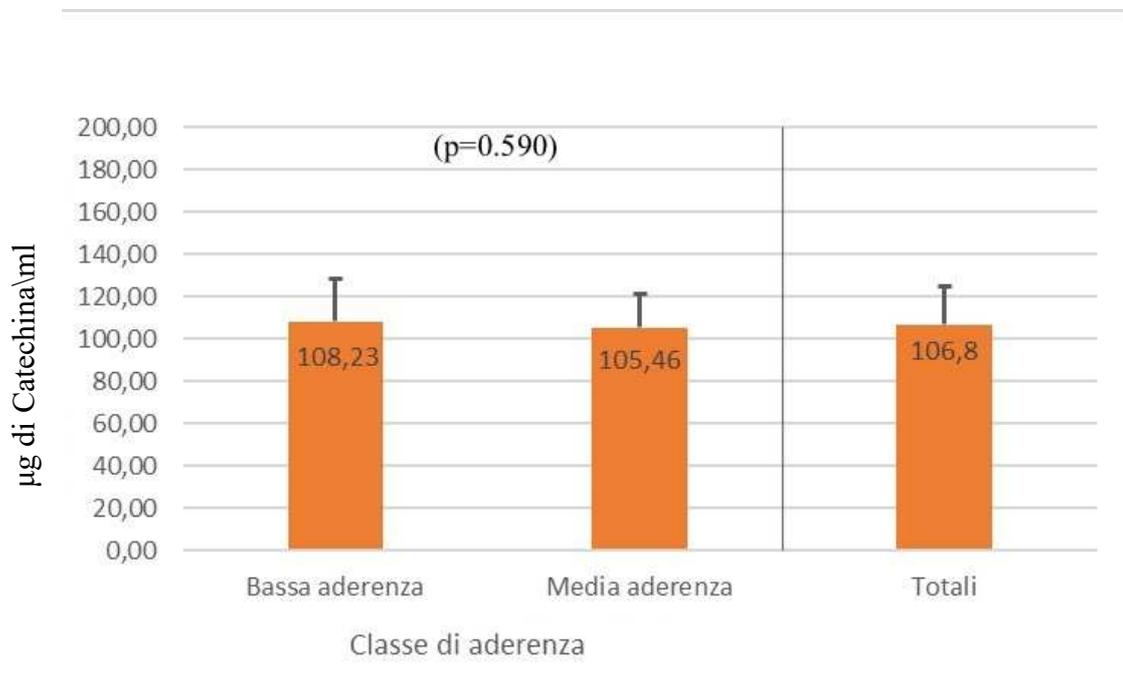
*Figura 7.* Concentrazione Medie dei Polifenoli nei pazienti AD.



*Figura 10.* Concentrazione Medie dei Polifenoli nei pazienti MCI.



*Figura 8.* Concentrazioni medie dei Flavonoidi nei pazienti AD.



*Figura 11.* Concentrazioni medie dei Flavonoidi nei pazienti MCI.

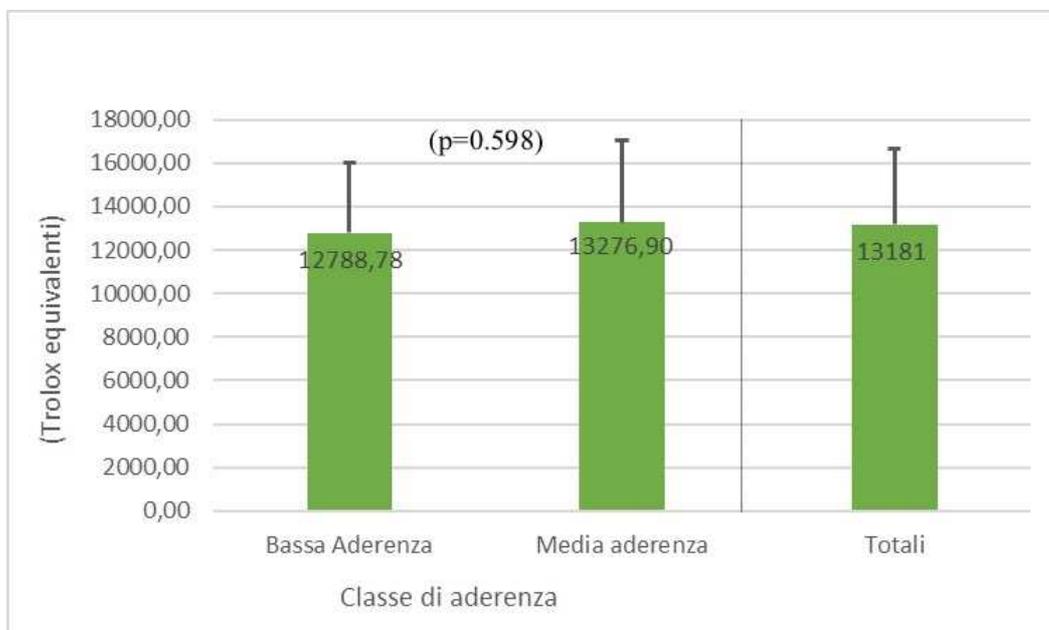


Figura 9. Misurazioni medie ORAC nei pazienti AD.

