



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DEL MOLISE

Corso di Dottorato in
Medicina Traslazionale e Clinica - Ciclo XXXVIII
Anno Accademico 2024 / 2025

— **TESI DI DOTTORATO** —

***Il Ruolo del Sonno e dei Nutraceutici
nel Promuovere la Longevità Umana***

Dottorando: **Giovanni Corbioli**

Supervisor: **Prof. Giovanni Scapagnini**

Giovanni Corbioli
Giovanni Scapagnini

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1. Background e Razionale	1
1.2. Dichiarazione del problema	2
1.3. Domande di ricerca	2
1.4. Obiettivi della ricerca	3
1.5. Dichiarazione della tesi	3
1.6. Struttura della tesi	4
2. REVISIONE DELLA LETTERATURA	5
2.1. Biologia e fisiologia del sonno	5
2.1.1. Architettura fondamentale del sonno	5
2.1.2. Principali sistemi neurotrasmettitoriali	6
2.1.3. Fattori che influenzano la qualità del sonno	7
2.1.4. Il sonno nel corso della vita	8
2.2. L'interazione tra sonno e longevità	9
2.2.1. Durata del sonno e rischio di mortalità	9
2.2.2. Qualità del sonno e invecchiamento	10
2.2.3. Sonno e prevenzione della patologie croniche	12
2.2.4. Meccanismi di longevità mediati dal sonno	14
2.3. Il ruolo dei nutraceutici per il sonno e l'invecchiamento	16
2.3.1. Definizione e classificazione dei nutraceutici	16
2.3.2. Principali meccanismi d'azione	16
2.3.3. Biodisponibilità dei nutraceutici	17
2.3.4. Gerarchia delle evidenze e sfide della ricerca	18
2.3.5. Nutraceutici per l'equilibrio del sonno	18
2.3.6. Nutraceutici per l'invecchiamento	21
3. NUTRACEUTICI SPECIFICI	24
3.1. Magnesio	24
3.1.1. Proprietà biochimiche, forme e biodisponibilità	24
3.1.2. Meccanismi di modulazione dei neurotrasmettitori	24
3.1.3. Evidenze cliniche sull'equilibrio del sonno	25
3.1.4. Proprietà a favore della longevità	26
3.1.5. Dosaggi, sicurezza e interazioni	26
3.2. Ashwagandha (<i>Withania somnifera</i>)	27
3.2.1. Profilo fitochimico e standardizzazione	27
3.2.2. Meccanismi adattogeni e risposta allo stress	27

3.2.3.	Evidenze di miglioramento della qualità del sonno	29
3.2.4.	Longevità e protezione cellulare.....	29
3.2.5.	Applicazioni cliniche e sicurezza	30
3.3.	Zafferano (<i>Crocus sativus</i>).....	31
3.3.1.	Composti bioattivi e standard qualitativi.....	31
3.3.2.	Meccanismi d'azione a livello del SNC.....	31
3.3.3.	Evidenze cliniche su sonno e tono dell'umore.....	32
3.3.4.	Neuroprotezione e trials clinici	33
3.3.5.	Applicazioni terapeutiche e profilo di sicurezza	34
4.	ANALISI DI MERCATO E CASE STUDY.....	35
4.1.	Dimensioni e trend del mercato.....	35
4.2.	Dati demografici e comportamenti dei consumatori.....	36
4.3.	Categorie di prodotto e preferenze dei consumatori	39
4.4.	Proposta ipotetica di <i>case study</i>	40
4.4.1.	Titolo dello studio e razionale scientifico	40
4.4.2.	Obiettivi dello studio clinico	41
4.4.3.	Disegno dello studio e metodologia	42
4.4.4.	Aspettative sui risultati.....	42
4.4.5.	Implicazioni future e limitazioni della ricerca	43
5.	DISCUSSIONE E CONCLUSIONE	45
5.1.	Sintesi dei risultati.....	45
5.1.1.	Integrazione delle evidenze dalla letteratura	45
5.1.2.	Evidenze di efficacia dei nutraceutici	46
5.1.3.	Validazione di mercato e domanda dei consumatori.....	47
5.2.	Implicazioni principali.....	47
5.2.1.	Implicazioni per la pratica clinica	47
5.2.3.	Impatto per la ricerca e sviluppo.....	48
5.3.	Limitazioni e considerazioni metodologiche.....	49
5.3.1.	Limitazioni della revisione della letteratura.....	49
5.3.2.	Limitazione dell'ipotetico <i>case study</i>	50
5.3.3.	Punti di forza e innovazioni metodologiche	50
5.4.	Direzioni future della ricerca.....	51
5.5.	Dichiarazioni conclusive	51
6.	BIBLIOGRAFIA.....	53

Sintesi dell'elaborato di tesi

La ricerca di strategie per un **invecchiamento di successo** (migliorativo della *healthspan*) e l'estensione della **longevità umana** è una priorità crescente nella Medicina contemporanea. La presente tesi si pone l'obiettivo di tradurre la comprensione dei meccanismi fisiologici in interventi pratici e sostenibili indagando l'interconnessione tra la **qualità del sonno**, il suo impatto sull'invecchiamento sistemico e l'efficacia dei **nutraceutici** come strumenti adiuvanti. Nello specifico, la ricerca mira a (1) analizzare i target molecolari del sonno nel contesto della senescenza e (2) valutare il potenziale traslazionale di specifici composti nel migliorare il sonno e i biomarcatori correlati all'invecchiamento.

Attraverso una approfondita **revisione della letteratura scientifica**, sono stati esplorati i meccanismi neurotrasmettitoriali e molecolari che collegano la deprivazione o lo scarsa qualità del sonno all'accelerazione dei processi di invecchiamento (tramite, per esempio, aumento di stress ossidativo e neuroinfiammazione). Successivamente, la tesi si è concentrata sull'**analisi di tre nutraceutici** chiave – il **magnesio**, l'**ashwagandha** e lo **zafferano** – esaminandone le evidenze precliniche e cliniche sull'efficacia nel migliorare i parametri del sonno. A completamento, è stata condotta una **analisi di mercato** del settore degli integratori alimentari in Italia, offrendo un quadro realistico per la potenziale implementazione clinica e commerciale di queste soluzioni.

Risultati principali:

- **Fisiologia del sonno:** la revisione conferma che la disregolazione dei neurotrasmettitori GABA e serotonina, spesso associata a disturbi del sonno, è significativamente correlata con un aumento dello stress ossidativo e un accorciamento dei telomeri (tra i principali biomarcatori di longevità);
- **Nutraceutici:** i tre composti esaminati evidenziano miglioramenti significativi in diversi parametri e punteggi associati a qualità del sonno e stress psicofisico, suggerendo che l'utilizzo sinergico possa incrementare la *healthspan* tramite il miglioramento del riposo notturno;
- **Mercato italiano:** l'analisi di mercato italiana rivela una crescita annua costante nel segmento degli integratori alimentari per il sonno e il benessere mentale, con una preferenza del consumatore per prodotti tradizionali (a base di melatonina e valeriana), a cui si possono affiancare anche altri nutraceutici come quelli analizzati nella tesi.

Oltre a identificare nel sonno un pilastro fondamentale per la longevità, questo elaborato di tesi fornisce le evidenze necessarie per l'impiego clinico di magnesio, ashwagandha e zafferano nell'ambito dell'ottimizzazione dell'*healthy aging*. Seguendo i concetti cardine della medicina traslazionale, lo studio trasforma l'analisi dei meccanismi molecolari in raccomandazioni attuabili per la salute collettiva. Le implicazioni emerse suggeriscono un cambio di paradigma: l'integrazione sistemica della qualità del sonno e della nutraceutica nei protocolli medici è essenziale per elevare gli standard di qualità della vita e ridurre l'impatto socio-economico delle patologie legate all'invecchiamento.

Alcune delle abbreviazioni impiegate nel testo:

- REM = *Rapid eye movement*
- NREM = *Non-rapid eye movement*
- SWS = Sonno a onde lente
- SNC = Sistema nervoso centrale
- VLPO = Nucleo preottico ventrolaterale
- SCN = Nucleo soprachiasmatico
- HPA = Asse ipotalamo-ipofisi-surrene
- 5-HT = Serotonina
- CVD = Malattie cardiovascolari
- AD = Malattia di Alzheimer
- RCT = Studio clinico randomizzato
- CRM = *Caloric restriction mimetic*
- IL = Interleuchina
- TNF = *Tumor necrosis factor*
- BDNF = *Brain-derived neurotrophic factor*
- PSQI = *Pittsburgh Sleep Quality Index*

1. Introduzione

1.1. Background e Razionale

La convergenza tra invecchiamento demografico, aumento dei disturbi del sonno e crescente interesse per gli interventi di salute preventiva ha creato un'opportunità senza precedenti per esaminare il ruolo dei nutraceutici nella promozione della longevità umana attraverso l'ottimizzazione del sonno. Con l'aspettativa di vita globale che continua a salire, l'attenzione si è spostata dal semplice prolungamento della durata della vita al miglioramento della *healthspan* – il periodo di vita trascorso in buona salute [1]. Il sonno, in quanto processo biologico fondamentale che occupa circa un terzo della vita umana, rappresenta un determinante critico sia della *healthspan* che della longevità [2].

L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che i disturbi del sonno colpiscano il 45% della popolazione globale, con la sola insonnia che interessa il 10-30% degli adulti in tutto il mondo [3]. Nelle nazioni sviluppate, la prevalenza dei disturbi del sonno aumenta con l'età, arrivando a colpire fino al 50% degli anziani [4]. Queste statistiche sono particolarmente preoccupanti data la solida evidenza epidemiologica che collega la scarsa qualità e durata del sonno a invecchiamento accelerato, aumento del rischio di mortalità e a una maggiore incidenza di malattie croniche tra cui malattie cardiovascolari, diabete e disturbi neurodegenerativi [5-7].

Contemporaneamente, il mercato globale dei nutraceutici ha sperimentato una crescita esponenziale, superando i 450 miliardi di dollari nel 2023 e con una previsione di espansione a un tasso di crescita annuale composto dell'8,9% fino al 2030 [8]. Questa crescita riflette la crescente preferenza dei consumatori per soluzioni naturali e preventive rispetto agli interventi farmaceutici, in particolare per condizioni come i disturbi del sonno dove i trattamenti convenzionali spesso comportano effetti collaterali significativi o rischi di dipendenza [9].

I meccanismi biologici alla base della relazione sonno-longevità sono sempre più ben caratterizzati. Il sonno svolge funzioni critiche nella riparazione cellulare, nella rimozione delle proteine, nella regolazione del sistema immunitario e nell'omeostasi metabolica – tutti processi fondamentali per l'invecchiamento sano [10]. Durante il sonno, il sistema glnfatico facilita la rimozione dei prodotti di scarto metabolico, comprese le proteine β -amiloide e tau associate alla malattia di Alzheimer [11]. Il rilascio dell'ormone della crescita raggiunge il picco durante il sonno a onde lente, promuovendo la riparazione e la rigenerazione dei tessuti [12]. Inoltre, la privazione del sonno innesca cascate infiammatorie e vie di stress ossidativo che accelerano l'invecchiamento cellulare [13].

I recenti progressi nella scienza del sonno hanno chiarito le complesse reti di neurotrasmettitori che governano i cicli sonno-veglia. I sistemi chiave includono il sistema GABAergico che promuove l'inizio e il mantenimento del sonno, il sistema serotoninergico che regola l'architettura del sonno e l'umore, il sistema melatoninergico che coordina i ritmi circadiani e il sistema adenosinergico che determina l'accumulo della pressione del sonno [14]. Questi percorsi neurotrasmettitoriali rappresentano bersagli logici per interventi nutraceutici volti a ottimizzare la qualità del sonno e, di conseguenza, a promuovere la longevità.

1.2. Dichiarazione del problema

Nonostante il crescente riconoscimento dell'importanza del sonno per un invecchiamento sano, esistono lacune significative nella nostra comprensione di come interventi nutraceutici specifici possano ottimizzare la relazione sonno-longevità. Le sfide attuali includono:

- **Comprensione meccanicistica limitata:** sebbene studi individuali abbiano esaminato vari nutraceutici per il miglioramento del sonno, l'analisi completa dei loro meccanismi d'azione sui sistemi di neurotrasmettitori legati al sonno e sui percorsi di longevità a valle rimane frammentata. Il campo manca di quadri integrativi che colleghino i meccanismi molecolari ai risultati clinici [15].
- **Evidenza clinica insufficiente:** la maggior parte della ricerca sui nutraceutici consiste in studi su piccola scala, di breve durata, con metodologie e misure di *outcome* eterogenee. Pochi studi hanno esaminato gli effetti a lungo termine dei nutraceutici che promuovono il sonno su biomarcatori di invecchiamento o longevità validati [16]. La traslazione da promettenti risultati preclinici a una solida evidenza clinica rimane incompleta.
- **Manca di studi sulle combinazioni:** gli approcci di ricerca tradizionali si concentrano su singoli composti, eppure l'evidenza emergente suggerisce che gli interventi multi-bersaglio potrebbero essere più efficaci per condizioni complesse come i disturbi del sonno. Il potenziale effetto sinergico della combinazione di nutraceutici con meccanismi d'azione complementari è stato poco esplorato [17].
- **Disconnessione mercato-ricerca:** la rapida crescita del mercato dei nutraceutici, in particolare nei paesi sviluppati, spesso supera la validazione scientifica. La domanda dei consumatori di soluzioni per il sonno basate sull'evidenza crea un'urgente necessità di ricerca rigorosa che possa informare sia la pratica clinica che lo sviluppo del mercato [18].
- **Limitazioni metodologiche:** la ricerca attuale si basa spesso su misure del sonno soggettive o valutazioni oggettive limitate. L'integrazione di una valutazione completa del sonno con biomarcatori di longevità validati in studi clinici ben progettati rimane rara, limitando la nostra capacità di stabilire relazioni causali tra interventi nutraceutici, miglioramento del sonno e promozione della longevità [19].

1.3. Domande di ricerca

Partendo dai problemi riscontrati, le domande emerse sono:

- **Domanda meccanicistica:** quali sono i principali meccanismi biologici che collegano la fisiologia del sonno ai processi di invecchiamento, e in che modo specifici sistemi di neurotrasmettitori (GABA, serotonina, melatonina, adenosina) mediano queste connessioni?
- **Domanda sulle evidenze:** quali specifici nutraceutici dimostrano la più solida evidenza scientifica nel migliorare la qualità del sonno e nel modulare i biomarcatori correlati alla longevità, e quali sono i loro dosaggi ottimali e i profili di sicurezza?

- **Domanda sulla sinergia:** qual è la base teorica ed empirica per combinare più nutraceutici con meccanismi d'azione complementari per migliorare la qualità del sonno e promuovere la longevità?
- **Domanda sulla traslazione:** in che modo le attuali tendenze di mercato e i modelli di comportamento dei consumatori possono sviluppare raccomandazioni nutraceutiche basate sull'evidenza per l'ottimizzazione del sonno e la promozione della longevità?
- **Domanda metodologica:** quali *framework* metodologici sono più appropriati per valutare l'efficacia degli interventi nutraceutici sia sulla qualità del sonno che sui biomarcatori di longevità in contesti di studi clinici?

1.4. Obiettivi della ricerca

Obiettivo primario: valutare il ruolo dei nutraceutici nel migliorare la qualità del sonno come via per promuovere la longevità umana, con un focus specifico sui meccanismi d'azione, l'efficacia clinica e i potenziali effetti sinergici di magnesio, ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal) e zafferano (*Crocus sativus* L.).

Obiettivi secondari:

1. **Sintesi della letteratura scientifica:** sistematizzare e sintetizzare le conoscenze attuali sui meccanismi biologici che collegano la fisiologia del sonno ai processi di invecchiamento, con enfasi sui sistemi di neurotrasmettitori e sui percorsi cellulari di longevità;
2. **Valutazione delle evidenze:** valutare criticamente l'evidenza scientifica relativa a magnesio, ashwagandha e zafferano nel miglioramento del sonno e nella promozione della longevità, includendo l'analisi dei dati degli studi clinici, i profili di sicurezza e le strategie di dosaggio ottimali.
3. **Analisi di mercato:** analizzare le dinamiche attuali del mercato nutraceutico italiano, con particolare riguardo ai prodotti per il sonno, attraverso l'esame della demografia dei consumatori, delle preferenze d'acquisto e dei modelli di crescita, al fine di orientare lo sviluppo di prodotti scientificamente fondati e/o il consiglio di sinergie di prodotti già esistenti.
4. **Quadro metodologico:** proporre un quadro metodologico completo per la valutazione degli interventi nutraceutici nella medicina del sonno, che incorpori sia misure del sonno soggettive che oggettive insieme a biomarcatori di longevità validati.
5. **Integrazione:** sviluppare un modello integrativo che colleghi i meccanismi d'azione dei nutraceutici, i miglioramenti della fisiologia del sonno e la promozione della longevità, in grado di guidare la ricerca futura e le applicazioni cliniche.

1.5. Dichiarazione della tesi

Gli interventi nutraceutici, in particolare la combinazione strategica di magnesio, ashwagandha e zafferano, possono migliorare significativamente la qualità del sonno

attraverso la modulazione complementare dei sistemi di neurotrasmettitori chiave (vie GABAergiche, serotoninergiche e melatoninergiche), contribuendo così al miglioramento dei marcatori di longevità e ai processi di *healthy aging*.

Questa tesi è supportata da emergenti evidenze cliniche che dimostrano miglioramenti nell'architettura del sonno, riduzioni nei biomarcatori di stress infiammatorio e ossidativo e ottimizzazione della funzione neuroendocrina. Inoltre, la crescente domanda di mercato per soluzioni di miglioramento del sonno basate sull'evidenza, in particolare nei mercati sviluppati come quello italiano, crea sia un'opportunità che un imperativo per una rigorosa validazione scientifica di questi interventi attraverso studi clinici ben progettati che integrino una valutazione completa del sonno con biomarcatori di longevità validati.

1.6. Struttura della tesi

La presente tesi è articolata in cinque capitoli interconnessi, i quali sviluppano un argomento esaustivo sul ruolo dei nutraceutici nella promozione della longevità attraverso la mediazione del sonno. Oltre al **Capitolo 1 - Introduzione**, vi sono:

- **Capitolo 2 - *Revisione della letteratura***: fornisce il fondamento scientifico attraverso tre sezioni integrate: (1) la biologia e la fisiologia del sonno, inclusa l'analisi dettagliata dei sistemi di neurotrasmettitori e dei fattori che influenzano la qualità del sonno; (2) le connessioni stabilite tra sonno e longevità, inclusi i meccanismi attraverso cui il sonno promuove l'invecchiamento sano e previene le malattie legate all'età; e (3) lo stato attuale della ricerca sui nutraceutici nei contesti del sonno e dell'invecchiamento, stabilendo la logica per interventi mirati;
- **Capitolo 3 - *Nutraceutici specifici***: offre un'analisi dettagliata di magnesio, ashwagandha e zafferano, esaminando le loro proprietà biochimiche, i meccanismi d'azione, l'evidenza clinica, i profili di sicurezza e il potenziale per l'integrazione combinata;
- **Capitolo 4 - *Analisi di mercato e Case study***: collega l'evidenza scientifica con le applicazioni nel mondo reale attraverso l'analisi del mercato nutraceutico italiano e la presentazione di un protocollo per un ipotetico studio clinico. Questo capitolo dimostra le implicazioni pratiche della ricerca e fornisce un quadro metodologico per indagini future;
- **Capitolo 5 - *Discussione e Conclusione***: sintetizza i risultati in tutti gli ambiti, discute le implicazioni per la pratica clinica e la salute pubblica, riconosce le limitazioni, propone future direzioni di ricerca e presenta conclusioni definitive sul ruolo dei nutraceutici nella promozione della longevità mediata dal sonno.