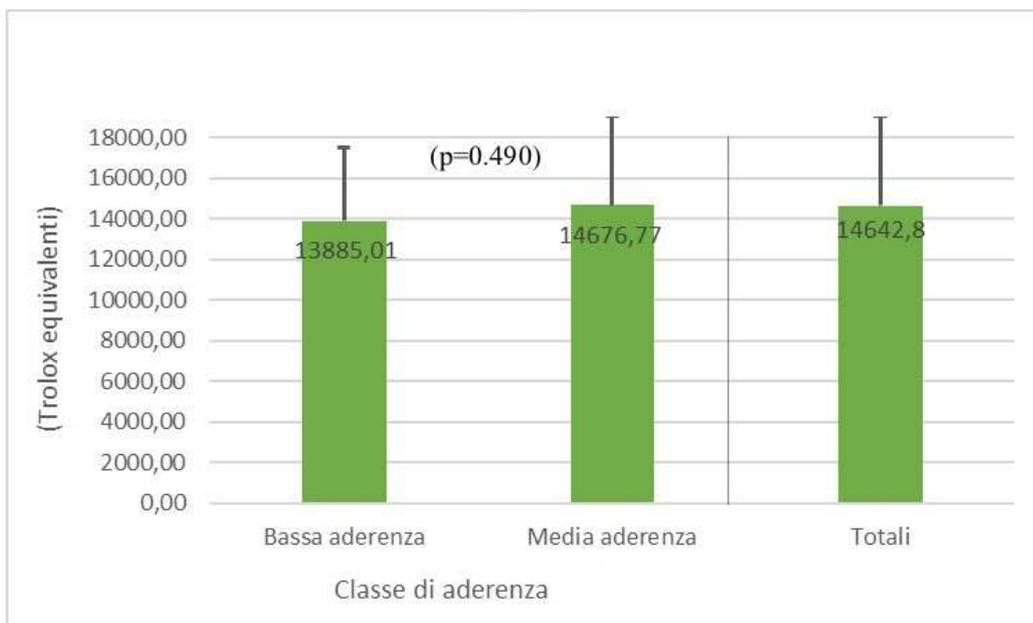


Figura 12. Misurazioni medie ORAC nei pazienti MCI.

#### **4.4 CONFRONTO TRA AD E MCI IN RELAZIONE ALLE CONCENTRAZIONI MEDIE PLASMATICHE DI CIASCUNO AGENTE ANTIOSSIDANTE STUDIATO, ALL'INTERNO DELLA STESSA CATEGORIA DI ADERENZA**

##### *Polifenoli*

Nei pazienti AD con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è risultata di  $0.67 \pm 0.07$  mg eq di acido gallico/ml. Nei pazienti MCI con bassa aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è stata di  $0.67 \pm 0.08$  mg eq di acido gallico/ml. La differenza tra le medie di questi due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.8$ ).

Nei pazienti AD con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di polifenoli è risultata di  $0.63 \pm 0.07$  mg eq di acido gallico/ml, mentre nei pazienti MCI con media aderenza alla MeDi è stata di  $0.69 \pm 0.11$  mg eq di acido gallico/ml. In questo caso, la differenza tra le medie è risultata statisticamente significativa ( $p=0.01$ ). Tuttavia, confrontando le medie totali nei pazienti AD ( $0.65 \pm 0.07$ ) e nei pazienti MCI ( $0.68 \pm 0.09$ ), la differenza non è risultata significativa ( $p=0.175$ ) (*Figura 13*).

### *Flavonoidi*

La concentrazione media di flavonoidi nei pazienti AD con bassa aderenza alla MeDi è risultata di  $130.94 \pm 49.7$   $\mu$ g eq di catechina/ml, mentre nei pazienti MCI con bassa aderenza è stata di  $108.23 \pm 20.19$   $\mu$ g eq di catechina/ml. La differenza tra le medie di questi due gruppi è risultata statisticamente significativa ( $p=0.04$ ). Nei pazienti AD con media aderenza alla MeDi, la concentrazione media di flavonoidi è risultata di  $112.03 \pm 30.48$   $\mu$ g eq di catechina/ml, mentre nei pazienti MCI con media aderenza è stata di  $105.46 \pm 16.08$   $\mu$ g eq di catechina/ml. In questo caso, la differenza tra le medie non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.33$ ). Analizzando le medie totali nei pazienti AD ( $120.8 \pm 40.3$ ) e nei pazienti MCI ( $106.8 \pm 18.0$ ), la differenza non è risultata significativa ( $p=0.115$ ) (*Figura 14*).

## ORAC

La misurazione ORAC nei pazienti AD con bassa aderenza alla MedDiet è risultata di  $12788.78 \pm 3197.09$  Trolox equivalenti, mentre nei pazienti MCI con bassa aderenza è stata di  $13885.01 \pm 3642.87$  Trolox equivalenti. La differenza tra le medie di questi due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.244$ ). Nei pazienti AD con media aderenza alla MedDiet, la misurazione ORAC è risultata di  $13276.90 \pm 3787.65$  Trolox equivalenti, mentre nei pazienti MCI con media aderenza è stata di  $14676.77 \pm 4372.94$  Trolox equivalenti. Anche in questo caso, la differenza tra le medie non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.213$ ). Confrontando le medie totali nei pazienti AD ( $13181.0 \pm 3486.0$ ) e nei pazienti MCI ( $14642.8 \pm 4418.7$ ), la differenza è risultata significativa ( $p=0.05$ ) (Figura 15).

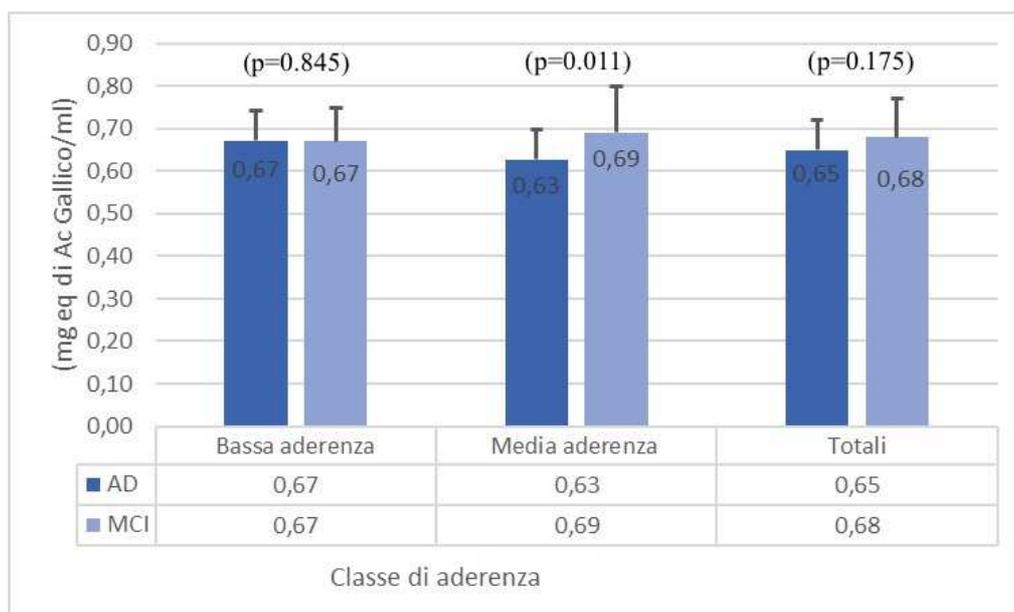
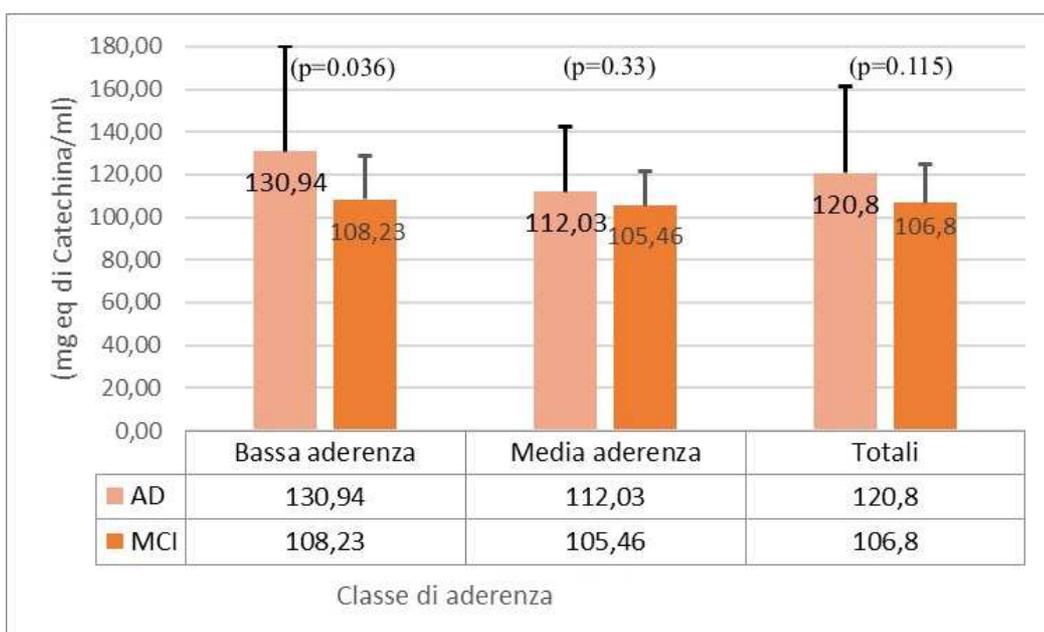
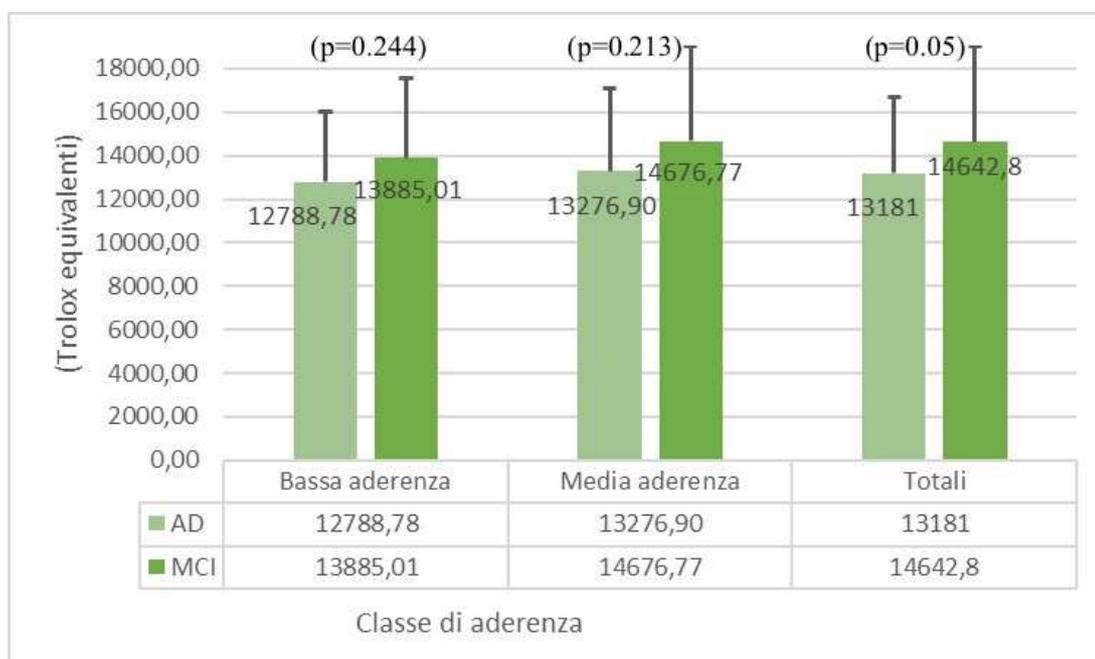