2. *Revisione della letteratura*

2.1. **Biologia e fisiologia del sonno**

Il sonno è uno stato fisiologico universale, evolutivamente conservato, caratterizzato da ridotta coscienza, diminuita reattività sensoriale e distinti schemi di oscillazione neurale. Comprendere la biologia e la fisiologia fondamentali del sonno fornisce la base necessaria per esaminare il suo rapporto con la longevità e il potenziale per interventi sullo stato di salute e benessere.

2.1.1. **Architettura fondamentale del sonno**

L'architettura del sonno si riferisce all'organizzazione ciclica del sonno in stadi distinti, ciascuno caratterizzato da firme elettrofisiologiche, profili di neurotrasmettitori e funzioni fisiologiche uniche. La moderna scienza del sonno divide il sonno umano in due categorie principali: sonno *non-rapid eye movement* (NREM) e sonno *rapid eye movement* (REM) [20].

Il sonno NREM comprende tre stadi progressivi (N1, N2 e N3), con l'N3 che rappresenta il sonno a onde lente (SWS), lo stadio più profondo caratterizzato da onde delta ad alta ampiezza e bassa frequenza (0,5-4 Hz) all'elettroencefalografia. L'SWS è considerato lo stadio più ristoratore del sonno e svolge ruoli critici nella conservazione dell'energia, nella regolazione metabolica, nell'omeostasi sinaptica e nel consolidamento della memoria [21, 22]. Il significato fisiologico dell'SWS si estende oltre il sistema nervoso centrale, con evidenze che ne dimostrano il coinvolgimento nel potenziamento della funzione immunitaria, nella secrezione dell'ormone della crescita e nei processi di riparazione cellulare [12, 23].

Il sonno REM è caratterizzato da rapidi movimenti oculari, atonia muscolare e uno schema EEG desincronizzato simile alla veglia. Questo stato di sonno paradossale è associato al sogno vivido, all'elaborazione della memoria emotiva e alla plasticità sinaptica [24]. Una notte di sonno tipica, in soggetti adulti sani, consiste in 4-6 cicli di sonno completi, ciascuno della durata di circa 90-110 minuti, con i cicli iniziali dominati dall'SWS e i cicli successivi contenenti una proporzione maggiore di sonno REM [25].

I fusi del sonno (*sleep spindles*) – brevi raffiche di oscillazioni di 11-16 Hz che si verificano prevalentemente durante il sonno N2 – sono stati implicati nel consolidamento della memoria, nel *gating* sensoriale e nella comunicazione cortico-talamica [26]. Evidenze recenti suggeriscono che la densità e le caratteristiche dei fusi possano servire come biomarcatori per la salute cognitiva e potrebbero essere bersagli modificabili per interventi volti a migliorare la qualità del sonno [27].

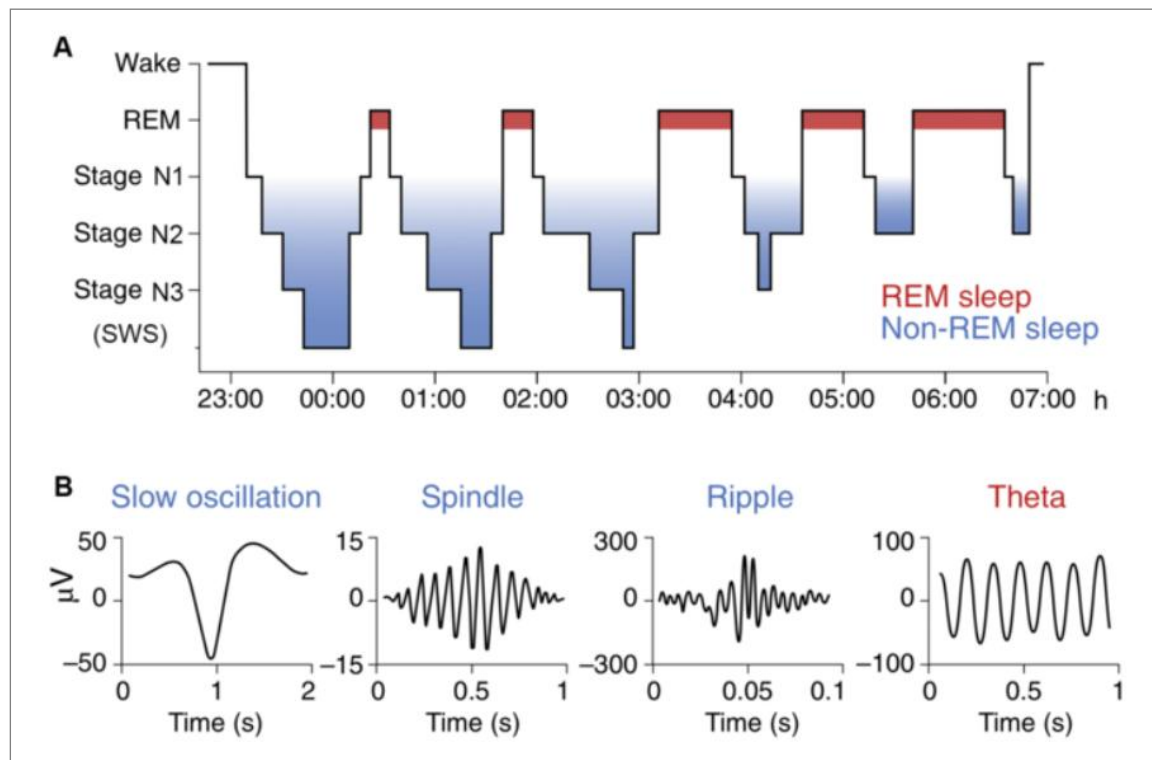


Figura 1. Architettura e oscillazioni del sonno. (A) Profilo del sonno notturno umano. (B) Le oscillazioni theta sono predominanti durante il sonno REM. Le onde lente neocorticali (*slow oscillations*), i fusi talamocorticali (*thalamocortical spindles*) e le onde *ripple* ippocampali sono tipiche del sonno NREM. Le onde lente e i fusi sono caratteristiche distintive del sonno a onde lente (SWS).

Fonte: Klinzing JG, Niethard N, Born J. Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci.* 2019 Oct;22(10):1598-1610.

2.1.2. Principali sistemi neurotrasmettitoriali

Il ciclo sonno-veglia è orchestrato da una complessa interazione di sistemi di neurotrasmettitori che promuovono alternativamente la veglia o il sonno.

Sistema GABAergico

L'acido gamma-aminobutirrico (GABA) è il principale neurotrasmettitore inibitorio del sistema nervoso centrale e svolge un ruolo centrale nell'inizio e nel mantenimento del sonno. I neuroni GABAergici nel nucleo preottico ventrolaterale (VLPO) dell'ipotalamo inibiscono attivamente le regioni che promuovono la veglia [28, 29]. Il potenziamento farmacologico della trasmissione GABAergica rappresenta il meccanismo d'azione per molti farmaci sedativo-ipnotici, inclusi benzodiazepine e Z-drugs [30].

Sistema serotoninergico

La serotonina (5-idrossitriptamina, 5-HT) presenta un rapporto complesso con il sonno. I neuroni serotoninergici nel nucleo del rafe dorsale mostrano schemi di attivazione correlati alla veglia, con attività massima durante la veglia e minima durante il sonno REM [31]. Tuttavia, la serotonina funge anche da precursore per la sintesi della melatonina, e il rapporto tra serotonina e sonno sembra essere dose-dipendente e specifico per il sottotipo di recettore [32]. L'amminoacido triptofano e il suo derivato 5-

idrossilato (5-HTP), sono i precursori alimentari della serotonina, e sono stati studiati come potenziali agenti promotori del sonno con evidenze contrastanti ma generalmente di supporto [33].

Sistema melatoninergico

La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina) è un ormone sintetizzato principalmente dalla ghiandola pineale sotto controllo circadiano. La melatonina agisce sui recettori MT1 e MT2 nel nucleo soprachiasmatico (SCN) e in altre regioni cerebrali per promuovere il sonno e sincronizzare i ritmi circadiani [34]. A differenza della maggior parte dei neurotrasmettitori che promuovono il sonno, l'azione primaria della melatonina non è la sedazione diretta, ma piuttosto la facilitazione dell'allineamento circadiano e la riduzione della temperatura corporea centrale [35].

Il declino della secrezione notturna di melatonina correlato all'età è stato ben documentato e può contribuire all'aumento della prevalenza dei disturbi del sonno negli adulti anziani [36]. Le proprietà neuroprotettive, antiossidanti e antinfiammatorie della melatonina estendono la sua rilevanza oltre la regolazione del sonno a aspetti più ampi dell'invecchiamento in salute [37, 38].

Sistema adenosinergico

L'adenosina è un nucleoside purinico che si accumula nel cervello durante la veglia prolungata ed è considerato un mediatore chiave dell'omeostasi del sonno, ovvero il processo attraverso il quale la pressione del sonno si accumula durante la veglia e si dissipa durante il sonno [39]. L'adenosina esercita i suoi effetti promotori del sonno principalmente attraverso i recettori A1 e A2A, inibendo i neuroni che promuovono la veglia [40]. Il sistema adenosinergico fornisce la base meccanicistica per gli effetti di promozione della veglia della caffeina, che agisce come antagonista del recettore dell'adenosina [41].

Altri sistemi neuromodulatori

Data la fine regolazione dell'intero sistema, esistono altri neurotrasmettitori e molecole che contribuiscono all'equilibrio sonno-veglia. I neuroni dell'orexina nell'ipotalamo laterale promuovono la veglia e stabilizzano gli stati comportamentali; la carenza di orexina causa la narcolessia [42], e i farmaci che bloccano i recettori dell'orexina sono impiegati nel trattamento dell'insonnia. Infine, anche l'istamina, la noradrenalina e la dopamina mostrano proprietà di promozione della veglia [43, 44].

2.1.3. Fattori che influenzano la qualità del sonno

La qualità del sonno è influenzata da una moltitudine di fattori ambientali, comportamentali e fisiologici.

Fattori ambientali

L'esposizione alla luce rappresenta l'influenza ambientale più potente sul sonno, principalmente attraverso i suoi effetti sulla sincronizzazione del ritmo circadiano. La luce a lunghezza d'onda blu (460-480 nm) è particolarmente efficace nel sopprimere la secrezione di melatonina e nello spostare la fase circadiana [45]. L'esposizione serale alla

luce artificiale, specialmente quella proveniente dai dispositivi elettronici, può ritardare l'insorgenza del sonno e ridurne la durata [46].

La temperatura ambientale influisce significativamente sulla qualità del sonno attraverso la sua influenza sulla termoregolazione. Il sonno ottimale si verifica tipicamente quando la temperatura ambiente facilita la dissipazione del calore, con studi che suggeriscono che la temperatura ottimale per il sonno varia approssimativamente tra i 15 e i 19 °C [47].

L'esposizione al rumore può compromettere il sonno attraverso effetti diretti di risveglio e impedendo il raggiungimento o il mantenimento degli stadi di sonno più profondi [48]. L'esposizione cronica al rumore ambientale è stata associata a un aumento del rischio di malattie cardiovascolari, potenzialmente mediato in parte dal disturbo del sonno [49].

Fattori comportamentali e stile di vita

Effettuare attività fisica presenta un rapporto generalmente benefico con il sonno, con l'esercizio regolare associato al miglioramento della qualità del sonno, all'aumento dell'SWS e alla riduzione della latenza di insorgenza del sonno [50]. Tuttavia, la tempistica dell'esercizio può essere importante: una attività fisica vigorosa in prossimità dell'ora di coricarsi può potenzialmente ritardare l'insorgenza del sonno in alcuni individui [51].

I modelli dietetici e la tempistica dei pasti influenzano il sonno attraverso molteplici meccanismi. Il modello della dieta mediterranea è stato associato a una migliore qualità del sonno negli studi epidemiologici [52]. Al contrario, un elevato apporto di grassi saturi e zuccheri è stato collegato a un sonno più leggero e frammentato [53]. Il consumo di caffeina, anche se assunto sei ore prima di coricarsi, può compromettere significativamente la qualità del sonno [54]. L'alcol, sebbene inizialmente sedativo, disturba l'architettura del sonno sopprimendo il sonno REM e causando insonnia di rimbalzo [55].

Lo stress psicologico e gli stati emotivi influenzano profondamente il sonno attraverso l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e del sistema nervoso simpatico. Lo stress cronico è associato a iperattivazione (*hyperarousal*), difficoltà nell'iniziare e mantenere il sonno e riduzione dell'SWS [56].

2.1.4. Il sonno nel corso della vita

L'architettura, la durata e la qualità del sonno subiscono cambiamenti sostanziali nel corso della vita umana, con alterazioni particolarmente degne di nota che si verificano durante l'invecchiamento.

Sonno nell'età adulta giovanile e intermedia

I giovani adulti (20-40 anni) mostrano tipicamente un sonno robusto con alte proporzioni di SWS (sonno a onde lente) e un'architettura del sonno consolidata. La durata media del sonno in questa fascia d'età varia da 7 a 9 ore per notte [6]. L'età adulta intermedia (all'incirca tra i 40 e i 60 anni) è caratterizzata da graduali modifiche nell'architettura del sonno, inclusa una modesta riduzione dell'SWS e un aumento della frammentazione del sonno [57].

Sonno nell'età adulta avanzata

L'invecchiamento è associato a marcati cambiamenti nell'architettura e nella qualità del sonno. Gli adulti più anziani mostrano tipicamente una riduzione del tempo totale di sonno, una minore efficienza del sonno, un aumento della frammentazione del sonno e una riduzione dell'SWS [58, 59]. La densità e l'ampiezza dei fusi del sonno (*sleep spindles*) diminuiscono con l'età, contribuendo potenzialmente ai deficit di memoria correlati all'invecchiamento [60]. L'ampiezza circadiana del ritmo sonno-veglia si riduce, determinando un orario del sonno anticipato e una maggiore sonnolenza diurna [61].

I meccanismi alla base dei cambiamenti del sonno correlati all'età sono multifattoriali. Alterazioni strutturali e funzionali nelle regioni cerebrali coinvolte nella regolazione del sonno, inclusi il VLPO e l'SCN, contribuiscono alla riduzione della profondità e del consolidamento del sonno [62]. La ridotta secrezione di melatonina negli adulti più anziani può compromettere la sincronizzazione circadiana e ridurre la qualità del sonno [63]. Anche gli aumenti correlati all'età di infiammazione e stress ossidativo possono disturbare il sonno attraverso effetti sui neuroni che regolano il sonno [64].

È importante sottolineare che, sebbene un certo grado di alterazione dell'architettura del sonno sia normale con l'invecchiamento, i gravi disturbi del sonno non dovrebbero essere considerati una conseguenza inevitabile dell'età. Molti problemi di sonno negli anziani sono attribuibili a specifici disturbi del sonno, comorbidità mediche o utilizzo di farmaci, piuttosto che all'invecchiamento in sé [65].

La relazione bidirezionale tra sonno e invecchiamento è sempre più riconosciuta. Non solo l'invecchiamento influenza il sonno, ma un sonno insufficiente può accelerare i processi di invecchiamento biologico, creando un circuito di *feedback* potenzialmente negativo per la salute [66].

2.2. L'interazione tra sonno e longevità

La relazione tra sonno e longevità rappresenta un'area critica della ricerca gerontologica, con evidenze convergenti provenienti da studi epidemiologici, meccanicistici e interventistici che dimostrano come la salute del sonno sia un determinante fondamentale non solo della *lifespan* (durata della vita), ma anche e soprattutto della *healthspan* (periodo di vita in buona salute).

2.2.1. Durata del sonno e rischio di mortalità

Studi epidemiologici su larga scala hanno costantemente dimostrato una robusta associazione tra la durata del sonno e il rischio di mortalità, che tipicamente presenta una relazione a forma di U o di J. In tale relazione, sia le durate del sonno brevi che quelle lunghe sono associate a un aumento della mortalità per tutte le cause, rispetto alle durate intermedie [67].

Durata del sonno breve e mortalità

Meta-analisi di studi di coorte prospettici hanno stabilito che la durata abituale del sonno breve (tipicamente definita come inferiore alle 5-6 ore per notte) è associata a un

aumento del rischio di mortalità per tutte le cause. Una meta-analisi completa di Cappuccio e colleghi (2010), che includeva dati provenienti da oltre 1,5 milioni di partecipanti, ha rilevato che la durata breve del sonno era associata a un aumento del 12% del rischio di morte [5]. La relazione tra sonno breve e mortalità sembra essere mediata da molteplici pathways, inclusi l'aumento del rischio di malattie cardiovascolari, disfunzione metabolica, infiammazione e compromissione immunitaria [68].

Studi sperimentali sulla restrizione del sonno negli esseri umani hanno dimostrato che anche modeste riduzioni della durata del sonno si traducono in alterazioni metaboliche e infiammatorie, incluse la resistenza all'insulina, l'aumento della pressione sanguigna, l'aumento dei markers infiammatori e la disregolazione degli ormoni dell'appetito [69, 70].

Durata del sonno lunga e mortalità

Contrariamente a quanto atteso, le evidenze indicano che anche una durata del sonno eccessiva (definita tipicamente come superiore alle 9 ore notturne) si associa a un incremento del rischio di mortalità, con *odds ratio* stimati tra 1,30 e 1,65 [5, 71]. I meccanismi di tale associazione sono ancora oggetto di studio e controversia, e comprendono l'ipotesi della causalità inversa (ovvero il sonno prolungato quale sintomo di una malattia preesistente), la frammentazione del sonno che allunga la permanenza a letto, il disallineamento circadiano e fattori fisiologici intrinseci [72, 73].

Durata del sonno ottimale

Il nadir della curva di mortalità a forma di U si attesta sistematicamente a circa 7-8 ore di sonno per notte nei soggetti adulti [74]. Tuttavia, la durata ottimale del sonno probabilmente varia in base a fattori individuali, tra cui età, genetica, stato di salute e qualità intrinseca del sonno [75]. Recenti evidenze dalla coorte UK Biobank hanno dimostrato che gli individui con una durata abituale del sonno inferiore alle 5 ore o superiore alle 9 ore mostravano un invecchiamento biologico accelerato attraverso molteplici biomarcatori dell'invecchiamento [76].

2.2.2. Qualità del sonno e invecchiamento

Al di là della sua durata, la qualità del sonno – intesa come continuità, profondità, efficienza e architettura – si configura come un determinante cruciale dell'invecchiamento biologico.

Invecchiamento epigenetico

Gli orologi epigenetici, che stimano l'età biologica basandosi sui modelli di metilazione del DNA in siti CpG specifici, sono diventati strumenti ampiamente utilizzati per la valutazione dell'invecchiamento biologico [77]. Carroll et al. (2023) hanno condotto uno studio randomizzato controllato che ha dimostrato come la terapia cognitivo-comportamentale per l'insonnia (CBT-I) abbia rallentato il ritmo dell'invecchiamento biologico, misurato dall'orologio epigenetico DunedinPACE negli adulti anziani [78]. Ciò fornisce evidenza causale che il miglioramento del sonno può modulare i processi di invecchiamento biologico.

Studi osservazionali hanno similmente riscontrato associazioni tra scarsa qualità e breve durata del sonno e invecchiamento epigenetico accelerato. L'analisi dei dati della UK Biobank ha rivelato che gli individui con scarsa qualità del sonno mostravano un'età epigenetica superiore attraverso molteplici algoritmi, inclusi PhenoAge e GrimAge [79]. Anche la regolarità del sonno – la coerenza del timing sonno-veglia di giorno in giorno – è stata associata all'età epigenetica, con individui dal sonno irregolare che mostrano un invecchiamento biologico accelerato [80].

Lunghezza dei telomeri

I telomeri sono sequenze di DNA ripetitive alle estremità dei cromosomi che si accorciano ad ogni divisione cellulare, fungendo da marcatori dell'invecchiamento cellulare [81]. Molti studi hanno esaminato la relazione tra sonno e lunghezza dei telomeri, riscontrando in generale che il sonno insufficiente è associato a telomeri più corti [82]. Dhillon et al. (2021) hanno rilevato che sia la breve durata del sonno (sotto le 7 ore) che la lunga durata del sonno (sopra le 9) erano associate a telomeri più corti in anziani sani australiani, esibendo una relazione a forma di U simile a quella osservata per la mortalità [83].

I meccanismi che collegano il sonno alle dinamiche dei telomeri coinvolgono probabilmente lo stress ossidativo e l'infiammazione. La privazione di sonno aumenta la produzione di specie reattive dell'ossigeno e riduce la capacità antiossidante, accelerando potenzialmente l'accorciamento dei telomeri [84]. Inoltre, i disturbi del sonno attivano percorsi infiammatori che possono compromettere l'attività della telomerasi [85].

Senescenza cellulare

La senescenza cellulare, ovvero lo stato di arresto irreversibile della crescita accompagnato da un fenotipo secretorio pro-infiammatorio, si accumula con l'invecchiamento e contribuisce alle generali disfunzioni correlate all'età [86]. Evidenze emergenti suggeriscono che i disturbi del sonno possano promuovere la senescenza cellulare attraverso molteplici meccanismi. La privazione sperimentale del sonno in modelli animali aumenta i marcatori di senescenza cellulare in più tessuti [87]. Negli esseri umani, l'insonnia cronica e la breve durata del sonno sono state associate ad elevati livelli circolanti di fattori del fenotipo secretorio associato alla senescenza (SASP) [88].

Lo studio di intervento CBT-I di Carroll et al. (2023) ha anche valutato i marcatori di senescenza cellulare, riscontrando che il miglioramento del sonno tramite CBT-I riduceva l'espressione di p16^{INK4a}, un marcatore canonico di senescenza, nelle cellule mononucleate del sangue periferico [78].

Sonno e infiammazione

L'infiammazione cronica di basso grado, spesso definita *inflammaging*, è un tratto distintivo dell'invecchiamento biologico e un fattore chiave che contribuisce alle patologie correlate all'età [89]. I disturbi del sonno sono associati con forte evidenza a marcatori infiammatori elevati. Un'analisi su ampia scala dei dati NHANES ha evidenziato che sia la ridotta durata sia la scarsa qualità del sonno sono associate a un innalzamento dei livelli di proteina C-reattiva (CRP), indipendentemente dai principali *bias* di studio [90].

Trials sperimentali sulla restrizione del sonno hanno dimostrato che anche la privazione di sonno a breve termine aumenta i marcatori infiammatori. Irwin et al. (2016) hanno riscontrato che la perdita di sonno attiva la segnalazione del fattore nucleare-kappa B (NF-κB) e sovraregola l'espressione genica infiammatoria [64]. I meccanismi che collegano la perdita di sonno all'infiammazione coinvolgono molteplici pathways, inclusa l'attivazione del sistema nervoso simpatico, la disregolazione dell'asse HPA e la compromissione della risoluzione dell'infiammazione [10].

Sonno e stress ossidativo

Lo stress ossidativo – lo squilibrio tra la produzione di specie reattive dell'ossigeno e le difese antiossidanti – è un meccanismo fondamentale dell'invecchiamento [91]. Il sonno sembra svolgere un ruolo critico nel mantenimento dell'omeostasi redox. Studi sugli animali hanno dimostrato che la privazione di sonno aumenta il danno ossidativo a lipidi, proteine e DNA in più tessuti, in particolare a livello cerebrale [92]. Negli esseri umani, breve durata e scarsa qualità del sonno sono state associate a marcatori elevati di stress ossidativo e a una ridotta attività degli enzimi antiossidanti [93].

2.2.3. Sonno e prevenzione della patologie croniche

La relazione tra sonno e longevità è sostanzialmente mediata dall'influenza del sonno sullo sviluppo e sulla progressione delle principali malattie croniche correlate all'età.

Malattie cardiovascolari

Evidenze consistenti collegano i disturbi del sonno all'aumento del rischio di malattie cardiovascolari (CVD). Una meta-analisi di Cappuccio et al. (2011), che includeva oltre 470 mila partecipanti, ha riscontrato che la breve durata del sonno era associata a un aumento del rischio di sviluppare o morire a causa di malattie coronariche e ictus [94]. Anche la lunga durata del sonno era associata a un aumento del rischio di CVD, esibendo la caratteristica relazione a forma di U.

L'apnea ostruttiva del sonno (OSA), caratterizzata dal ripetuto collasso delle vie aeree superiori durante il sonno, è un fattore di rischio particolarmente forte per le CVD [95]. L'OSA colpisce circa il 10-30% degli adulti ed è associata a ipertensione, fibrillazione atriale, malattia coronarica, insufficienza cardiaca e ictus [96]. I meccanismi che collegano l'OSA alle CVD includono ipossiemia intermittente, attivazione simpatica, infiammazione, stress ossidativo e disfunzione endoteliale [97].

La regolarità del sonno è emersa come un importante predittore della salute cardiovascolare. Il *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis* ha dimostrato che i modelli di sonno irregolari erano associati a un aumento del rischio di eventi cardiovascolari e mortalità [98].

Diabete di tipo 2 e sindrome metabolica

I disturbi del sonno sono fortemente associati a un aumento del rischio di diabete di tipo 2 e sindrome metabolica. Una meta-analisi di Shan et al. (2015), che includeva oltre 500 mila partecipanti, ha rilevato che sia il sonno breve (inferiore a 5 ore) che il sonno lungo (superiore a 8-9 ore) erano associati a un aumento del rischio di diabete di tipo 2 [99].

Studi sperimentali sulla restrizione del sonno hanno chiarito i meccanismi che collegano la perdita di sonno alla disfunzione metabolica. Spiegel et al. (1999) hanno dimostrato che limitare il sonno a 4 ore per notte per sei notti consecutive portava a una compromissione della tolleranza al glucosio e a una riduzione della sensibilità all'insulina, mostrando un profilo metabolico simile a quello che si riscontra nel prediabete [69]. La restrizione del sonno altera anche la secrezione degli ormoni metabolici chiave, diminuendo la leptina (l'ormone della sazietà) e aumentando la grelina (l'ormone della fame), promuovendo quindi aumento dell'appetito e dell'introito calorico [100].

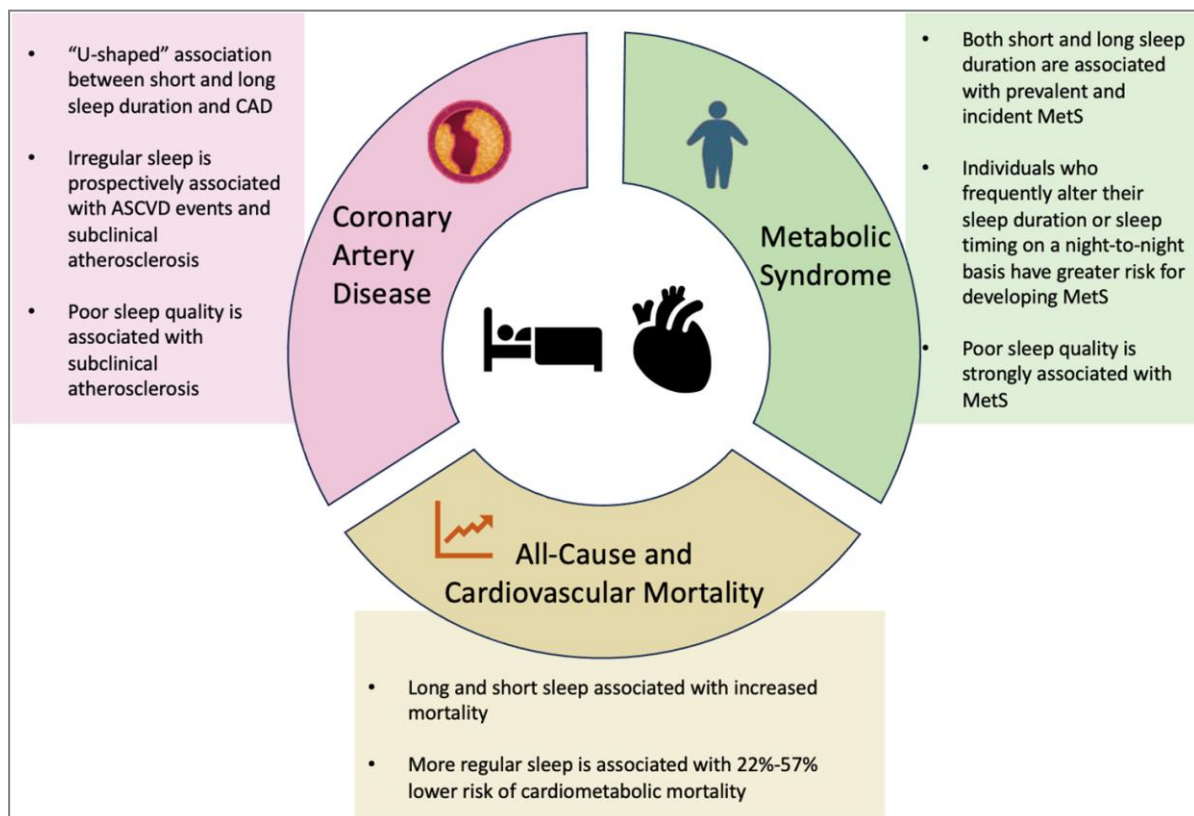


Figura 2. Associazione tra sonno e malattie cardiovascolari. Secondo la National Sleep Foundation, un sonno di buona qualità è caratterizzato da una latenza di insorgenza del sonno inferiore a 15 minuti, da zero o massimo un risveglio notturno, e da un'efficienza del sonno maggiore o uguale all'85%.

Fonte: Amin KD, et al. A good night's rest: A contemporary review of sleep and cardiovascular health. *Am J Prev Cardiol.* 2024 Dec 24;21:100924.

Malattie neurodegenerative

Evidenze emergenti implicano i disturbi del sonno nella patogenesi e nella progressione delle malattie neurodegenerative, in particolare il morbo di Alzheimer (AD). I disturbi del sonno sono altamente prevalenti nell'AD e spesso precedono l'insorgenza dei sintomi cognitivi [101]. Studi prospettici hanno rilevato che gli individui con insonnia cronica o breve durata del sonno hanno un aumento del rischio di sviluppare demenza con il procedere della vita [102].

I meccanismi che collegano i disturbi del sonno alla patogenesi dell'AD coinvolgono probabilmente la compromissione della rimozione delle proteine

neurotossiche, in particolare la β -amiloide e la proteina tau. Il sistema glinfatico, un percorso di “smaltimento dei rifiuti” a livello cerebrale, più attivo durante il sonno, facilita la rimozione della β -amiloide dallo spazio interstiziale [103]. La deprivazione del sonno compromette la funzione glinfatica e aumenta l’accumulo di β -amiloide in modelli animali [11]. Negli esseri umani, la deprivazione acuta del sonno aumenta i livelli di entrambe le proteine neurotossiche nel fluido cerebrospinale e nel plasma [104].

2.2.4. Meccanismi di longevità mediati dal sonno

Il sistema glifatico

Scoperto da Nedergaard e colleghi nel 2012, rappresenta un percorso di rimozione delle sostanze di scarto nel cervello analogo al sistema linfatico localizzato nel resto del corpo [103]. Questo sistema facilita lo scambio tra il fluido cerebrospinale (CSF) e il fluido interstiziale (ISF), rimuovendo i prodotti di scarto metabolico dal parenchima cerebrale. La funzione glifatica è altamente dipendente dallo stato di sonno, con i tassi di *clearance* che aumentano drasticamente durante il sonno, in particolare durante il sonno NREM [11, 105]. Durante il sonno, il volume dello spazio interstiziale aumenta di circa il 60%, facilitando uno scambio CSF-ISF più efficiente e la rimozione dei rifiuti [11]. Il sistema glifatico è particolarmente importante per eliminare le proteine neurotossiche implicate nelle malattie neurodegenerative, tra cui β -amiloide, tau e α -sinucleina [106].

Regolazione ormonale

Il sonno svolge un ruolo cruciale nella regolazione degli ormoni essenziali per il metabolismo, la crescita, la risposta allo stress e la riproduzione. La secrezione dell’ormone della crescita (GH) è strettamente collegata all’SWS, con la maggior parte della secrezione giornaliera di GH che si verifica durante le prime ore di sonno [107]. Le riduzioni legate all’età nell’SWS sono accompagnate da una diminuzione della secrezione di GH, contribuendo potenzialmente alla sarcopenia e ad altri cambiamenti correlati all’età [5].

Il cortisolo mostra un robusto ritmo circadiano con livelli più bassi durante l’inizio del sonno e in aumento verso il risveglio mattutino [108]. La deprivazione di sonno interrompe la regolazione del cortisolo, portando a livelli elevati di cortisolo serale [69]. L’elevazione cronica del cortisolo ha molteplici effetti avversi, tra cui resistenza all’insulina, soppressione immunitaria e atrofia ippocampale [109].

Salute metabolica

Il sonno ha un ruolo fondamentale nel mantenimento dell’omeostasi metabolica attraverso effetti sulla regolazione del glucosio, sul metabolismo lipidico e sul bilancio energetico. A livello molecolare, la deprivazione di sonno altera l’espressione dei geni coinvolti nel metabolismo del glucosio e dei lipidi [110]. Broussard et al. (2012) hanno riscontrato che la restrizione del sonno negli esseri umani riduceva la sensibilità all’insulina negli adipociti di circa il 30% [111].

Il sonno influenza anche il bilancio energetico attraverso effetti sugli ormoni che regolano l’appetito e sui circuiti neurali. Studi di neuroimaging funzionale hanno mostrato che la deprivazione di sonno aumenta l’attivazione delle regioni cerebrali legate

alla ricompensa in risposta agli stimoli alimentari e diminuisce l'attività nelle regioni prefrontali coinvolte nel controllo cognitivo [112].

Funzione immunitaria

Il sonno e il sistema immunitario mostrano interazioni bidirezionali, con il sonno che promuove risposte immunitarie adattive e l'attivazione immunitaria che influenza il sonno [23]. La deprivazione di sonno compromette molteplici aspetti della funzione immunitaria, inclusa la ridotta attività delle cellule *natural killer*, la diminuzione della proliferazione dei linfociti T e la compromissione delle risposte anticorpali alla vaccinazione [113]. Lange et al. (2003) hanno dimostrato che il sonno migliora la formazione della memoria immunologica, con individui che dormivano dopo la vaccinazione contro l'epatite A che mostravano titoli anticorpali significativamente più alti rispetto agli individui privati del sonno [114].

Omeostasi sinaptica e neuroplasticità

La neuroplasticità (o plasticità neuronale) è la capacità intrinseca del sistema nervoso di modificare la propria struttura e funzione in risposta all'esperienza, all'apprendimento o a lesioni. Questo fenomeno è cruciale per l'apprendimento e la memoria, ed è intrinsecamente legato alla regolazione della forza delle sinapsi tra i neuroni. L'influenza del sonno su tale capacità è formalizzata dall'ipotesi dell'omeostasi sinaptica, proposta originariamente da Tononi e Cirelli [2]. Questa ipotesi sostiene che il sonno non sia solo un periodo di riposo, ma un meccanismo fondamentale per il mantenimento dell'equilibrio e l'ottimizzazione della rete neurale.

Durante la veglia, l'acquisizione continua di informazioni porta a un potenziamento sinaptico netto, con un aumento generale della forza e dell'efficacia sinaptica. Questo processo, se non controllato, comporterebbe un eccessivo consumo energetico e la saturazione dei circuiti neurali. Durante il sonno, in particolare durante l'SWS, avviene il processo di ridimensionamento sinaptico (*downscaling*), con il compito di ottimizzare il rapporto segnale/rumore (rendendo più evidenti le connessioni importanti apprese durante la veglia) e ripristinare la capacità di apprendimento per il giorno successivo, prevenendo la saturazione [115].

Riparazione cellulare e autofagia

Il sonno fornisce una finestra per i processi di manutenzione e riparazione cellulare. L'autofagia, il processo cellulare di degradazione e riciclo di proteine e organelli danneggiati, mostra una regolazione circadiana e sonno-dipendente [116]. Molteplici studi hanno dimostrato che la deprivazione di sonno compromette l'autofagia in vari tessuti [117]. L'autofagia compromessa è associata all'accumulo di componenti cellulari danneggiati, aumento dello stress ossidativo e invecchiamento accelerato [118].

Anche i processi di riparazione del DNA mostrano una regolazione circadiana e sonno-dipendente. La deprivazione di sonno compromette la capacità di riparazione del DNA e aumenta l'accumulo di danni al DNA [119]. Dato che l'accumulo di danni al DNA è un meccanismo fondamentale dell'invecchiamento, la riparazione del DNA sonno-dipendente può contribuire ad un *healthy aging*.