Figura 13. Concentrazioni Medie dei Polifenoli nei pazienti AD vs MCI.



*Figura 14.* Concentrazioni Medie dei Flavonoidi nei pazienti AD vs MCI.



*Figura 15.* Misurazioni Medie ORAC nei pazienti AD vs MCI.

#### 4.5 RISULTATI QUESTIONARIO MEDQ-SUS: CONFRONTO TRA SOGGETTI AD E MCI TRA LE DIVERSE CLASSI DI SOSTENIBILITÀ

Dai risultati del questionario MedQ-Sus, è emerso che su 29 pazienti AD, 17 (59%) hanno mostrato una bassa sostenibilità (BS) con punteggi tra 0 e 3; di questi, 9 erano donne e 8 uomini. Inoltre, 7 pazienti AD (24%), di cui 6 donne e 1 uomo, hanno riportato una media sostenibilità (MS) con un punteggio di 4. Infine, 5 pazienti AD, di cui 3 donne e 2 uomini, hanno raggiunto un'alta sostenibilità (AS) con punteggi compresi tra 5 e 8 (*Figura 16*).



*Figura 16. Misurazione con questionario MedQ-Sus della sostenibilità nei pazienti AD.*

Per quanto riguarda i 25 pazienti MCI, 11 (44%) hanno ottenuto un punteggio di BS, con 9 donne e 2 uomini tra loro. Inoltre, 9 pazienti (36%), tra cui 5 donne e 4 uomini, hanno ottenuto un punteggio di MS. Infine, 5 pazienti MCI, di cui 4 donne e 1 uomo, hanno raggiunto un punteggio di AS (Figura 17).

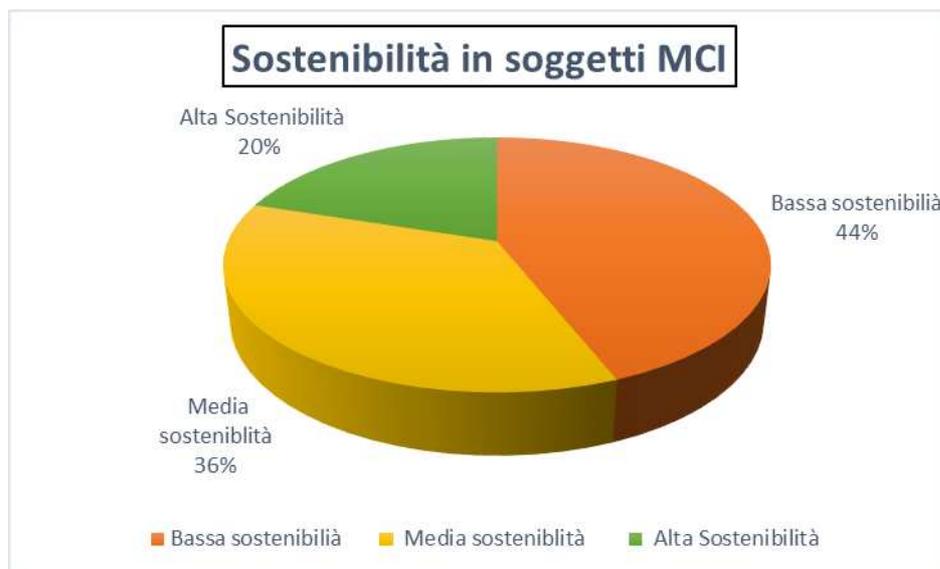


Figura 17. Misurazione con questionario MedQ-Sus della sostenibilità nei pazienti MCI.

## **5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI**

Le malattie neurodegenerative costituiscono una sfida globale sotto il profilo sanitario, sociale ed economico. Circa un terzo dei casi di AD sono legati a fattori di rischio modificabili, come la sedentarietà, il fumo, l'ipertensione, l'obesità e il diabete. Di conseguenza, adottare una dieta sana rappresenta un cambiamento nello stile di vita che può apportare benefici significativi alla salute. La MeDi, intesa come uno stile di vita completo e non solo come un insieme di nutrienti o alimenti, ha dimostrato benefici su vari aspetti della salute, inclusa la funzione cognitiva. Numerosi studi hanno associato l'aderenza alla MeDi con migliori prestazioni cognitive, un rallentamento del declino cognitivo, e una riduzione del rischio di sviluppare il deterioramento cognitivo lieve e la demenza, incluso l'Alzheimer, anche se alcuni dati, risultano spesso discordanti, in parte per motivi di tipo metodologico. Il presente studio ha esaminato l'aderenza alla MeDi e alla sostenibilità ambientale in pazienti con AD e MCI all'inizio della malattia. Questi dati sono stati integrati con misurazioni plasmatiche di fitonutrienti, come polifenoli e flavonoidi, che caratterizzano la MeDi, e con il test ORAC, utilizzato per misurare la capacità antiossidante contro i radicali perossilici.