2.3. Il ruolo dei nutraceutici per il sonno e l'invecchiamento

I nutraceutici – composti bioattivi derivati da fonti alimentari o sintetizzati per mimare composti naturali – rappresentano un'area di crescente interesse per gli interventi mirati alla qualità del sonno e all'*healthy aging*.

2.3.1. Definizione e classificazione dei nutraceutici

Il termine “nutraceutico” è stato coniato da Stephen DeFelice nel 1989, combinando le parole “nutrizione” e “farmaceutico” per descrivere sostanze derivate dagli alimenti che forniscono benefici per la salute al di là della nutrizione di base [120]. Ai fini di questa tesi, i nutraceutici sono definiti come composti bioattivi presenti in natura o loro equivalenti sintetici che vengono consumati in forme concentrate, a dosi superiori all'apporto dietetico tipico, con l'intenzione di raggiungere specifici risultati di salute e benessere.

I nutraceutici pertinenti al sonno e alla longevità possono essere classificati in diverse categorie:

- **Vitamine e minerali:** vitamine essenziali (ad esempio vitamina D, vitamine del gruppo B) e minerali (ad esempio magnesio, zinco) che fungono da cofattori per enzimi coinvolti nella sintesi dei neurotrasmettitori, nella difesa antiossidante e nella funzione mitocondriale [121].
- **Aminoacidi e derivati:** inclusi triptofano, glicina, teanina, GABA e 5-idrossitriptofano (5-HTP), che influenzano i sistemi di neurotrasmettitori coinvolti nella regolazione del sonno [122].
- **Phytochemicals e botanicals:** composti derivati dalle piante, tra cui flavonoidi (apigenina, quercetina), terpenoidi (acido valerico) e adattogeni (ashwagandha, rodiola) [123].
- **Ormoni e precursori:** principalmente la melatonina, l'ormone che regola i ritmi circadiani e il sonno [124].
- **Precursori del NAD⁺ e attivatori delle sirtuine:** composti che aumentano i livelli di NAD⁺ o attivano le sirtuine, inclusi nicotinammide riboside (NR), nicotinamide mononucleotide (NMN) e resveratrolo [125, 126].

2.3.2. Principali meccanismi d'azione

Modulazione GABAergica

Il potenziamento della neurotrasmissione GABAergica rappresenta un meccanismo primario per diversi nutraceutici che promuovono il sonno. Il magnesio agisce come un modulatore allosterico positivo dei recettori GABA-A e può anche aumentare la sintesi di GABA fungendo da cofattore per la glutammato decarbossilasi [127]. L'apigenina, un flavonoide presente nella camomilla, si lega ai recettori delle benzodiazepine sui complessi recettoriali GABA-A, producendo effetti ansiolitici e leggermente sedativi [128].

Effetti melatoninergici

La supplementazione esogena di melatonina attiva direttamente i recettori MT1 e MT2, promuovendo la sincronizzazione circadiana e facilitando l'insorgenza del sonno [16]. Al

di là dei suoi effetti mediati dai recettori, la melatonina mostra molteplici azioni aggiuntive rilevanti per l'invecchiamento: è un potente *scavenger* di radicali liberi con attività antiossidante [129], riduce la produzione di citochine pro-infiammatorie [130], stabilizza le membrane mitocondriali [131] e protegge dalla neurodegenerazione attraverso meccanismi multipli [132].

Azioni antiossidanti e antinfiammatorie

Molti nutraceutici rilevanti per l'invecchiamento esercitano effetti antiossidanti e antinfiammatori attraverso molteplici vie. I composti polifenolici, tra cui resveratrolo, curcumina e quercetina, attivano la via Nrf2, che potenzia l'espressione di enzimi antiossidanti endogeni [133]. Questi composti inibiscono anche le vie di segnalazione pro-infiammatorie, in particolare NF- κ B e MAPK [134].

Metabolismo del NAD⁺ e attivazione delle sirtuine

Il NAD⁺ è un coenzima cruciale coinvolto nel metabolismo energetico, nella riparazione del DNA e nella regolazione delle vie legate all'invecchiamento [135, 136]. I livelli di NAD⁺ diminuiscono con l'invecchiamento, contribuendo potenzialmente alla disfunzione correlata all'età [137]. I precursori del NAD⁺, inclusi il nicotinammide riboside (NR) e il mononucleotide di nicotinamide (NMN), aumentano i livelli cellulari di NAD⁺, attivando le sirtuine e le poli(ADP-ribosio) polimerasi (PARP) [138]. Il resveratrolo attiva SIRT1 e mima alcuni effetti della restrizione calorica, incluso il miglioramento della funzione mitocondriale e il potenziamento della resistenza allo stress [139].

Evidenze emergenti suggeriscono che il metabolismo del NAD⁺ e i ritmi circadiani siano intimamente collegati, con i livelli di NAD⁺ che mostrano oscillazioni circadiane e le sirtuine che regolano l'espressione dei *clock-genes* [140, 141].

2.3.3. Biodisponibilità dei nutraceutici

L'efficacia dei nutraceutici dipende in modo cruciale dalla loro biodisponibilità – la proporzione di un composto somministrato che raggiunge la circolazione sistemica e i tessuti bersaglio in forma attiva. Molti composti promettenti mostrano una scarsa biodisponibilità a causa di un assorbimento limitato, di un esteso metabolismo di primo passaggio o di una rapida eliminazione [142].

Alcune sfide specifiche di biodisponibilità riguardano:

- La curcumina, nonostante le ampie evidenze di effetti antinfiammatori e neuroprotettivi nei modelli preclinici, presenta una biodisponibilità notoriamente scarsa nell'uomo [143]. Sono state sviluppate molteplici strategie per potenziarla, inclusa la formulazione in nanoparticelle, l'incapsulamento liposomiale e la co-somministrazione con piperina [144].
- Il resveratrolo viene rapidamente metabolizzato in seguito alla somministrazione orale, con una bassa biodisponibilità sistemica e una breve emivita [145]. La maggior parte del resveratrolo circolante esiste come coniugati glucuronidi e solfati, che potrebbero avere attività biologiche diverse rispetto al composto originario.

- La biodisponibilità del magnesio varia sostanzialmente a seconda della forma chimica. Le forme organiche come il magnesio citrato, bisglicinato e treonato generalmente mostrano una biodisponibilità superiore rispetto alle forme inorganiche come l'ossido di magnesio [146].

Sono stati sviluppati molteplici approcci per superare le limitazioni di biodisponibilità, tra cui formulazioni in nanoparticelle e liposomiali, potenziatori dell'assorbimento e la modulazione del microbiota per promuovere la crescita di ceppi batterici che convertono composti scarsamente biodisponibili in metaboliti più biodisponibili [147, 148].

2.3.4. Gerarchia delle evidenze e sfide della ricerca

La valutazione della base di evidenze richiede la considerazione della gerarchia del disegno degli studi e la comprensione delle sfide metodologiche specifiche della ricerca sui nutraceutici. Studi clinici randomizzati (RCT) di alta qualità sui composti attivi o su specifici marchi registrati dovrebbero includere una dimensione del campione adeguata, controlli con placebo appropriati, doppio cieco, misure di *outcome* convalidate e la valutazione dell'aderenza (*compliance*) [149].

- **Standardizzazione e controllo qualità:** a differenza dei farmaci, i prodotti nutraceutici variano sostanzialmente in composizione, purezza e potenza [150]. Questa variabilità crea sfide per la riproducibilità della ricerca e la traslazione clinica;
- **Effetti placebo:** i risultati relativi al sonno sono particolarmente suscettibili agli effetti placebo, con miglioramenti soggettivi della qualità del sonno compresi tra il 20% e il 40% comunemente osservati nei gruppi placebo degli studi sull'insonnia [19];
- **Selezione delle misure di *outcome*:** il sonno può essere valutato attraverso misure soggettive (*Pittsburgh Sleep Quality Index*), la polisonnografia (*gold standard* ma costosa), l'actigrafia (obiettiva, consente la valutazione su più notti) o i diari del sonno [151];
- **Bias di pubblicazione:** il *bias* di pubblicazione, ovvero la tendenza a pubblicare preferenzialmente gli studi con risultati positivi rispetto a quelli con risultati negativi, è una preoccupazione in tutti i settori della ricerca, ma può essere particolarmente critico per i nutraceutici [152].

2.3.5. Nutraceutici per l'equilibrio del sonno

Melatonina

La melatonina è il nutraceutico più ampiamente studiato per il sonno, con centinaia di studi clinici e molteplici meta-analisi che ne esaminano l'efficacia. Una meta-analisi completa condotta da Ferracioli-Oda et al. (2013), che includeva 19 RCT, ha rilevato che la melatonina riduceva significativamente la latenza di insorgenza del sonno (differenza media = -7,06 minuti) e aumentava il tempo totale di sonno (differenza media = 8,25 minuti) [153]. Gli *effect size* erano modesti, ma statisticamente significativi e coerenti tra gli studi.

La melatonina risulta essere più efficace per i disturbi del sonno del ritmo circadiano (sindrome da fase di sonno ritardata, *jet lag*, disturbo del lavoro a turni) [154], i disturbi del sonno in individui con bassa produzione endogena di melatonina (adulti anziani, individui con determinate condizioni neurologiche) [155] e per la riduzione della latenza di insorgenza del sonno in soggetti con latenza basale prolungata.

Il dosaggio ottimale di melatonina per l'induzione del sonno e la regolazione circadiana rimane un tema dibattuto in ambito scientifico. Dosi fisiologiche (0.3-1 mg) possono risultare altrettanto o più efficaci delle dosi farmacologiche (2-10 mg) per lo spostamento della fase circadiana [156]. Tale considerazione è particolarmente rilevante in Italia, dove il limite massimo di apporto giornaliero per gli integratori alimentari a base di melatonina è stabilito a 1 mg.

Anche la tempistica di somministrazione è un aspetto importante: per facilitare l'insorgenza del sonno, la melatonina dovrebbe essere somministrata 1-2 ore prima dell'orario di coricarsi desiderato [157].

Per quanto riguarda la sicurezza, la melatonina presenta un eccellente profilo nell'uso a breve-medio termine, con pochi effetti avversi gravi riportati [158]. Tuttavia, le questioni relative al controllo qualità delle aziende produttrici sono significative. Un'analisi di Erland e Saxena (2017) ha rilevato che il contenuto di melatonina negli integratori alimentari variava da un -83% a +478% rispetto al contenuto dichiarato in etichetta, con una sostanziale variabilità tra i lotti analizzati [159].

Come discusso precedentemente, gli effetti della melatonina si estendono ben oltre la promozione del sonno, includendo azioni antiossidanti, antinfiammatorie e neuroprotettive. Una *review* completa di Bocheva et al. (2024) ha sintetizzato le evidenze sul ruolo della melatonina nella neuroprotezione e nel rallentamento dell'invecchiamento cerebrale [132].

Magnesio

Il magnesio è un minerale essenziale coinvolto in centinaia di reazioni enzimatiche, con ruoli critici nella funzione dei neurotrasmettitori, nel rilassamento muscolare e nella regolazione del sistema nervoso [160]. La carenza di magnesio è relativamente comune, in particolare negli adulti anziani, ed è stata associata a disturbi del sonno [161].

Una revisione sistematica di Arab et al. (2022) ha valutato in modo esaustivo l'evidenza per la supplementazione di magnesio nel miglioramento del sonno [162]. La pubblicazione ha identificato molteplici studi clinici randomizzati (RCT) che dimostrano benefici della supplementazione di magnesio sulla qualità soggettiva del sonno, la latenza di insorgenza del sonno e l'efficienza del sonno, specialmente in individui con bassi livelli di magnesio al basale o sintomi di insonnia.

Abbasi e colleghi (2012) hanno condotto un RCT in doppio cieco concentrandosi su soggetti anziani con insonnia, riscontrando che la supplementazione di magnesio (500 mg/die per 8 settimane) migliorava significativamente la qualità soggettiva del sonno, il tempo di sonno, l'efficienza e la latenza di insorgenza del sonno rispetto al placebo [163]. Inoltre, la supplementazione di magnesio ha aumentato le concentrazioni sieriche di renina e melatonina e diminuito il cortisolo sierico.

Il magnesio, come anticipato sopra, influenza il sonno attraverso meccanismi multipli: modulazione allosterica positiva dei recettori GABA-A, regolazione della sintesi

e secrezione di melatonina, modulazione dell'asse HPA, rilassamento muscolare tramite antagonismo del recettore NMDA del glutammato, ed effetti antinfiammatori [127, 164].

Nell'ambito della ricerca sulla longevità, lo studio di Dhillon et al. (2021) ha evidenziato come la correlazione tra durata del sonno e lunghezza dei telomeri negli anziani australiani fosse modulata dai livelli di magnesio, vitamina B12 e folato. Nello specifico, la carenza di magnesio esacerbava l'associazione negativa tra sonno breve e accorciamento dei telomeri [83]. Questo dato suggerisce in modo convincente che lo stato nutrizionale possa agire da fattore modulante nel rapporto tra qualità del sonno e invecchiamento biologico.

Valeriana

La valeriana (*Valeriana officinalis* L.) è una pianta perenne da fiore la cui radice è stata utilizzata per secoli come sedativo e ansiolitico. L'evidenza sull'efficacia della valeriana nel migliorare il sonno è mista e limitata dall'eterogeneità metodologica. Una *review* sistematica Cochrane di Fernández-San-Martín et al. (2010) ha identificato 18 RCT, ma ha concluso che l'evidenza era insufficiente per determinare se la valeriana migliori la qualità del sonno a causa di limiti metodologici e risultati incoerenti [15].

Una potenziale spiegazione per i risultati incoerenti è l'eterogeneità dei prodotti a base di valeriana. Il contenuto di acido valerenico varia sostanzialmente tra i prodotti commerciali e la standardizzazione è spesso inadeguata. Inoltre, la valeriana potrebbe richiedere diverse settimane di uso continuativo prima che gli effetti si manifestino [165].

Camomilla e apigenina

La camomilla (*Matricaria camomilla* L.) è una pianta erbacea impiegata nella preparazione di tisane tradizionalmente usate per indurre rilassamento e benessere mentale, oltre che azione emolliente e lenitiva a livello del sistema digerente. Il flavonoide apigenina è considerato il suo principale costituente attivo. Pochi studi clinici randomizzati (RCT) di alta qualità hanno esaminato la camomilla specificamente per il sonno, con risultati contrastanti [166].

L'apigenina ha ricevuto crescente attenzione per i suoi potenziali effetti sia sul sonno che sull'invecchiamento. Una revisione completa di Kramer e Johnson (2024) ha esaminato il ruolo dell'apigenina all'intersezione tra sonno e invecchiamento, evidenziando la sua capacità di inibire CD38, un enzima che degrada il NAD⁺ [167]. Inibendo CD38, l'apigenina aumenta in maniera indiretta i livelli di NAD⁺, attivando potenzialmente le sirtuine e migliorando la resistenza allo stress cellulare. Studi sugli animali hanno dimostrato che la supplementazione di apigenina prolunga la durata della vita in diversi organismi modello e migliora i comportamenti legati al sonno [123].

L-teanina

L'amminoacido non proteogenico L-teanina si trova principalmente nel tè (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) ed è stato studiato per i suoi effetti ansiolitici e di promozione del sonno. La teanina attraversa la barriera emato-encefalica e influenza i sistemi di neurotrasmettitori, inclusi l'aumento dei livelli di GABA, dopamina e serotonina [168]. Diversi studi clinici randomizzati (RCT) di piccole dimensioni hanno rilevato che la teanina è in grado di migliorare la qualità soggettiva del sonno e ridurre la latenza del sonno, in particolare negli individui con elevati livelli di ansia o stress [169].

2.3.6. Nutraceutici per l'invecchiamento

Precursori del NAD⁺

Il NAD⁺ è un coenzima cruciale che diminuisce con l'invecchiamento, contribuendo potenzialmente alla disfunzione correlata all'età [137]. La supplementazione con precursori del NAD⁺, inclusi il Nicotinamide Riboside (NR) e il Nicotinamide Mononucleotide (NMN), è emersa come una strategia promettente per aumentare i livelli di NAD⁺ e promuovere un *healthy aging* [125].

Molteplici studi sugli animali hanno dimostrato che la supplementazione con precursori del NAD⁺ prolunga la durata della vita e della *healthspan* in organismi modello [170]. Nei topi, la supplementazione con NR e NMN migliora la funzione mitocondriale, aumenta la capacità di esercizio, migliora il metabolismo del glucosio e riduce il declino cognitivo correlato all'età [171].

Studi sull'uomo hanno dimostrato che la supplementazione con NR e NMN aumenta in modo sicuro i livelli di NAD⁺ nel sangue e nei tessuti [172]. Un RCT controllato con placebo condotto da Conze e colleghi (2019) ha evidenziato che il consumo di 100 – 300 – 1000 mg di NR al giorno ha aumentato significativamente e in modo dose-dipendente i livelli di NAD⁺ nel sangue intero (rispettivamente del 22% - 51% - 142%) e di altri metaboliti del NAD⁺ entro due settimane. Tali aumenti si sono mantenuti per tutta la durata dello studio (8 settimane), e senza effetti collaterali significativi rispetto al placebo [173].

La relazione tra metabolismo del NAD⁺ e sonno è bidirezionale. I livelli di NAD⁺ mostrano ritmi circadiani, con picchi durante la fase attiva e un declino durante la fase di riposo [141]. SIRT1, un enzima NAD⁺-dipendente, regola l'espressione dei *clock-genes*, inclusi CLOCK e BMAL1, influenzando l'ampiezza del ritmo circadiano [131]. Viceversa, la privazione di sonno riduce i livelli di NAD⁺ nel cervello, potenzialmente attraverso un maggiore consumo di NAD⁺ da parte delle PARP in risposta allo stress ossidativo e al danno al DNA.

Resveratrolo

Numerose evidenze scientifiche indicano che i polifenoli – metaboliti secondari ampiamente distribuiti nel regno vegetale – possiedono interessanti proprietà geroprotettive. Tali composti sono in grado di modulare i pathway biologici dell'invecchiamento, favorendo così il raggiungimento di una longevità fisiologica ottimale [174, 175].

Il resveratrolo è un composto polifenolico presente nell'uva, nel vino rosso, nei frutti di bosco e nelle arachidi che ha acquisito attenzione per la sua capacità di attivare SIRT1 e di mimare la restrizione calorica [139]. Il resveratrolo prolunga la durata della vita in lieviti, vermi e mosche e migliora la *healthspan* nei topi alimentati con diete ad alto contenuto di grassi [176]. Tuttavia, il resveratrolo non prolunga la durata della vita nei topi con dieta normale e i suoi effetti sembrano essere più pronunciati nel contesto dello stress metabolico [177].

Nell'uomo, la supplementazione di resveratrolo ha mostrato alcuni benefici metabolici, tra cui il miglioramento della sensibilità all'insulina e la riduzione dell'infiammazione in individui affetti da sindrome metabolica o diabete di tipo 2 [178].

Tuttavia, la mancanza di robusti effetti sulla longevità umana potrebbe essere correlata alla scarsa biodisponibilità della molecola [146].

Il resveratrolo influenza la funzione dell'orologio circadiano attraverso la regolazione dei *clock-genes* mediata da SIRT1 [179]. Nei modelli *in vivo*, il resveratrolo aumenta l'ampiezza del ritmo circadiano e migliora i ritmi metabolici. Ciononostante, la tempistica di somministrazione del resveratrolo potrebbe essere importante, dati i suoi effetti sugli orologi circadiani e sull'attività di SIRT1.

Curcumina

La curcumina è il principale polifenolo bioattivo presente nella *Curcuma longa* L., ampiamente studiato per i suoi effetti sulla fisiologia umana [180]. Numerose evidenze suggeriscono che la curcumina possa rappresentare una terapia promettente per la malattia di Alzheimer grazie alle sue molteplici attività neuroprotettive, che includono proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e antiamiloidogeniche [181].

I meccanismi d'azione della curcumina sono molteplici e includono l'attivazione delle vie antiossidanti mediate da Nrf2, l'inibizione del *signalling* infiammatorio e il potenziamento dell'autofagia [134]. Influenzando direttamente specifici processi, è possibile che la curcumina sia in grado di sopprimere la *low grade inflammation* coinvolta nell'eziologia dell'invecchiamento e di varie patologie correlate all'età [182].

Negli esseri umani, la supplementazione di curcumina ha mostrato benefici per le condizioni infiammatorie, la sindrome metabolica e la funzione cognitiva in alcuni studi [183]. Evidenze limitate suggeriscono che la curcumina possa migliorare la qualità del sonno nell'uomo, sebbene questo dato richieda replicazione [184]. Come per il resveratrolo, la scarsa biodisponibilità della curcumina rimane una sfida per la formulazione di questo nutraceutico [144].

Spermidina

La spermidina è una poliammina presente in natura in alimenti come formaggi stagionati, funghi, prodotti a base di soia e germe di grano. I livelli di spermidina diminuiscono con l'invecchiamento e la supplementazione si è dimostrata promettente nel promuovere la longevità attraverso l'induzione dell'autofagia [185].

La supplementazione di spermidina prolunga la durata della vita in lieviti, mosche, vermi e topi, con effetti mediati principalmente dal potenziamento dell'autofagia [186]. Studi epidemiologici sull'uomo hanno riscontrato associazioni tra un maggiore apporto dietetico di spermidina e una riduzione del rischio di mortalità [187].

Quercetina

Flavonoide caratterizzato da proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e immunomodulanti, la quercetina ha mostrato anche significative attività senolitiche, ovvero la capacità di indurre selettivamente l'apoptosi delle cellule senescenti [188, 189].

I composti senolitici rappresentano un'area di ricerca estremamente promettente per la promozione dell'invecchiamento sano, grazie alla loro capacità di ridurre il carico di senescenza cellulare nell'organismo. Evidenze da modelli preclinici indicano che la quercetina può diminuire l'accumulo di tali cellule, portando a un prolungamento della *healthspan* e a un miglioramento delle funzioni fisiche [190]. Sebbene gli studi clinici

sull'uomo che utilizzano senolitici siano ancora in fase preliminare, i primi risultati da studi pilota risultano incoraggianti [191].

Inoltre, la quercetina, insieme ad altri nutraceutici precedentemente citati (quali curcumina, spermidina e resveratrolo), è attivamente studiata per il suo potenziale come *caloric restriction mimetic* (CRM). I CRM sono sostanze in grado di indurre molti degli effetti benefici della restrizione calorica senza richiedere una riduzione effettiva dell'apporto energetico. I meccanismi d'azione primari di questi composti includono la già menzionata attivazione dell'autofagia, ma anche la promozione della biogenesi mitocondriale, l'attivazione di SIRT1 e AMPK, l'inibizione di mTORC1 con effetto finale di prolungamento sia di *lifespan* che di *healthspan* negli organismi modello [192, 193].

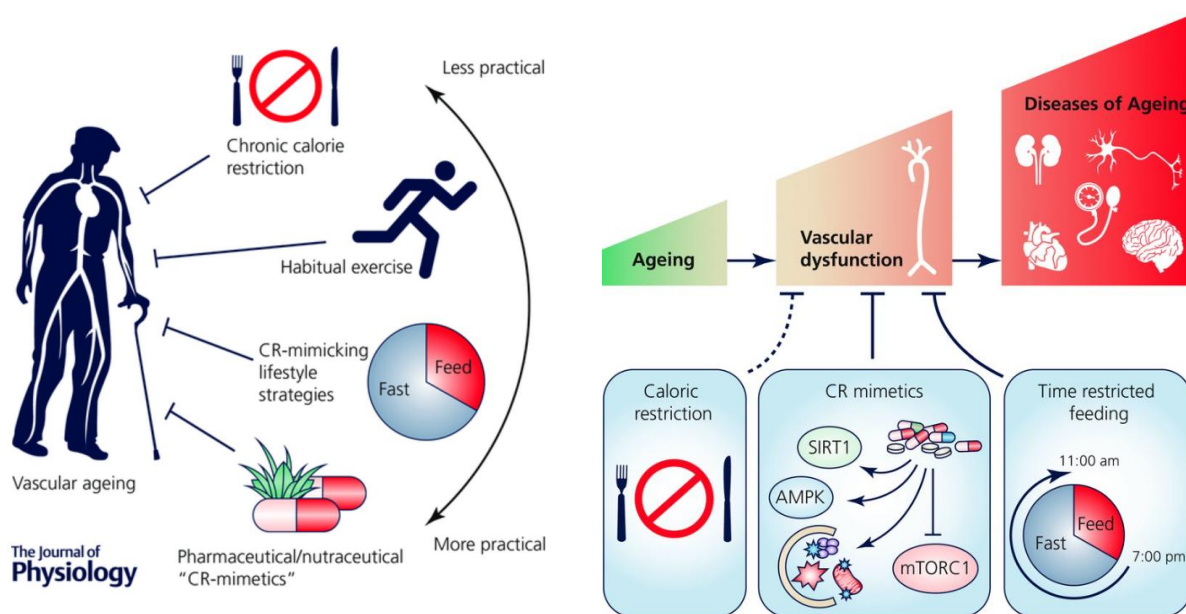


Figura 3. Alternative alla restrizione calorica per ottimizzare la funzione vascolare durante l'invecchiamento. In questa review pubblicata su *The Journal of Physiology* vengono illustrati gli effetti positivi dei CRM sulla funzione vascolare e le ricadute positive su differenti patologie correlate all'invecchiamento. Fonte: Martens CR, Seals DR. Practical alternatives to chronic caloric restriction for optimizing vascular function with ageing. *J Physiol.* 2016 Dec 15;594(24):7177-7195.

3. *Nutraceutici specifici*

Il presente capitolo fornisce una valutazione completa e basata sulle evidenze di tre specifici nutraceutici – il magnesio, l'ashwagandha (*Withania somnifera*) e lo zafferano (*Crocus sativus*) – che hanno ricevuto notevole attenzione scientifica per il loro potenziale ruolo nella modulazione della qualità del sonno e nella promozione di marcatori di benessere cerebrale e longevità.

Ciascun composto verrà esaminato attraverso la lente delle proprietà biochimiche, delle vie meccanicistiche, delle evidenze provenienti dagli studi clinici, degli effetti correlati alla longevità e delle considerazioni pratiche per l'applicazione terapeutica. L'analisi pone enfasi su RCT, revisioni sistematiche e meta-analisi pubblicate prevalentemente nell'ultimo decennio, con un'attenzione critica alla qualità dello studio e alla rilevanza traslazionale.

3.1. **Magnesio**

3.1.1. **Proprietà biochimiche, forme e biodisponibilità**

Il magnesio è il quarto catione più abbondante nel corpo umano e funge da cofattore essenziale per oltre 300 reazioni enzimatiche, comprese quelle coinvolte nella sintesi dell'ATP, nel metabolismo degli acidi nucleici, nella sintesi proteica e nella regolazione dei canali ionici [194]. La sua importanza fisiologica si estende alla modulazione dei neurotrasmettitori, alla funzione muscolare, all'omeostasi cardiovascolare e alla regolazione metabolica [195].

Gli integratori di magnesio disponibili in commercio esistono in molteplici forme chimiche, ognuna delle quali differisce per contenuto di magnesio elementare, solubilità e biodisponibilità [196]. Le forme più comunemente studiate includono magnesio ossido (circa 60% di magnesio elementare ma scarso assorbimento), magnesio citrato (altamente solubile con biodisponibilità superiore), magnesio glicinato e bisglicinato (forme chelate, con migliore tolleranza gastrointestinale e biodisponibilità ancora superiore), magnesio L-treonato (commercializzato per la sua capacità di penetrazione nel SNC), e magnesio aspartato (utilizzato nelle formulazioni per atleti) [197, 198].

Studi comparativi sulla biodisponibilità indicano che i sali organici e le forme chelate generalmente dimostrano un assorbimento superiore rispetto agli ossidi inorganici. Tuttavia, studi comparativi che analizzano direttamente diverse forme di magnesio sugli *outcome* del sonno rimangono limitati [199, 200].

3.1.2. **Meccanismi di modulazione dei neurotrasmettitori**

L'influenza del magnesio sulla regolazione del ciclo sonno-veglia è mediata attraverso molteplici vie neurochimiche convergenti [201]. Il magnesio potenzia la neurotrasmissione del GABA, modulando positivamente la funzione del recettore GABA-A, aumentando così la conduttanza dell'anione cloruro e l'iperpolarizzazione neuronale [202]. Si ipotizza che questo potenziamento GABAergico riduca la latenza del sonno e migliori il mantenimento del sonno smorzando l'eccitabilità corticale [164].

Un'azione canonica del Magnesio è il suo blocco voltaggio-dipendente dei recettori NMDA del glutammato [203]. Occupando il poro del canale NMDA, il magnesio riduce la neurotrasmissione glutammatergica eccitatoria, criticamente coinvolta nell'attivazione nervosa e nella veglia [204]. Diversi studi clinici hanno riportato associazioni tra la supplementazione di magnesio e l'aumento dei livelli circolanti di melatonina, suggerendo un'influenza sulla regolazione del ritmo circadiano [205, 206]. Inoltre, il magnesio modula il sistema nervoso autonomo, agendo sulla variabilità della frequenza cardiaca e sui livelli degli ormoni dello stress. Questo meccanismo comporta una diminuzione generale dell'eccitazione (*arousal*) dell'organismo, favorendo un ambiente fisiologico più propizio al sonno [207].

3.1.3. Evidenze cliniche sull'equilibrio del sonno

Una revisione sistematica di Abbasi et al. (2012) ha esaminato la supplementazione di magnesio per l'insonnia e ha riscontrato modesti miglioramenti nelle misure soggettive di qualità del sonno, in particolare nelle popolazioni anziane, sebbene la qualità delle evidenze fosse limitata dalle ridotte dimensioni dei campioni [163]. Una successiva meta-analisi di Arab et al. (2023) ha aggregato i dati di molteplici RCT (per un totale di oltre 7500 partecipanti) e ha confermato modesti miglioramenti nella qualità soggettiva del sonno, specialmente negli adulti anziani e negli individui carenti di magnesio [162].

Alcuni dei RCT chiave sono:

- Liaqat et al. (2023): hanno condotto un RCT in doppio cieco, controllato con placebo, su 80 adulti anziani (40 trattamento, 40 controllo) con scarsa qualità del sonno [208]. I partecipanti hanno ricevuto 500 mg di magnesio elementare al giorno per otto settimane. Lo studio ha riportato miglioramenti statisticamente significativi nei punteggi del *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) ($p < 0.001$) e un aumento dei livelli sierici di melatonina nel gruppo magnesio, senza segnalazione di eventi avversi;
- Jadidi et al. (2022): hanno eseguito un RCT in singolo cieco su 75 pazienti affetti da sindrome delle gambe senza riposo (RLS) [209]. I partecipanti hanno ricevuto 250 mg di ossido di magnesio al giorno per due mesi. Il gruppo di intervento ha dimostrato una significativa riduzione dei punteggi di gravità della RLS e miglioramenti nella qualità del sonno ($p = 0.001$).
- Nielsen et al. (2010): hanno indagato la supplementazione di magnesio in donne in postmenopausa con insonnia, riscontrando miglioramenti nell'efficienza soggettiva del sonno e nel tempo di sonno, sebbene la ridotta dimensione del campione ($n=12$) limiti la generalizzabilità [210].

Un limite critico della letteratura sul magnesio e il sonno è la predominante dipendenza da questionari soggettivi sul sonno anziché da misure oggettive come la polisonnografia o l'actigrafia [19]. Solo pochi studi hanno esaminato gli effetti sull'architettura del sonno, con risultati disallineati [211].

3.1.4. Proprietà a favore della longevità

Il magnesio svolge ruoli essenziali nella regolazione del tono vascolare, nella funzione endoteliale e nell'elettrofisiologia cardiaca [212]. Studi epidemiologici dimostrano costantemente associazioni inverse tra l'apporto di magnesio e il rischio di malattie cardiovascolari [213]. Una meta-analisi di Zhang et al. (2016) ha rilevato che un maggiore apporto dietetico di magnesio era associato a un rischio ridotto di malattia coronarica (RR 0.78, 95% CI 0.73-0.84) [214].

Studi di supplementazione hanno mostrato benefici nella riduzione della pressione sanguigna. Una meta-analisi di Kass et al. (2012) ha riportato che la supplementazione di magnesio (dose mediana 368 mg/die per una durata mediana di 3 mesi) riduceva significativamente la pressione sanguigna sistolica di 3-4 mmHg e la pressione sanguigna diastolica di 2-3 mmHg [215].

Il magnesio è inoltre un cofattore per gli enzimi coinvolti nel metabolismo del glucosio e nella segnalazione dell'insulina [216]. Una meta-analisi di Larsson e Wolk (2007) ha riscontrato che ogni incremento di 100 mg/die nell'apporto di magnesio era associato a una riduzione del 15% del rischio di diabete (RR 0.85, 95% CI 0.79-0.91) [217]. Studi di intervento in individui con insulino-resistenza hanno dimostrato miglioramenti nella glicemia a digiuno, nella sensibilità all'insulina e nell'HbA1c a seguito della supplementazione di magnesio [218].

Diversi ampi studi prospettici di coorte hanno esaminato le associazioni tra l'apporto di magnesio e la mortalità per tutte le cause. Una meta-analisi di Fang et al. (2016), che includeva oltre 1 milione di partecipanti, ha rilevato che un maggiore apporto dietetico di magnesio era associato a una riduzione della mortalità per tutte le cause (RR 0.90, 95% CI 0.86-0.94) [219], sebbene la causalità non possa essere inferita da dati osservazionali.

3.1.5. Dosaggi, sicurezza e interazioni

Gli studi clinici relativi ai risultati sul sonno hanno impiegato dosaggi di 200-500 mg di magnesio elementare al giorno, con la dose più comunemente studiata che si attesta attorno a 300-400 mg/die, spesso somministrata la sera [220, 221]. Per la salute generale, le assunzioni dietetiche di riferimento raccomandano 310-320 mg/die per le donne adulte e 400-420 mg/die per gli uomini adulti [222].

La supplementazione di magnesio è generalmente ben tollerata. Gli effetti avversi più comuni sono di natura gastrointestinale, inclusi feci molli, diarrea e crampi addominali [223]. Tali effetti sono dose-dipendenti e più frequenti con le forme inorganiche scarsamente assorbite, come il magnesio ossido [224]. Eventi avversi gravi sono rari negli individui con funzione renale normale, sebbene l'ipermagnesemia possa verificarsi in caso di compromissione renale [225].

Per quanto riguarda possibili interazioni farmaco-nutriente, il magnesio può subire interferenze da parte di diverse classi di farmaci:

- Antibiotici come tetracicline e fluorochinoloni (tramite chelazione, con conseguente riduzione dell'assorbimento del magnesio) [226];
- Bisfosfonati (inducono un ridotto assorbimento del magnesio) [227];
- Diuretici (inducono un aumento dell'escrezione renale del minerale) [228];
- Inibitori della pompa protonica (l'uso cronico è associato a ipomagnesemia) [229].

3.2. Ashwagandha (*Withania somnifera*)

3.2.1. Profilo fitochimico e standardizzazione

L'ashwagandha è un importante adattogeno botanico nella medicina Ayurvedica, con crescenti evidenze a supporto della riduzione dello stress, del miglioramento del sonno e della neuroprotezione [230]. La sua bioattività è principalmente attribuita ai lattoni steroidei noti come witanolidi, insieme ad alcaloidi e sitoindosidi [231], molto presenti all'interno delle radici della pianta *Withania somnifera* (L.) Dunal.

I witanolidi sono lattoni steroidei, di cui la witaferina A, il witanolide A e il witanone sono tra i più studiati [232]. Gli estratti di radice contengono tipicamente l'1-5% di witanolidi totali, sebbene gli estratti standardizzati possano essere concentrati a percentuali più elevate [233].

Una sfida importante è l'eterogeneità delle preparazioni utilizzate negli studi clinici, che includono polvere di radice intera, estratti acquosi e idroalcolici ed estratti standardizzati proprietari (ad esempio, KSM-66®, Sensoril®) [234, 235].

Una review sistematica di Cheah et al. (2021) ha rilevato che le dosi di witanolidi negli studi clinici variavano approssimativamente da 1,5 mg a 30 mg al giorno, il che complica le valutazioni dose-risposta [236]. I metodi di autenticazione includono la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) per la quantificazione dei witanolidi, il *TLC fingerprinting* e il *DNA barcoding*, sebbene la qualità dei prodotti commerciali rimanga variabile [237].

3.2.2. Meccanismi adattogeni e risposta allo stress

L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) è il principale sistema neuroendocrino che governa le risposte allo stress [238]. Molteplici studi clinici randomizzati hanno dimostrato che la supplementazione di ashwagandha riduce i livelli sierici di cortisolo in individui stressati [239]. Chandrasekhar et al. (2012) hanno condotto un RCT in doppio cieco, controllato con placebo, su 64 adulti con stress cronico [233]. I partecipanti che hanno ricevuto 300 mg di estratto di ashwagandha due volte al giorno per 60 giorni hanno mostrato una riduzione del cortisolo sierico del 27,9% rispetto al 7,9% nel gruppo placebo ($p < 0.001$), parallelamente a miglioramenti significativi nei punteggi dei questionari sullo stress.

L'ashwagandha e i suoi costituenti interagiscono inoltre con il sistema GABAergico, centrale per gli effetti ansiolitici e di promozione del sonno [240]. Studi *in vitro* e *in vivo* dimostrano che i witanolidi potenziano la segnalazione del recettore GABA-A [241]. L'ashwagandha esibisce proprietà neuroprotettive attraverso l'attività antiossidante (potenziando gli enzimi antiossidanti endogeni), effetti antinfiammatori (inibendo le citochine pro-infiammatorie e la segnalazione NF- κ B), supporto neurotrofico (promuovendo BDNF e NGF) ed effetti anti-apoptotici [242-244].