Dai risultati ottenuti, si è osservato che nei pazienti AD, le concentrazioni plasmatiche di polifenoli erano leggermente inferiori nella classe di soggetti

con media aderenza (MA) rispetto a quella con bassa aderenza (BA), con una differenza statisticamente significativa.

Questo risultato sembra contraddittorio, poiché ci si aspetterebbe che soggetti con una minore aderenza alla MeDi abbiano un contenuto inferiore di polifenoli. Questa discrepanza potrebbe essere dovuta al fatto che il metodo di misurazione potrebbe rilevare anche composti con strutture analoghe ai polifenoli, ma che non appartengono a questa categoria di fitonutrienti, secondo quanto riportato dalla letteratura scientifica (Scalbert et al., 2000). È ormai noto che la misurazione dei composti fenolici totali nei campioni biologici fornisce informazioni preziose per valutare il regime alimentare seguito, l'impatto degli interventi dietetici e delle malattie (Dominguez-López et al., 2023).

Nei pazienti con AD, le concentrazioni plasmatiche dei flavonoidi sono più elevate nei soggetti con bassa aderenza alla dieta mediterranea (BA) rispetto a quelli con media aderenza (MA), anche se questa differenza non è statisticamente significativa. Questo risultato, sebbene non significativo, mostra una tendenza verso valori inferiori nei pazienti con MA. Tuttavia, questa tendenza non si riscontra nelle misurazioni ORAC degli stessi pazienti AD, dove l'indice ORAC è minore nei soggetti con BA rispetto a quelli con MA, anche se la differenza non risulta però significativa.

Nei pazienti con MCI, le concentrazioni plasmatiche dei polifenoli sono leggermente inferiori nei soggetti con BA rispetto a quelli con MA. Questo risultato sembra confermare che una maggiore aderenza alla MeDi corrisponde a una maggiore concentrazione di polifenoli, sebbene la differenza tra le due classi non sia statisticamente significativa. Nei pazienti MCI, le concentrazioni plasmatiche dei flavonoidi sono leggermente più alte nei soggetti con BA rispetto a quelli con MA; similmente, le differenze nelle concentrazioni dei polifenoli e dei flavonoidi nei pazienti MCI non risultano statisticamente significative. Le misurazioni dell'indice ORAC nei pazienti MCI mostrano che il gruppo con BA ha un indice ORAC inferiore rispetto ai soggetti con MA, anche se la differenza non risulta essere significativa.

Altri confronti all'interno della stessa classe di aderenza tra soggetti AD e MCI rivelano che le concentrazioni dei polifenoli nei pazienti AD con BA sono leggermente inferiori rispetto a quelle dei pazienti MCI nella stessa classe, senza una differenza significativa. Tuttavia, le concentrazioni dei flavonoidi nei pazienti AD con BA sono maggiori rispetto ai pazienti MCI nella stessa classe, con una differenza statisticamente significativa.

Questo risultato sembra contraddittorio poiché, in una patologia più grave come l'AD rispetto al MCI, le concentrazioni medie dei flavonoidi sono maggiori nonostante l'aderenza alla dieta sia bassa. Sebbene la differenza dell'indice

ORAC non sia risultata significativa, si può osservare che l'indice ORAC nei soggetti con AD con bassa aderenza alla dieta mediterranea (BA) è inferiore rispetto a quello dei soggetti con MCI con BA; quindi, gli antiossidanti totali sono maggiormente concentrati nei soggetti con una patologia meno grave.

Le concentrazioni dei polifenoli nei pazienti AD con media aderenza sono inferiori a quelle registrate nei pazienti MCI con MA, e questa differenza è statisticamente significativa. Questo risultato è coerente con l'idea che, in una patologia più grave come l'AD, la concentrazione dei polifenoli, importanti antiossidanti, sia minore rispetto ai soggetti con disturbo lieve a parità di aderenza alla MeDi. Le concentrazioni dei flavonoidi nei pazienti AD con MA sono maggiori rispetto ai soggetti MCI nella stessa classe, sebbene questa differenza non sia risultata significativa. Inoltre, l'indice ORAC nei pazienti AD con MA è inferiore rispetto ai soggetti MCI con la stessa aderenza, senza una differenza significativa.

Dall'analisi delle misurazioni medie ORAC, che mostrano un incremento da AD con BA a AD con MA e parallelamente da MCI con BA a MCI con MA, emerge una differenza significativa nelle misurazioni medie totali.

Questo supporta l'ipotesi che i pazienti con un quadro clinico migliore presentano valori ORAC plasmatici più alti.

I risultati ottenuti non confermano pienamente l'obiettivo iniziale di correlare le concentrazioni plasmatiche dei vari antiossidanti con la maggiore o minore aderenza alla MeDi in patologie con differenti gravità. Tuttavia, i risultati più significativi riguardano i polifenoli e l'indice ORAC quando si confrontano le due patologie rispetto alle classi di aderenza alla MeDi. Polifenoli e indice ORAC risultano infatti maggiori nel plasma dei soggetti MCI rispetto agli AD, sia in condizioni di BA che di MA. Questo risultato non può essere confermato per i flavonoidi o all'interno della stessa patologia.