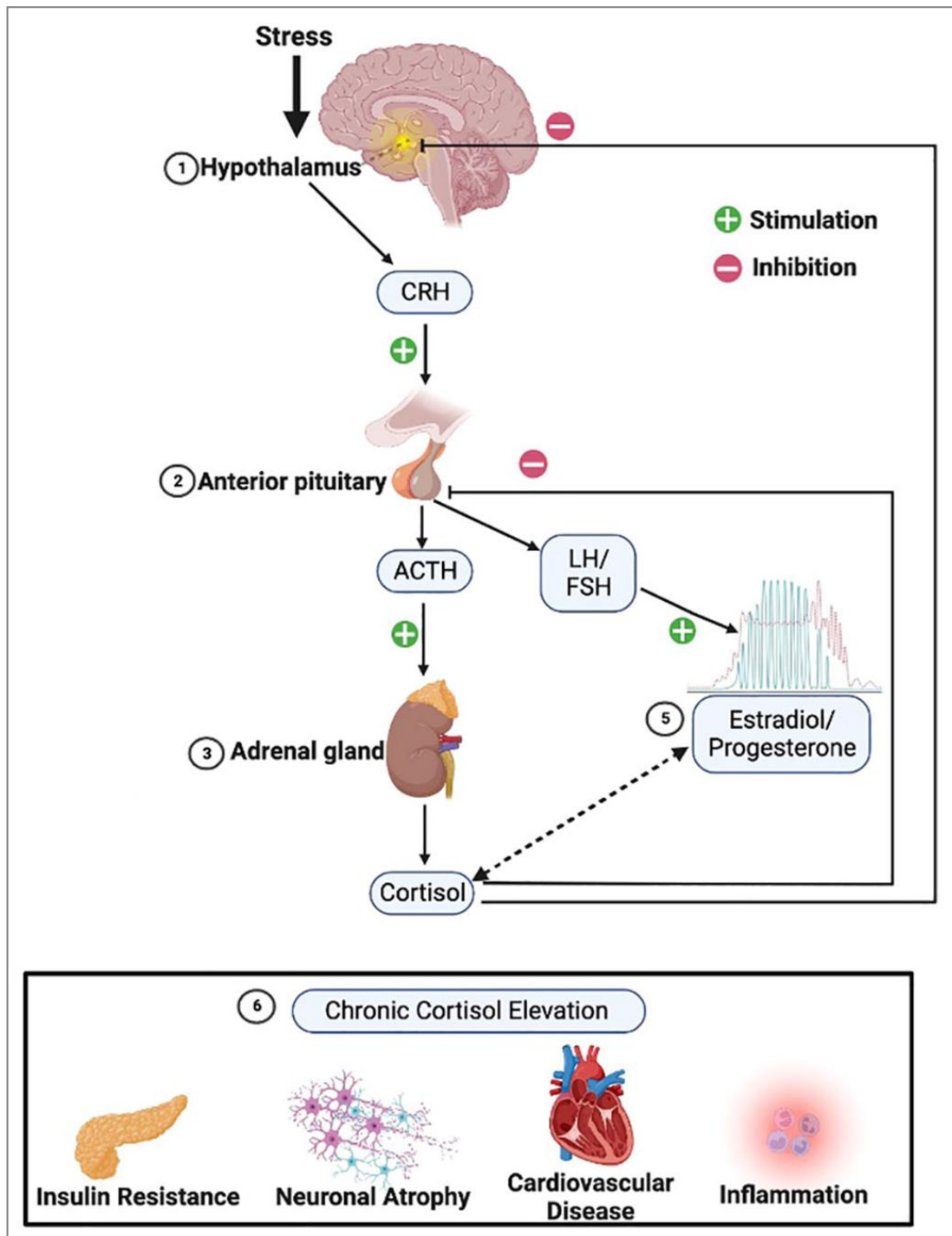


Figura 4. Fisiologia dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. In risposta a uno stress, 1) l'ipotalamo innesca il rilascio dell'ormone di rilascio della corticotropina (CRH), che a sua volta stimola 2) l'ipofisi anteriore a rilasciare l'ormone adrenocorticotropo (ACTH). Tale ormone stimola quindi 3) le ghiandole surrenali a rilasciare il cortisolo.

Immagine modificata da: Hantsoo L, et al. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in depression across the female reproductive lifecycle: current knowledge and future directions. *Front Endocrinol* (Lausanne). 2023 Dec 12;14:1295261.

3.2.3. Evidenze di miglioramento della qualità del sonno

La meta-analisi più completa sugli effetti dell'ashwagandha sul sonno è stata condotta da Cheah et al. (2021), che ha incluso cinque studi clinici randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo, per un totale di 400 partecipanti [236]. L'analisi aggregata dei dati ha rivelato un miglioramento significativo della qualità generale del sonno (differenza media standardizzata SMD = -0.59, 95% CI da -0.75 a -0.42, $p < 0.00001$). Le analisi dei sottogruppi hanno dimostrato miglioramenti maggiori con dosi superiori a 600 mg/die, rispetto a dosi inferiori. Inoltre il trattamento per più di 8 settimane ha prodotto *effect sizes* più rilevanti rispetto a durate più brevi. Gli individui con insonnia hanno mostrato benefici più pronunciati rispetto ai disturbi del sonno subclinici. I parametri specifici del sonno hanno mostrato riduzione della latenza di insorgenza del sonno, aumento del tempo totale di sonno, miglioramento dell'efficienza del sonno e riduzione del tempo di veglia dopo l'inizio del sonno.

Tra i principali trials clinici analizzati spiccano:

- Deshpande et al. (2020): hanno condotto un RCT in doppio cieco, controllato con placebo, su 80 partecipanti con insonnia [245]. I partecipanti hanno ricevuto 300 mg di estratto di radice di withania due volte al giorno per 10 settimane. Lo studio ha utilizzato sia misure soggettive che l'actigrafia (oggettiva). I risultati hanno mostrato: latenza di insorgenza del sonno ridotta di 28,9 minuti nel gruppo withania contro 7,3 minuti nel gruppo placebo ($p < 0.001$); tempo totale di sonno aumentato di 41,7 minuti contro 9,4 minuti ($p < 0.001$); efficienza del sonno migliorata dell'8,1% contro l'1,9% ($p < 0.001$); e un miglioramento significativo dell'acutezza mentale al risveglio ($p < 0.001$).
- Langade et al. (2021): hanno eseguito un RCT randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, su 150 adulti sani con problemi di sonno auto-riferiti [246]. I partecipanti hanno ricevuto 120 mg di estratto di ashwagandha una volta al giorno per sei settimane, con miglioramenti significativi nella qualità del sonno, riduzione della latenza di insorgenza del sonno, miglioramento dell'efficienza del sonno e maggiore acutezza mentale (tutti con $p < 0.05$). Un sottogruppo è stato sottoposto a polisonnografia, rivelando aumenti del tempo totale di sonno e dell'efficienza del sonno.
- Salve et al. (2020): hanno indagato un estratto di radice di ashwagandha standardizzato (500 mg, standardizzato al 2,5% di witanolidi, equivalente a 12,5 mg di witanolidi al giorno) 90 adulti sani per 90 giorni [247]. L'RCT in doppio cieco ha dimostrato miglioramenti significativi nei punteggi dei questionari sulla qualità del sonno, riduzioni nelle scale dello stress e dell'ansia e miglioramenti nelle misure della qualità della vita (tutti con $p < 0.001$), senza eventi avversi significativi e con parametri biochimici normali.

3.2.4. Longevità e protezione cellulare

Le proprietà antiossidanti degli estratti di ashwagandha sono state dimostrate in studi clinici. Auddy et al. (2008) hanno esaminato gli effetti dell'ashwagandha sui biomarcatori dello stress ossidativo in adulti cronicamente stressati, riscontrando che la

supplementazione aumentava significativamente la capacità antiossidante plasmatica e riduceva i marcatori della perossidazione lipidica [248]. L'ashwagandha esibisce inoltre proprietà antinfiammatorie attraverso l'inibizione dell'attivazione di NF- κ B e la riduzione delle citochine pro-infiammatorie (IL-6, TNF- α e IL-1 β) [249, 250]. Studi clinici hanno dimostrato una riduzione della proteina C-reattiva a seguito della supplementazione con ashwagandha [233].

Il BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) è essenziale per la sopravvivenza neuronale, la plasticità sinaptica e la funzione cognitiva [251]. Studi preclinici mostrano che l'ashwagandha e i witanolidi aumentano l'espressione di tale fattore e promuovono la crescita dei neuroni [252]. L'ashwagandha ha dimostrato effetti neuroprotettivi in modelli animali di malattia di Alzheimer, malattia di Parkinson e ictus [244]. Studi preclinici indicano miglioramenti nella funzione mitocondriale, inclusi aumento del potenziale di membrana, supporto alla produzione di ATP e riduzione del danno ossidativo mitocondriale [253].

3.2.5. Applicazioni cliniche e sicurezza

Sulla base delle attuali evidenze cliniche, la supplementazione di ashwagandha è consigliabile per il miglioramento della qualità del sonno (in particolare negli individui con insonnia), la riduzione dello stress e dell'ansia, e per i promettenti effetti sul supporto alla funzione cognitiva [236, 254]. Gli studi clinici hanno utilizzato 240-600 mg/die di estratto standardizzato di radici (contenente circa 6-30 mg di witanolidi) [235].

Secondo i risultati delle meta-analisi: per l'equilibrio del sonno, 300-600 mg/die di estratto di radici (meglio se standardizzato in witanolidi) per un periodo di 8 settimane sembra essere il range di concentrazione più efficace; per lo stress, 240-300 mg/die per 60 giorni hanno dimostrato una interessante azione nella gestione dei più comuni disturbi psicologici ed emotivi [233, 236].

Attraverso molteplici RCT e revisioni sistematiche, l'ashwagandha dimostra un profilo di sicurezza favorevole con pochi eventi avversi [255]. Gli eventi avversi più comuni sono lievi sintomi gastrointestinali (nausea, diarrea), che si verificano in meno del 5% dei partecipanti [256]. Non sono stati segnalati eventi avversi gravi attribuibili all'ashwagandha negli RCT pubblicati e il monitoraggio biochimico non ha mostrato anomalie clinicamente significative [247, 255].

Le potenziali interazioni farmacologiche includono [257, 258]:

- Sedativi e ansiolitici: potenziale incremento degli effetti farmacologici con eccessiva soppressione del sistema nervoso centrale;
- Farmaci tiroidei: potenziale aumento dei livelli di ormoni tiroidei;
- Immunosoppressori: interazione teorica dovuta a proprietà immunomodulanti dell'estratto vegetale;
- Farmaci antidiabetici: potenziale effetto additivo di riduzione della glicemia.

L'ashwagandha dovrebbe essere utilizzata con cautela durante la gravidanza (l'uso tradizionale suggerisce potenziali effetti abortivi), nelle malattie autoimmuni (inducendo una teorica stimolazione immunitaria), nell'ipertiroidismo (risulta potenzialmente utile in ipotiroidismo subclinico) e nei pazienti pre-chirurgici [259, 260].

3.3. Zafferano (*Crocus sativus*)

3.3.1. Composti bioattivi e standard qualitativi

Lo zafferano, derivato dagli stimmi del fiore di *Crocus sativus* L., è una spezia storicamente e medicinalmente rilevante, nota per essere la spezia più costosa al mondo a causa dell'alta intensità di manodopera richiesta per la sua raccolta. Le sue proprietà terapeutiche, riconosciute da secoli in diversi sistemi medici tradizionali [261], sono attribuite ai derivati carotenoidi e ai costituenti volatili presenti negli stimmi [262].

La crocina è il principale carotenoide idrosolubile responsabile del colore dello zafferano, esistente come esteri glicosilici della crocetina con molteplici isomeri. Il contenuto di crocina negli stimmi varia tipicamente dal 5 al 30% in peso [263].

La crocetina è la forma agliconica della crocina, liberata tramite idrolisi intestinale. Esibisce una lipofilia superiore e una maggiore capacità di penetrazione della barriera emato-encefalica [264]. Studi farmacocinetici dimostrano una rapida idrolisi della crocina in crocetina, che viene assorbita e rilevata nel plasma [265].

Il safranale è un'aldeide monoterpénica volatile responsabile dell'aroma dello zafferano, formata dalla degradazione termica della picrocrocina, e tipicamente costituisce lo 0,4 – 1,3% dello zafferano [266]. Esibisce proprietà sedative, ansiolitiche e anticonvulsivanti in studi preclinici [267]. La picrocrocina conferisce il sapore amaro e funge da marcatore di autenticità, essendo presente in circa il 5-15% [268].

Il costo elevato dello zafferano ha portato a una diffusa adulterazione [269]. Gli standard di qualità includono la norma ISO 3632 (che specifica il contenuto di crocina, picrocrocina e safranale) e gli standard da farmacopea ufficiale [270]. I metodi di autenticazione comprendono HPLC, LC-MS, *DNA barcoding* e metodi spettrofotometrici [271, 272].

Gli studi clinici hanno impiegato polvere di stimmi interi (30-50 mg/die), estratti acquosi o etanolic standardizzati al contenuto di crocina (28-30 mg/die di zafferano) ed estratti standardizzati proprietari come affron® [273, 274].

3.3.2. Meccanismi d'azione a livello del SNC

Gli effetti centrali dello zafferano sono mediati attraverso molteplici sistemi di neurotrasmettitori e vie neuroprotettive [275].

Lo zafferano e i suoi costituenti modulano la neurotrasmissione serotoninergica tramite l'inibizione della ricaptazione della serotonina (la crocina e il safranale inibiscono la ricaptazione di tale neurotrasmettitore), la modulazione dei recettori 5-HT e potenziali effetti sulla sintesi della serotonina stessa [276, 277]. Studi clinici che hanno confrontato lo zafferano con gli SSRI (inibitori selettivi del *reuptake* della serotonina) hanno dimostrato effetti antidepressivi di non inferiorità, supportando i meccanismi serotoninergici [278]. Studi preclinici indicano che lo Zafferano modula la neurotrasmissione dopaminergica attraverso l'inibizione della ricaptazione della dopamina e la modulazione del recettore D2 [279].

Il safranale agisce come un agonista del recettore GABA-A, promuovendo la neurotrasmissione inibitoria e gli effetti ansiolitici/sedativi [267]. La crocina riduce l'eccitotossicità indotta dal glutammato e modula la funzione del recettore NMDA [280].

Infine, studi preclinici dimostrano che lo zafferano e la crocina aumentano l'espressione del BDNF nell'ippocampo e nella corteccia [281]. La spezia esibisce potenti effetti antinfiammatori e antiossidanti a livello del SNC attraverso lo *scavenging* diretto dei radicali liberi, il potenziamento degli enzimi antiossidanti endogeni, l'inibizione dell'attivazione di NF-κB, la riduzione delle citochine pro-infiammatorie e l'attivazione della via Nrf2 [282, 283].

3.3.3. Evidenze cliniche su sonno e tono dell'umore

Una revisione sistematica e meta-analisi condotta da Munirah et al. (2022) ha esaminato gli effetti dello zafferano sulla qualità del sonno, includendo otto RCT con 431 partecipanti [284]. L'analisi ha riportato un miglioramento della qualità del sonno (SMD aggregata = 0.89, 95% CI 0.10-1.68, $p = 0.03$) e un aumento della durata del sonno (SMD aggregata = 0.57, 95% CI 0.21-0.93, $p = 0.002$). Si è riscontrata una sostanziale eterogeneità attribuita a differenze nelle popolazioni, nei dosaggi e nelle misure di *outcome*.

Una revisione sistematica successiva (di Han e colleghi, 2024), che ha incluso 46 RCT, ha rilevato che lo zafferano migliorava le prestazioni cognitive, il tono dell'umore, l'ansia e i disturbi del sonno, con una tollerabilità generalmente buona [285]. Per quanto riguarda la depressione, una meta-analisi di Mazidi et al. (2016) su sei RCT (230 partecipanti) ha rivelato effetti antidepressivi significativi [286].

Tra i trials clinici più rilevanti emergono:

- Lopresti et al. (2020): RCT in doppio cieco, controllato con placebo, di esame degli effetti dello zafferano sul sonno in 63 adulti sani con sonno scarso auto-riferito [287]. I partecipanti hanno ricevuto 14 mg di estratto di zafferano due volte al giorno, per 28 giorni. I risultati includevano: miglioramenti significativi nella qualità del sonno (punteggi del *Restorative Sleep Questionnaire*, $p < 0.01$), riduzione della latenza del sonno ($p < 0.05$) e miglioramento della soddisfazione del sonno e della funzionalità diurna ($p < 0.05$), con buona tollerabilità e nessun evento avverso significativo.
- Jackson et al. (2021): hanno randomizzato 56 adulti sani a 30 mg di zafferano al giorno per 8 settimane e hanno riportato la riduzione dei punteggi di depressione, il miglioramento delle relazioni sociali e l'attenuazione della variabilità della frequenza cardiaca correlata allo stress [288].
- Lopresti et al. (2025): RCT più recente, in doppio cieco e controllato con placebo, condotto su 202 adulti per un periodo di 12 settimane [289]. Con un dosaggio giornaliero di 28 mg di affron® sono stati analizzati sintomi depressivi subclinici, e hanno riportato miglioramenti significativamente maggiori nel punteggio di depressione della scala DASS-21 con il 72,3% dei partecipanti nel gruppo zafferano che ha ottenuto una riduzione dei sintomi depressivi pari o superiore a 7 punti, rispetto al 54,3% nel gruppo placebo.
- Shahmansouri et al. (2014): hanno confrontato lo zafferano (30 mg/die) con la fluoxetina (20 mg/die) in 40 pazienti con disturbo depressivo maggiore [278]. Dopo sei settimane, entrambi i gruppi hanno mostrato riduzioni significative ed equivalenti nei punteggi della *Hamilton Depression Rating Scale*, senza

differenze significative tra i gruppi, suggerendo la non inferiorità dell'estratto vegetale rispetto al farmaco.

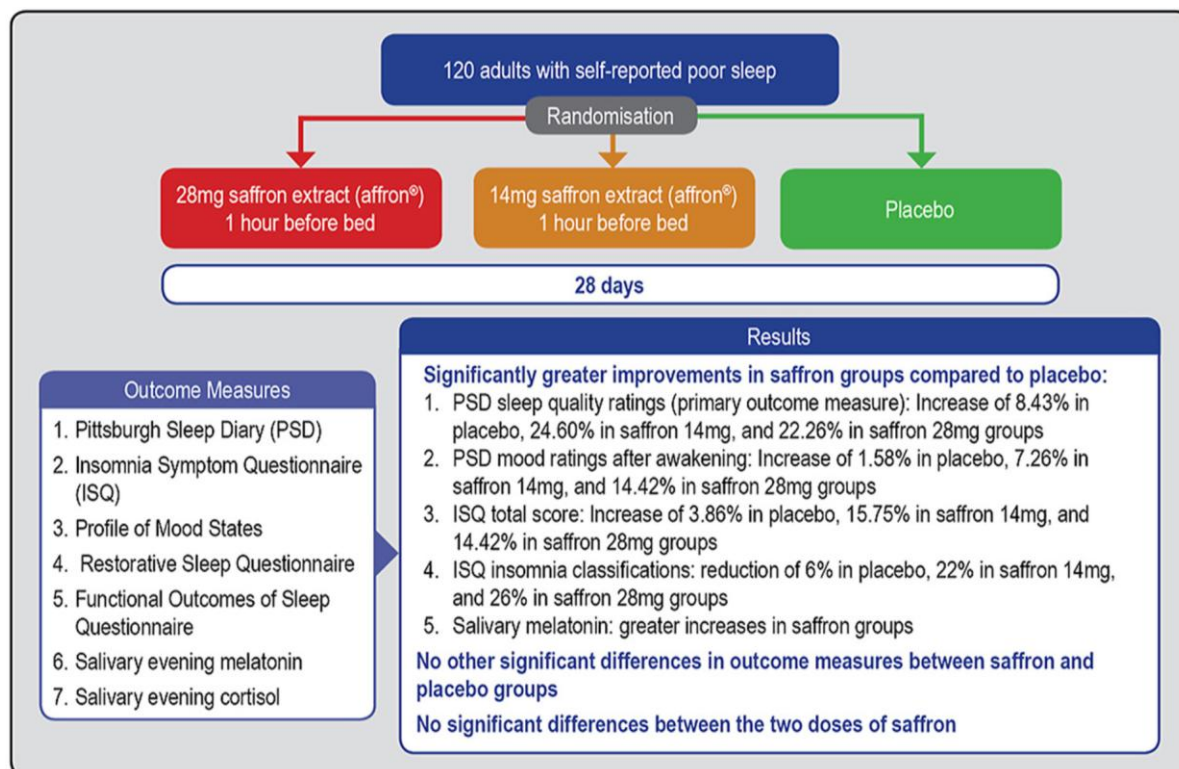


Figura 5. Disegno di un ulteriore studio clinico di Lopresti e colleghi (2021) con affron®.

In questo RCT, controllato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, della durata di 28 giorni, 120 adulti con sonno insoddisfacente hanno ricevuto un placebo, 14 mg o 28 mg dell'estratto standardizzato di zafferano (affron®), un'ora prima di coricarsi. Rispetto al placebo, l'integrazione di zafferano è stata associata a maggiori miglioramenti nelle valutazioni della qualità di sonno e umore al risveglio. I miglioramenti del sonno sono stati simili per le due dosi di zafferano somministrate, con buona tollerabilità dell'estratto e assenza di effetti avversi significativi.

Fonte: Lopresti AL, Smith SJ, Drummond PD. An investigation into an evening intake of a saffron extract (affron®) on sleep quality, cortisol, and melatonin concentrations in adults with poor sleep: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multi-dose study. *Sleep Med.* 2021 Oct;86:7-18.

3.3.4. Neuroprotezione e trials clinici

Le proprietà neuroprotettive dello zafferano includono effetti anti-amiloide (la crocina inibisce l'aggregazione della β -amiloide), effetti anti-tau (riduzione della fosforilazione della proteina tau), riduzione dello stress ossidativo, effetti antinfiammatori, protezione sinaptica e supporto neurotrofico [290-292].

Il gruppo di ricerca di Akhondzadeh e colleghi (2010) ha condotto uno studio randomizzato in doppio cieco di 16 settimane che ha confrontato lo zafferano (30 mg/die) con il donepezil (10 mg/die) su 46 pazienti con malattia di Alzheimer (AD) da lieve a moderata [293]. Entrambi i gruppi hanno mostrato miglioramenti significativi ed equivalenti nella funzione cognitiva (misurata tramite ADAS-cog), con lo zafferano che ha dimostrato una tollerabilità superiore. In uno studio simile i ricercatori hanno

confrontato lo zafferano (30 mg/die) con la memantina (20 mg/die) in 68 pazienti con AD, e lo zafferano ha mostrato nuovamente un'efficacia simile e non inferiore al farmaco, con minori eventi avversi [294].

Tsolaki et al. (2016) hanno condotto uno studio di durata più lunga (12 mesi) su pazienti con *mild cognitive impairment* (MCI), riscontrando benefici cognitivi sostenuti e un rallentamento del declino cognitivo con la supplementazione di zafferano [295].

Farokhnia et al. (2014) hanno indagato lo zafferano in 54 adulti con MCI. Il gruppo supplementato (30 mg/die di zafferano per 12 mesi) ha dimostrato miglioramenti significativi nella funzione cognitiva e un potenziamento delle prestazioni nei test di memoria (*Wechsler Memory Scale*, $p < 0.05$) [296].

3.3.5. Applicazioni terapeutiche e profilo di sicurezza

Le attuali evidenze scientifiche supportano la supplementazione di zafferano per una serie di indicazioni cliniche. Nello specifico, l'uso è sostenuto da prove di moderata qualità per la depressione da lieve a moderata e per i disturbi d'ansia [285, 286]. Sebbene derivante da studi di piccole dimensioni, si riscontra anche un'evidenza di qualità moderata per l'impiego nel deterioramento cognitivo lieve e nella malattia di Alzheimer da lieve a moderata [293]. I disturbi del sonno, invece, sono supportati da un livello di evidenza inferiore, classificato da bassa a moderata [287]. A queste applicazioni si aggiunge l'indicazione dello Zafferano per la gestione della sindrome premestruale [297].

Le raccomandazioni di dosaggio basate sulle evidenze suggeriscono 30 mg/die di stimmi di zafferano o estratto standardizzato equivalente per la depressione e l'ansia [278], 28-30 mg/die per i disturbi del sonno [287] e 30 mg/die per il declino cognitivo e l'AD [293]. Per la sindrome premestruale, la dose raccomandata è 30 mg/die durante la fase luteale [297]. Le durate ottimali del trattamento variano: per i disturbi dell'umore si raccomandano 4-6 settimane minime, con 8-12 settimane ottimali; per il sonno, 4-8 settimane; e per gli *outcome* cognitivi, da 12 a 52 settimane [278, 287, 292].

Per quanto riguarda i dati sulla sicurezza, le revisioni sistematiche condotte su decine di RCT riportano costantemente un'eccellente tollerabilità [298]. I tassi di eventi avversi sono generalmente paragonabili a quelli del placebo, con bassi tassi di *drop-out* [315]. Gli eventi avversi riportati includono principalmente sintomi gastrointestinali (come nausea, dispepsia e secchezza delle fauci, con una frequenza inferiore al 5%), mal di testa (inferiore al 3%) e vertigini (inferiore al 2%) [278, 290]. Non sono stati segnalati eventi avversi gravi attribuibili allo zafferano negli studi pubblicati [298].

È importante considerare le potenziali interazioni farmacologiche. Le interazioni documentate e teoriche includono gli antidepressivi, per un potenziale effetto serotoninergico additivo (si raccomanda il monitoraggio con SSRI o MAOI), gli anticoagulanti (preoccupazione teorica per l'aumento degli effetti), gli antiipertensivi (potenziale effetto additivo di abbassamento della pressione) e i sedativi (può potenziare gli effetti depressivi del SNC) [300]. Infine, sebbene lo Zafferano in quantità culinarie sia considerato sicuro durante la gravidanza, la supplementazione ad alte dosi non è raccomandata a causa del suo uso tradizionale come abortifaciente e della mancanza di dati sulla sicurezza [298]. Studi multipli negli anziani dimostrano una buona tollerabilità ed efficacia per gli *outcome* cognitivi e dell'umore [292].

4. *Analisi di mercato e Case study*

4.1. Dimensioni e trend del mercato

Il mercato nutraceutico italiano si configura come uno dei settori più dinamici e maturi a livello europeo, riflettendo la profonda enfasi culturale del Paese sulla salute, il benessere e l'approccio naturale all'assistenza sanitaria [301].

Sulla base delle recenti analisi di mercato del settore (Unione Italiana Food su dati New Line), il comparto italiano degli integratori alimentari ha consolidato la sua posizione di leader in Europa. Nel 2023, il fatturato ha raggiunto i 4,5 miliardi di euro, rappresentando il 26% del mercato europeo. Tale performance pone l'Italia al primo posto, nettamente davanti alla Germania (19%) e alla Francia (15%). La rilevanza del fenomeno è sottolineata anche dalla diffusione del consumo: nel medesimo anno, circa 30 milioni di italiani hanno fatto uso di integratori alimentari almeno una volta [302].

Dati New Line aggiornati a ottobre 2025 mostrano che il mercato nutraceutico italiano ha raggiunto e superato i 5 miliardi di euro [303], evidenziando una crescita robusta rispetto ai 3,9 miliardi di euro registrati a fine 2020. Questo si traduce in un tasso di crescita del 28,2% nell'arco di soli cinque anni. Tale traiettoria di espansione è proiettata a persistere nel medio termine, con le analisi settoriali che prevedono il raggiungimento di una quota pari a 7,5 miliardi di euro entro il 2030.

All'interno del vasto mercato nutraceutico italiano, il segmento dedicato al supporto del sonno e al benessere mentale emerge come un'area di significativa espansione. Tale sottocategoria è stata valutata a 222 milioni di euro, rappresentando il 4,4% del fatturato totale del settore. La dinamica di crescita è particolarmente robusta, con una variazione positiva del 7,3% nell'anno mobile 2024-2025 [303].

Diversi elementi contribuiscono alla solida espansione del mercato italiano degli integratori alimentari:

- **Transizioni demografiche:** il fenomeno dell'invecchiamento della popolazione italiana, la più anziana d'Europa con il 24,7% degli individui oltre i 65 anni [304], sta generando una domanda strutturale e crescente di prodotti mirati alla salute e al benessere. Nello specifico, i disturbi del sonno legati all'età sono emersi come un significativo driver del mercato. Le proiezioni demografiche ISTAT rafforzano questa tendenza, stimando che la popolazione anziana possa raggiungere il 34,6% entro il 2050 [305];
- **Pressioni sul sistema sanitario:** il Servizio Sanitario Nazionale (SSN) italiano è soggetto a crescenti pressioni derivanti da vincoli di bilancio e tempi di attesa prolungati per le consultazioni specialistiche [306]. Questa situazione spinge i consumatori a orientarsi verso soluzioni preventive e di automedicazione, inclusi integratori alimentari e nutraceutici [307];
- **Accettazione culturale:** l'Italia vanta una lunga tradizione nell'utilizzo di rimedi naturali ed erboristici, creando un'ampia accettazione culturale per gli approcci nutraceutici alla salute [308]. Questa predisposizione, unita a una crescente consapevolezza sanitaria, sostiene la crescita del mercato [309];

- **Quadro normativo:** il quadro normativo dell'Unione Europea infonde fiducia nei consumatori riguardo alla sicurezza e alla qualità dei nutraceutici, consentendo al contempo *claims* sulla salute che favoriscono lo sviluppo del mercato [310]. L'implementazione italiana delle normative UE è stata particolarmente favorevole ai prodotti nutraceutici basati su evidenze scientifiche [311];
- **Ripresa economica:** la ripresa economica italiana post-pandemica ha incrementato il reddito disponibile da destinare a prodotti per la salute e il benessere [312].

4.2. Dati demografici e comportamenti dei consumatori

La comprensione dei modelli demografici specifici che caratterizzano gli utilizzatori del mercato italiano degli integratori per il sonno è un elemento cruciale. Tali pattern informano e orientano in modo fondamentale sia lo sviluppo di prodotto che le strategie di marketing scientifico.

La principale base di consumatori si estende nella fascia d'età 35-65 anni, che rappresenta il 68% degli acquisti di integratori per il sonno [313]. La ripartizione demografica è la seguente:

- 18-35 anni (14% degli acquisti): fattori legati allo stile di vita, al lavoro a turni o allo stress scolastico/universitario;
- 35-45 anni (22% degli acquisti): problemi di sonno correlati allo stress, preoccupazioni legate all'equilibrio tra lavoro e vita privata (*work-life balance*);
- 45-55 anni (26% degli acquisti): stress da carriera e responsabilità familiari, nelle donne disturbi legati alla menopausa;
- 55-65 anni (20% degli acquisti): alterazioni del sonno dovute all'età e ricerca di ottimizzazione della salute;
- Oltre 65 anni (18% degli acquisti): comorbidità mediche e potenziali effetti indesiderati dovuti a farmaci.

Le donne costituiscono il 62% dei consumatori di integratori per il sonno in Italia [314], un dato che riflette molteplici fattori, tra cui maggiore prevalenza di insonnia e disturbi del sonno nella popolazione femminile, maggiore propensione a ricercare soluzioni sanitarie naturali, influenze ormonali sulla qualità del sonno (ciclo mestruale, menopausa) e maggiore consapevolezza e impegno nella cura preventiva rispetto agli uomini.

I fattori socioeconomici influenzano marcatamente l'utilizzo di integratori alimentari in generale [315]:

- **Livello di istruzione:** esiste una forte correlazione tra istruzione superiore e utilizzo di nutraceutici:
 - Laurea o titolo superiore: 58% degli utilizzatori;
 - Diploma di scuola superiore: 32% degli utilizzatori;
 - Istruzione primaria: 10% degli utilizzatori.
- **Fasce di reddito:** l'utilizzo di integratori cresce in proporzione al reddito disponibile:
 - Reddito elevato (>50'000 € annui): 45% degli utilizzatori;

- Reddito medio (25'000-50'000 € annui): 38% degli utilizzatori;
- Reddito basso (<25'000 € annui): 17% degli utilizzatori.
- **Stato occupazionale:** le categorie professionali che mostrano schemi di utilizzo distinti rispetto alla media sono:
 - Lavoratori a turni: utilizzo superiore del 40% (soprattutto rimedi per riequilibrare il sonno);
 - Dirigenti d'azienda: utilizzo superiore del 35%;
 - Professionisti sanitari: utilizzo superiore del 28%;
 - Educatori: utilizzo superiore del 22%.

Un ulteriore dato interessante da analizzare è la ricerca di informazioni sugli integratori alimentari da parte dei consumatori italiani. Indagini recenti mostrano una chiara preferenza per le fonti professionali. La maggior parte degli italiani che utilizza integratori lo fa su suggerimento di un professionista sanitario. Circa l'82% dei consumatori riceve il consiglio di utilizzare integratori da un medico (di medicina generale o specialista) o da un farmacista [302, 315]. Il farmacista è spesso il primo punto di contatto e il canale d'acquisto privilegiato: la farmacia detiene circa il 77% del mercato totale, a riprova della fiducia nel consiglio professionale [303]. Solo il restante 18% dei consumatori ricorre all'acquisto "fai da te" o su suggerimento di canali non professionali tra cui consigli di amici e familiari, informazioni sul web, o pubblicità tv e su altri *media*. La crescita dell'acquisto online di integratori alimentari è rilevante (soprattutto durante e dopo la pandemia da SARS-CoV-2), ma ad oggi rimane un canale secondario. Spesso infatti la ricerca online serve come fase preliminare, poi validata dal consiglio in farmacia.

Al fine di delineare con maggiore chiarezza i modelli di acquisto *multi-channel* nel mercato degli integratori, i dati di New Line relativi al periodo novembre 2024 – ottobre 2025 evidenziano una netta predominanza del canale farmacia [303]. La ripartizione del fatturato totale mostra infatti:

- **Farmacie (77,4%):** canale primario e dominante, la cui preferenza è correlata alla possibilità di ricevere una consulenza professionale qualificata e alla percezione di elevata fiducia;
- **Piattaforme online (7,8%):** sebbene rappresentino una quota minore, sono il canale con maggior crescita percentuale, e risultano privilegiate per la ricerca del miglior rapporto qualità/prezzo e l'accesso a offerte competitive;
- **Supermercati e Ipermercati (7,5%):** scelti per la facilità di accesso e di acquisto, offrono prezzi mediamente più concorrenziali rispetto al canale farmacia;
- **Parafarmacie (7,2%):** pur detenendo una quota di dieci volte inferiore rispetto alle farmacie, mantengono un ruolo cruciale grazie alla presenza di personale esperto o farmacisti in grado di fornire consigli specifici sul benessere.

MERCATO DEGLI INTEGRATORI ALIMENTARI IN ITALIA - Update Ottobre 2025						
FATTURATO = Sell-Out						
		MAT = Anno Mobile			MAT = Anno Mobile	
		nov 24-ott 25	nov 23-ott 24	Δ tra 2024 e 2025	nov 22-ott 23	Δ tra 2023 e 2024
TOTALE 5 CANALI	% del totale (periodo nov24 - ott25)	5.023.228,9	4.891.084,4	+2,7%	4.626.175,7	+5,7%
FARMACIA	77,4%	3.888.358,4	3.804.274,5	+2,2%	3.606.394,6	+5,5%
PARAFARMACIA	7,2%	360.412,6	349.982,6	+3,0%	342.844,9	+2,1%
ONLINE	7,8%	393.931,9	364.080,5	+8,2%	324.772,2	+12,1%
SUPER+IPER SENZA CORNER	5,0%	253.535,3	243.288,0	+4,2%	229.593,4	+6,0%
SUPER+IPER CON CORNER	2,5%	126.990,6	129.458,9	-1,9%	122.570,5	+5,6%

Tabella 1. Dati New Line Ricerche di Mercato, aggiornati a ottobre 2025.

L'analisi della ripartizione del fatturato per canale rivela cambiamenti significativi nelle dinamiche di crescita. Sebbene il canale farmacia mantenga il primato e una crescita costante, l'andamento manifesta un rallentamento confrontando le annualità 2023-2024 (+5,5%) e 2024-2025 (+2,2%). Un simile fenomeno di decelerazione è riscontrabile nel canale online che, dopo aver registrato in precedenza una crescita a doppia cifra (+12,1%), sta moderando la sua espansione nel periodo 2024-2025 (+8,2%). Anche il canale della Grande Distribuzione Organizzata sta attraversando un periodo di rallentamento della crescita, sia nelle configurazioni *con corner* (presenza del farmacista) sia in quelle *senza corner*. In controtendenza, si osserva una lieve acquisizione di quote di mercato da parte del canale parafarmacia.