È importante sottolineare che le concentrazioni plasmatiche di polifenoli e flavonoidi possono essere altamente variabili e non sempre precise, come descritto da Scalbert et al. Questo può dipendere dalle metodiche di laboratorio utilizzate o dalla presenza di altri composti con struttura simile ai fenoli. Questi composti potrebbero essere presenti come metaboliti sconosciuti, prodotti nei tessuti o dal colon. Inoltre, dinamiche legate all'assorbimento intestinale e al microbiota possono influenzare la rilevabilità di questi antiossidanti a livello plasmatico. Pertanto, la biodisponibilità dei polifenoli e dei flavonoidi plasmatici non è sempre chiara e quantificabile.

Le donne sono più numerose degli uomini sia nel gruppo AD che MCI, e la loro età media è superiore a quella degli uomini nei rispettivi gruppi. Le donne rappresentano la maggioranza nelle classi AD con BA e MCI con BA,

rispettivamente 11 donne AD con BA contro 4 uomini e 10 donne MCI con BA contro 4 uomini. Nei soggetti AD con MA e MCI con MA, la distribuzione è più equilibrata. La maggiore longevità delle donne e la loro maggiore aspettativa di vita potrebbero spiegare la prevalenza femminile nei gruppi con AD e una dieta meno equilibrata dovuta alle condizioni più critiche dei quadri clinici. Queste osservazioni richiedono ulteriori studi con campioni più ampi e omogenei per genere.

La classe di alta aderenza alla dieta non è presente né nei soggetti AD né nei soggetti MCI. Analizzando i punteggi dei questionari di aderenza, i valori più bassi sono dovuti a un basso consumo di frutta, verdura, legumi e pesce, mentre l'olio d'oliva, l'alcol e la carne sono consumati secondo le linee guida della MeDi. Il basso apporto di frutta e verdura potrebbe spiegare le basse concentrazioni di antiossidanti e l'indice ORAC, essendo questi nutrienti ricchi di sostanze antiossidanti (Prabhu et al., 2021). Raccogliere i punteggi di aderenza alla MeDi di soggetti sani e confrontarli con le concentrazioni plasmatiche di antiossidanti potrebbe offrire nuove prospettive sui benefici della dieta.

Infine, l'analisi della sostenibilità, basata sui risultati del questionario MedQ-Sus, mostra che i pazienti MCI hanno una percentuale più alta di soggetti nelle classi di alta e media sostenibilità rispetto ai pazienti AD.

Sebbene i risultati ottenuti non permettano di definire una chiara relazione tra aderenza alla MeDi nei soggetti AD e MCI, bisogna considerare i diversi limiti dello studio. In primo luogo, il numero limitato di pazienti coinvolti potrebbe non essere corretto da un punto di vista statistico. In secondo luogo, la metodica utilizzata per la determinazione dei polifenoli e dei flavonoidi, come accennato in precedenza, potrebbe non essere la miglior metodica utilizzata dal momento che nel campione potremmo aver quantificato anche altri composti con struttura simile ai fenoli. Questi composti potrebbero essere presenti come metaboliti sconosciuti, prodotti nei tessuti o dal colon; potrebbero dipendere da un diverso assorbimento intestinale e al microbiota che a loro volta potrebbero aver influenzato la rilevabilità di questi fitocomposti a livello plasmatico. Pertanto, la biodisponibilità dei polifenoli e dei flavonoidi plasmatici non sarebbe sempre chiara e quantificabile.

Quindi, nonostante i risultati contrastanti emersi nella presente tesi, numerosi studi epidemiologici (Nucci et al., 2024; Limongi et al., 2020; Coelho-Júnior HJ et al., 2021; van Soest AP et al. 2024; Grant WB et al., 2023) ci suggeriscono che una dieta strutturata con assunzione di verdura fresca, cereali, legumi e la frutta (fresca e secca), insieme al pesce, quantità moderata di vino rosso, ai quali si aggiungono il tè verde ed il caffè, il tutto associato ad un basso consumo di carne e zucchero raffinato, costituisce un regime alimentare ideale

che può abbassare il rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer, con un impatto positivo nel miglioramento delle attività cognitive da una parte, ed un rallentamento della demenza, per chi già ne soffre, dall'altra.

In conclusione, la MeDi rimane un pratico, economico ed ecologico strumento con capacità protettive per MCI e AD.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

- Menotti A, Puddu PE. The role of the Seven Countries Study of cardiovascular diseases in the identification of the Mediterranean diet. *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi* 2014; 5 (4): 3-19.
- Alexandratos N, Bruinsma J. *World Agriculture Towards 2030/2050: the 2012 Revision*. ESA Working Paper 12-03. Rome: FAO.
- Arntzen KA, Schirmer H, Wilsgaard T, Mathiesen EB. Moderate wine consumption is associated with better cognitive test outcomes: a 7-year follow-up in 5033 subjects in the Tromso study. *Acta Neurol Scand Suppl.* (2010) 190: 23–9.
- Arora S, Santiago JA, Bernstein M, Potashkin JA. Diet and lifestyle impact the development and progression of Alzheimer's dementia. *Front Nutr.* 2023; 10:1213223.
- Bhullar Khushwant S, Vasantha Rupasinghe HP. Polyphenols: Multipotent Therapeutic Agents in Neurodegenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2013, Article ID 891748, 18 pages, 2013.
- Brazier-Hicks M, Evans KM, Gershater MC, Puschmann H, Steel PG, Edwards R. The C-Glycosylation of Flavonoids in Cereals. 2009. *J Biol Chem.* 284(27): 17926–17934.
- Burlingame B, Dernini S. Sustainable diets: the Mediterranean diet as an example. *Public Health Nutrition.* 2011; 14(12A):2285-2287.
- Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. 2005. *Am J Clin Nutr.* (81): 223-229.
- Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnammates-nature, occurrence dietary burden, absorption and metabolism. 2000. *J Sci Food Agric.* (80): 1033-43.
- Coelho-Júnior HJ, Trichopoulou A, Panza F. Cross-sectional and longitudinal associations between adherence to Mediterranean diet with physical performance and cognitive function in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2021 Sep; 70:101395
- Conte A, Pellegrini S, Tagliacruzchi D. Synergistic protection of PC12 cells from beta-amyloid toxicity by resveratrol and catechin. *Brain Res Bull.* (2003) 62: 29–38.
- Dernini S, Berry E, Serra-Majem L, et al. Med Diet 4.0: the Mediterranean diet with four sustainable benefits. *Public Health Nutrition.* 2017; 20(7):1322-1330.
- Dominguez-López I, Pérez M, Lamuela-Raventós RM. Total (poly)phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023;1–7
- Duplantier SC, Gardner CD. A Critical Review of the Study of Neuroprotective Diets to Reduce Cognitive Decline. *Nutrients.* 2021 Jun 30; 13(7):2264.

- Eating well to be well (with the Mediterranean diet), Ancel and Margaret Keys, Ed. Piccin
- Féart C, Samieri C, Allès B, Barberger-Gateau P. Potential benefits of adherence to the Mediterranean diet on cognitive health. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2013; 72(1):140-152.
- Gaugler J, et al. "2022 Alzheimer's disease facts and figures." *Alzheimers & Dementia* 18.4 (2022): 700-789.
- Gorji N, Moeini R, Memariani Z. Almond, hazelnut and walnut, three walnuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: a neuropharmacological review of their bioactive constituents. *Pharmacol Research*. (2018) 129 :115–127.
- Grant WB, Blake SM. Diet's Role in Modifying Risk of Alzheimer's Disease: History and Present Understanding. *J Alzheimers Dis*. 2023;96(4):1353-1382
- Hammond RA, Dubé L (2012) A systems science perspective and transdisciplinary models for food and nutrition security. *Proc Natl Acad Sci USA* 109, 12356–12363.
- He D, Shan Y, Wu Y, Liu G, Chen B. Simultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD-ESI/MS. 2011. *Food Chemistry*. 127:880-885.
- Hu N, Yu J, Tan L, Wang Y, Sun L, Tan L. Nutrition and risk of Alzheimer's disease. *BioMed Research*. internal 2013; 2013 :524820–524822..
- J-Pérez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A ,Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database, *PubMed*, 2010, 64, 112-120
- Jones AD, Hoey L, Blesh J, Miller L, Green A, Shapiro LF. A systematic review of the measurement of sustainable diets. *Avv. Nutr*. 2016; 7: 641–664
- Limongi F, Siviero P, Bozanic A, Noale M, Veronese N, Maggi S. The Effect of Adherence to the Mediterranean Diet on Late-Life Cognitive Disorders: A Systematic Review. *J Am Med Dir Assoc*. 2020 Oct;21(10):1402-1409;
- Linee guida per una sana alimentazione. Centro di Ricerca Alimenti e Nutrizione (CREA), Revisione del 2018. ISBN 9788833850375
- Lloret A, Esteve D, Lloret M, Cervera-Ferri A, Lopez B, Nepomuceno M, Monllor P. When does Alzheimer's disease really start? The role of biomarkers. *interior J.Mol. Sci*. 2019; 20: 5536.
- Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JLFC. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal Chim Acta*. 14 aprile 2008;613(1):1–19.

- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. 2004. *Am J Clin Nutr.* (79): 727–747.
- Mazur WM, Duke J, Wähälä K, Rasku S, Herman Adlercreutz H. Isoflavonoids and Lignans in Legumes: Nutritional and Health Aspects in Humans. 1998. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 9 (4): 193-200.
- Meybeck A, Gitz V. Sustainable diets within sustainable food systems. *Proceedings of the Nutrition Society.* 2017; 76(1):1-11.
- Miguel A. Martínez-González, Jordi Salas-Salvadó, Ramón Estruch, Dolores Corella, Montse Fitó, Emilio Ros, Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study, *Progress in Cardiovascular Diseases*, Volume 58, Issue 1, 2015, Pages 50-60, ISSN 0033-0620
- Ministero della Salute (Sito del), Dati Epidemiologici, 20.09.2023, <https://www.salute.gov.it/portale/demenze/dettaglioContenutiDemenze.jsp?lingua=italiano&id=2402&area=demenze&menu=vuoto>
- Morris MC, Wang Y, Barnes LL, Bennett DA, Dawson-Hughes B, Booth SL. Nutrients and Bioactives in Green Leafy Vegetables and Cognitive Decline: Prospective Study. *Neurology.* (2018) 90:E214-E222.
- Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. *Neurol Lancet.* (2014) 13:788–94.
- Nucci D, Sommariva A, Degoni LM, Gallo G, Mancarella M, Natarelli F, Savoia A, Catalini A, Ferranti R, Pregliasco FE, Castaldi S, Gianfredi V. Association between Mediterranean diet and dementia and Alzheimer disease: a systematic review with meta-analysis. *Aging Clin Exp Res.* 2024 Mar 22;36(1):77;
- Petrusa E, Braidot E, Zancani M, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Vianello A. Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. 2013. *Int J Mol Sci.* 14(7): 14950–14973.
- Prabhu S, Molath A, Choksi H, Kumar S, Mehra R. Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *Int J Physiol Nutr Phys Educ.* 1 gennaio 2021;6(1):293–301.
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A, 2012. Polyphenols, naturally occurring compounds with healthy effects on the cardiovascular system. *Nutr. Hosp.;* vol. 27, n.1, pp. 76-89.
- Rainey-Smith SR, Gu Y, Gardener SL. et al. Adherence to the Mediterranean diet and rate of brain accumulation of A $\beta$ -amyloid: data from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle Study of Ageing. *Psychiatry* 8, 238 (2018).

- Rong T, Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols, *Nutrients*, 2010, 2, 1231-1246
- Ruggeri S, Buonocore P, Amoriello T. New Validated Short Questionnaire for the Evaluation of the Adherence of Mediterranean Diet and Nutritional Sustainability in All Adult Population Groups. *Nutrients*. 2022 Dec 5;14(23):5177.
- Scalbert A, Williamson G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J Nutr*. agosto 2000;130(8):2073S-2085S.
- Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R et al. (2009) Mediterranean diet and mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 66, 216–225
- Scarmeas N, Stern Y, Tang MX et al. (2006) Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 59, 912–921.
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965;16(3):144–58.
- Sliemstad R, Fossen T, Vågen IM. Onions: a source of unique dietary flavonoids. 2007. *J Agric Food Chem*. 55(25):10067-80.
- Smirnova LP, Pervykh LN. Quantitative determination of the total content of flavonoids in the flowers of immortelle *Helichrysum arenarium*. *Pharm Chem J*. giugno 1998;32(6):321–4.
- Smith P, Gregory PJ (2013), Climate change and sustainable food production. *Proc Nutr Soc* 72, 21 – 28
- Sobal J, Khanb LK & Bisogni C (1998) A conceptual model of the food and nutrition system. *Soc Sci Med* 47, 853–863.
- Sofi F, Dinu M, Pagliai G, Marcucci R, Casini A. Validation of a literature-based adherence score to Mediterranean diet: the MEDI-LITE score. *Int J Food Sci Nutr*. 2017 Sep;68(6):757-762.
- Van den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, van de Rest O. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease-A Review. *Adv Nutr*. 2019 Nov 1; 10(6):1040-1065.
- Van Soest AP, Beers S, van de Rest O, de Groot LC. The Mediterranean-Dietary Approaches to Stop Hypertension Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diet for the Aging Brain: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2024 Mar;15(3):100184

- Whitmee S, Haines A, Beyrer C et al. (2015) Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: report of The Rockefeller Foundation–Lancet Commission on planetary health. *Lancet* 386, 1973–2028.
- Wruss, J., P. Lanzerstorfer, S. Huemer, M. Himmelsbach, H. Mangge, O. Höglinger, D. Weghuber, and J. Weghuber. 2015. Differences in pharmacokinetics of apple polyphenols after standardized oral consumption of unprocessed apple juice. *Nutrition Journal* 14 (1):1–11
- Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomas-Barberan FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. 2004. *Plant Foods for Human Nutrition*. 59, 3: pp 113–122.
- Yasar S. Relationship between alcohol consumption in middle age and dementia in late life. *BMJ*. (2018) 362:K3164.

## **7. RINGRAZIAMENTI**

Vorrei ringraziare la Professoressa Arianna Vignini per avermi dato l'opportunità di svolgere il lavoro di tesi presso il suo laboratorio e per essersi dimostrata comprensiva e disponibile.

Un ringraziamento anche alla Dottoranda Valentina Membrino per il suo grande contributo, per i suoi consigli e per la gentilezza che mi ha riservato.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia, mia mamma Alessandra, mio papà Nicola, mia sorella Eugenia e i miei nonni, che mi hanno sostenuto in ogni momento di questa avventura accademica. Grazie per aver sempre creduto in me e per avermi incoraggiato nei momenti di difficoltà, la vostra presenza al mio fianco è stata essenziale per il raggiungimento di questo traguardo.

Vorrei poi ringraziare Matteo, fidanzato, confidente, sostenitore, spalla in tutti questi anni. Siamo cresciuti insieme, e hai il merito di aver migliorato la mia vita e di avermi aiutata a tirare fuori la tenacia e la caparbia giusta nei momenti di difficoltà. Grazie a te ed anche alla tua famiglia, che ormai è diventata anche un po' la mia.

Sappi che ogni mio traguardo è anche il tuo.

Grazie tutti i miei amici e tutte le persone che mi vogliono bene: in questi anni universitari avete sopportato le mie ansie e i miei momenti no, ora vi meritate di festeggiare con me questo incredibile traguardo.

È una grande fortuna avervi incontrati e sentire il vostro sostegno nelle difficoltà, ma ancora di più vedervi felici dei miei successi.

Per ultima, ma non per importanza, grazie a me stessa, per aver creduto in questo progetto fin dall'inizio, per non aver mai rinunciato al mio sogno nei momenti difficili e per aver sempre trovato la forza di andare avanti.