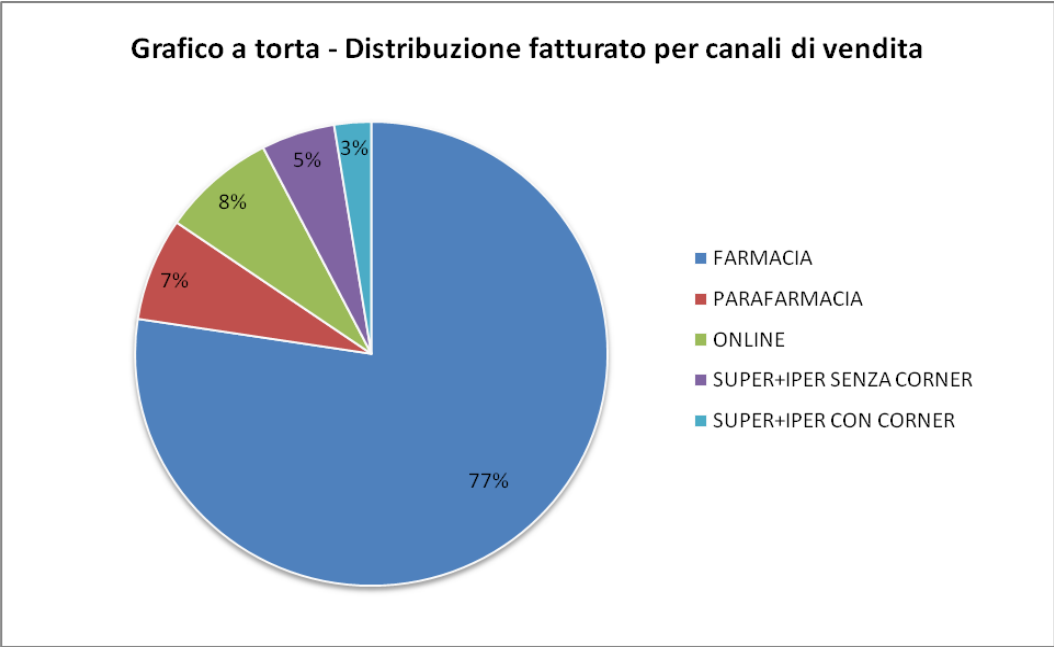


Figura 6. Visualizzazione con grafico a torta della ripartizione del fatturato per canali di vendita. Fonte: New Line Ricerche di Mercato, Report sul mercato degli integratori alimentari in Italia, dati aggiornati a ottobre 2025.

4.3. Categorie di prodotto e preferenze dei consumatori

FOCUS SEGMENTO "INSONNIA E BENESSERE MENTALE" - Update Ottobre 2025						
		FATTURATO = Sell-Out				
TOTALE 5 CANALI		MAT = Anno Mobile			MAT = Anno Mobile	
Farmacia, Paraf, Online, GDO		nov 24-ott 25	nov 23-ott 24	Δ tra 2024 e 2025	nov 22-ott 23	Δ tra 2023 e 2024
INSONNIA E BENESSERE MENTALE		222.834,1	207.620,9	+7,3%	190.741,2	+8,8%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 1	16.562,9	16.076,6	+3,0%	14.891,1	+8,0%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 2	10.311,7	10.434,6	-1,2%	10.583,8	-1,4%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 3	5.673,1	4.789,3	+18,5%	4.180,7	+14,6%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 4	4.732,1	4.395,1	+7,7%	4.229,7	+3,9%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 5	4.169,0	4.066,8	+2,5%	3.715,9	+9,4%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 6	3.999,4	3.964,4	+0,9%	3.616,7	+9,6%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 7	3.670,3	3.492,5	+5,1%	155,5	>999%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 8	3.549,6	3.537,2	+0,3%	3.527,9	+0,3%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 9	3.486,8	3.137,1	+11,1%	3.159,5	-0,7%
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	Prodotto 10	3.462,5	3,5	>999%	0,0	nd
INSONNIA E BENESSERE MENTALE	TUTTI GLI ALTRI	163.216,7	153.723,8	+6,2%	142.680,3	+7,7%

Tabella 2. Dati New Line Ricerche di Mercato, aggiornati a ottobre 2025 – focus sul segmento “Insonnia e benessere mentale”.

L’analisi della ripartizione del fatturato per prodotto rivela una notevole frammentazione, confermata dal fatto che la referenza con il *sell-out* più elevato detiene una quota di mercato modesta, pari a solo il 7,4% del totale del segmento. Questa distribuzione eterogenea è ulteriormente complicata dall’instabilità dei trend di crescita, che manifestano significative oscillazioni tra le diverse referenze confrontando i risultati delle annualità 2023-2024 e 2024-2025.

Posizione in classifica del prodotto	Composizione del prodotto per unità posologica (solo ingredienti attivi)
1° e 2° prodotto (in pastiglie gommose)	Melatonina 1 mg; Vitamina B6 1,4 mg; Estratto di Valeriana 30 mg; Estratto di Camomilla 10 mg; Estratto di Lavanda 10 mg.
3° prodotto (in gocce)	Vitamina B6 1,4mg; Melatonina 1 mg; Triptofano 20 mg.
4° e 9° prodotto (in gocce)	Melatonina 1 mg.
5° prodotto (in compresse)	Estratto secco di Valeriana 45 mg; Melatonina 1 mg; Escalzia 5 mg; Triptofano 3 mg; Niacina 18 mg; Estratto di Griffonia 0,345 mg; Vitamina B1 12,5 mg.
6° prodotto (in compresse)	Estratto di Biancospino 230 mg; Estratto di Melissa 170 mg; Magnesio ossido 50 mg.
7° e 10° prodotto (in pastiglie gommose)	Melatonina 1 mg; Estratto di Ashwagandha 27 mg; Estratto di Camomilla 27 mg; Estratto di Melissa 27 mg; Estratto di Lavanda 27 mg; Estratto di Valeriana 7 mg.
8° prodotto (in gocce)	L-teanina 100 mg; Estratto di Valeriana 60 mg; Melatonina 1 mg; Olio essenziale di Arancio dolce 0,03 ml.

Analizzando le forme nutraceutiche e le composizioni di ingredienti attivi dei primi 10 prodotti per fatturato (che corrispondono a circa il 26% del totale del segmento) si può osservare che:

- L’ingrediente più diffuso è la melatonina, presente in 9 prodotti su 10 (1°, 2°, 3°, 4°, 5°, 7°, 8°, 9° e 10°). Questo suggerisce che la regolazione del ritmo sonno-veglia è il meccanismo d’azione più ricercato in questa categoria di prodotti;
- Gli estratti vegetali sono molto popolari, infatti la valeriana è presente in 6 prodotti (1°, 2°, 5°, 7°, 8° e 10°), la lavanda e la camomilla in 4 prodotti (1°, 2°, 7°, 10°), la melissa in 3 prodotti (6°, 7°, 10°), e altre referenze contengono biancospino, ashwagandha e griffonia.

- La vitamina B6 è presente nelle referenze sui tre gradini più alti del podio, mentre il triptofano è presente in 2 prodotti (3° e 5°). Il magnesio è contenuto in una sola referenza, e in forma di ossido (a basso assorbimento).
- Vi sono solamente 2 prodotti mono-componente (il 4° e il 9°, entrambi in gocce) e che contengono esclusivamente melatonina (1 mg), suggerendo che una parte del mercato è comunque orientata a soluzioni minimali e dirette.
- La maggior parte dei prodotti contiene una combinazione di ingredienti per agire su diversi aspetti del sonno e del benessere mentale (ansia, rilassamento, fase di addormentamento).
- Le pastiglie gommose (1°, 2°, 7°, 10°) tendono ad essere formulazioni ricche che combinano la melatonina con un ampio spettro di estratti vegetali;
- Le gocce (3°, 4°, 8°, 9°) sono utilizzate sia per formulazioni semplici che per formulazioni che includono amminoacidi (3°: triptofano) o ingredienti specifici (8°: L-teanina, olio essenziale di arancio dolce).
- Le compresse (5°, 6°) mostrano anch'esse una grande varietà, sia complessa (5°) che focalizzata su dosi più elevate di singoli estratti (6°).

In sintesi, i prodotti per il sonno con il fatturato più elevato tendono a offrire una combinazione di melatonina per l'induzione del sonno e una sinergia di estratti vegetali (soprattutto valeriana, camomilla, melissa e lavanda) per promuovere il rilassamento e ridurre l'ansia.

4.4. Proposta ipotetica di *case study*

4.4.1. Titolo dello studio e razionale scientifico

SLEEP-WELL Study: studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare gli effetti di una combinazione standardizzata di Magnesio-Ashwagandha-Zafferano sulla qualità del sonno e sui biomarcatori di longevità in adulti sani di mezza età.

La ricerca proposta intende colmare una lacuna critica nella ricerca nutraceutica, esaminando gli effetti sinergici di tre composti ben caratterizzati, dotati di meccanismi d'azione complementari, sulla qualità del sonno e sui biomarcatori dell'invecchiamento. Sebbene studi individuali abbiano dimostrato l'efficacia del magnesio, dell'ashwagandha e dello zafferano nel miglioramento del sonno, nessuna ricerca precedente ha valutato sistematicamente i loro effetti combinati attraverso un approccio standardizzato e *multi-target*. Il razionale per questo studio di combinazione deriva da diverse linee di evidenza convergenti:

- Ciascun composto agisce su aspetti distinti della regolazione del sonno. Magnesio: potenziamento della neurotrasmissione GABAergica e blocco naturale dei canali del calcio; Ashwagandha: modulazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e fornitura di protezione adattogena contro lo stress; Zafferano: influenza su molteplici sistemi neurotrasmettitoriali (serotonina, dopamina, GABA) e azione neuroprotettiva;

- L'evidenza preclinica suggerisce che la combinazione di questi composti possa fornire benefici potenziati rispetto agli interventi singoli in quanto gli effetti ansiolitici e di riduzione dello stress dell'ashwagandha potrebbero ottimizzare le azioni del magnesio volte a promuovere il sonno, mentre gli effetti multi-neurotrasmettitoriali dello zafferano potrebbero complementare le azioni GABAergiche specifiche del magnesio;
- La popolazione target di adulti sani di mezza età (40-65 anni) rappresenta un *cluster* demografico che sperimenta crescente prevalenza di disturbi del sonno dovuti a stress e cambiamenti ormonali (transizioni della vita lavorativa e menopausa/andropausa), segni precoci di invecchiamento biologico che possono essere modificabili tramite un intervento nutraceutico mirato, elevata motivazione per le misure di salute preventiva e gli approcci naturali, risorse finanziarie sufficienti per accedere a interventi nutraceutici;
- L'analisi di mercato italiana precedentemente discussa ha dimostrato una forte domanda dei consumatori per prodotti combinati basati sull'evidenza;
- La combinazione proposta utilizza ingredienti con profili di sicurezza consolidati e approvazione normativa nell'Unione Europea, facilitando la futura commercializzazione di risultati di studio positivi.

4.4.2. Obiettivi dello studio clinico

L'obiettivo primario dello studio è valutare l'efficacia di una combinazione standardizzata di magnesio (200 mg) in forma bisglicinata, estratto di radice di ashwagandha KSM-66® (500 mg) ed estratto di stimmi di zafferano affron® (28 mg) sulla qualità del sonno, misurata tramite il punteggio globale del *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI), in adulti di mezza età con disturbi del sonno da lievi a moderati. A questo obiettivo si affianca la necessaria valutazione della sicurezza e della tollerabilità dell'intervento combinato, attraverso il monitoraggio degli eventi avversi e le valutazioni di laboratorio.

Tra gli obiettivi secondari possono figurare alcuni o tutti i seguenti:

1. Valutare gli effetti dell'intervento sui parametri oggettivi del sonno misurati mediante attigrafia, inclusi l'efficienza del sonno, il tempo totale di sonno, la veglia dopo l'inizio del sonno e la latenza di insorgenza del sonno;
2. Valutare i cambiamenti nell'architettura del sonno utilizzando la polisonnografia in un sottogruppo di partecipanti;
3. Esaminare gli effetti dell'intervento sulla sonnolenza diurna misurata dalla *Epworth Sleepiness Scale*;
4. Indagare gli effetti dell'intervento sulla lunghezza dei telomeri come marcatore di invecchiamento cellulare;
5. Valutare i cambiamenti nei biomarcatori infiammatori – tra cui la proteina C-reattiva (PCR), l'interleuchina-6 (IL-6) e il fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α) – e di stress ossidativo – malondialdeide (MDA) e capacità antiossidante totale;
6. Valutare gli effetti dell'intervento sui biomarcatori di stress, inclusi i livelli di cortisolo e le scale di stress percepito;

7. Esaminare i cambiamenti nei marcatori metabolici pertinenti all'invecchiamento sano, inclusi la tolleranza al glucosio e la sensibilità all'insulina;
8. Valutare i cambiamenti nella qualità della vita utilizzando questionari validati.

4.4.3. Disegno dello studio e metodologia

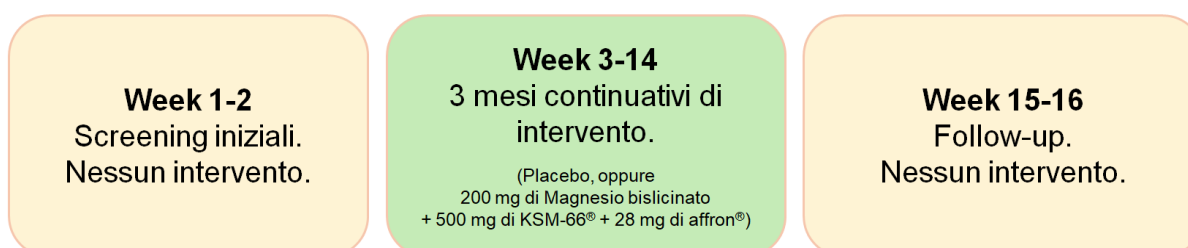
Lo studio sarà condotto secondo un disegno sperimentale di tipo randomizzato e controllato, basato sul principio del doppio cieco. La metodologia prevede la suddivisione dei partecipanti in gruppi paralleli, con un rapporto di allocazione 1:1, garantendo che metà del campione riceva i nutraceutici [magnesio bisglicinato (200 mg), estratto di radice di ashwagandha KSM-66® (500 mg) ed estratto di stimmi di zafferano affron® (28 mg)] e l'altra metà il placebo.

Tempistiche previste:

- Periodo di screening: 2 settimane;
- Periodo di intervento (trattamento): 12 settimane;
- Periodo di follow-up: 2 settimane;
- Durata totale dello studio: 16 settimane per partecipante.

Sede dello studio: opportuna *facility* selezionata per avere una disponibilità conforme di attrezzature specializzate per la ricerca sul sonno (ad es. polisonnografia), presenza di personale di ricerca esperto sul sonno, garanzia di accesso a laboratori avanzati per l'analisi dei biomarcatori selezionati e rapporti consolidati con le autorità regolatorie e i comitati etici.

In assenza di un'indagine clinica precedentemente condotta, e considerando le indicazioni metodologiche ottimali per gli studi nutraceutici, la presente tesi propone un disegno metodologico plausibile ai fini della discussione dei potenziali risultati. A tal riguardo, si ipotizza uno studio pilota su un campione di 80 soggetti sani, in età adulta, con una stratificazione per età e per genere nella randomizzazione che assicuri la presenza di 20 donne e 20 uomini in ciascuno dei due bracci (40 soggetti nel gruppo *placebo* e 40 nel gruppo *intervento*).



4.4.4. Aspettative sui risultati

Sulla base delle evidenze derivanti da studi sui singoli componenti e da dati pilota, si stabiliscono aspettative specifiche per l'efficacia dell'intervento combinato. L'obiettivo primario prevede una significativa riduzione del punteggio globale PSQI, quantificata in un miglioramento atteso di 3,5-4,5 punti rispetto al *baseline*, un dato che contrasterebbe

nettamente con il miglioramento marginale atteso nel gruppo placebo (0,5-1,0 punti). Coerentemente con ciò, si attende un tasso di risposta clinica elevato, stimato tra il 75% e l'85% dei partecipanti che raggiungeranno un miglioramento superiore ai 3 punti del PSQI.

In merito agli *outcome* secondari, si prevedono miglioramenti sostanziali nei parametri oggettivi del sonno, misurati tramite attigrafia. Ci si aspetta un aumento dell'efficienza del sonno del 8-12% (portandola da circa 75% a 83-87%), e un incremento del tempo totale di sonno di 30-45 minuti. Sul fronte della qualità del riposo, si stima una riduzione della latenza di insorgenza del sonno di 10-15 minuti e una diminuzione della veglia dopo l'insorgenza del sonno (WASO) di 15-25 minuti.

Parallelamente al miglioramento del sonno, le aspettative si estendono ai biomarcatori di longevità. Si prevede una riduzione dei marcatori infiammatori (CRP, IL-6 e TNF- α) stimata tra il 15% e il 25%, un valore considerato clinicamente rilevante. Riguardo allo stress ossidativo, si attende una riduzione del 20-30% della MDA e un aumento del 15-20% della capacità antiossidante totale, indicativi di un beneficio antiossidante significativo. Per la lunghezza dei telomeri, l'obiettivo è la stabilizzazione in netta controtendenza rispetto al fisiologico declino correlato all'età, suggerendo un potenziale beneficio in termini di longevità cellulare.

Lo studio è progettato con aspettative di sicurezza elevate, basate sui profili tossicologici consolidati dei singoli componenti: non si prevedono quindi eventi avversi rilevanti.

4.4.5. Implicazioni future e limitazioni della ricerca

Risultati positivi da questo studio avrebbero profonde implicazioni per la pratica clinica, supportando l'integrazione di combinazioni nutraceutiche *evidence-based* nella medicina del sonno. Ciò consentirebbe lo sviluppo di linee guida cliniche specifiche e programmi di formazione per i professionisti sanitari.

Le implicazioni regolatorie e commerciali sono parimenti rilevanti. Lo studio fornirebbe il sostegno necessario per le domande di *health claim* nell'Unione Europea, creando una solida base di evidenze per lo sviluppo e la commercializzazione del prodotto. Questo si tradurrebbe in un significativo vantaggio competitivo nel mercato nutraceutico e porrebbe le basi per *trial* di conferma su larga scala.

Lo studio non solo mira alla validazione dell'approccio nutraceutico combinato, ma stabilisce anche un *framework* per futuri studi sull'intersezione tra sonno e longevità. Contribuisce alla validazione dei biomarcatori nell'ambito della ricerca sull'invecchiamento e allo sviluppo metodologico dei *trial* clinici in campo nutraceutico. Nonostante il rigore, è essenziale riconoscere le limitazioni dello studio attuali, tra cui la natura monocentrica che potrebbe ridurre la generalizzabilità, la durata limitata a 16 settimane che non permette di catturare gli effetti a lungo termine, e la dimensione relativamente piccola del campione che vincola le analisi sui sottogruppi.

Le priorità di ricerca future includono la conduzione di *trial* di conferma più ampi e multicentrici, studi a più lungo termine (6-12 mesi) per gli *outcome* di longevità, e l'esplorazione di studi dose-effetto e di specifiche popolazioni cliniche (come gli anziani o i pazienti con insonnia cronica).

In definitiva, il disegno dello studio e i risultati attesi sono concepiti per facilitare la traslazione rapida nella pratica clinica attraverso la fornitura di raccomandazioni di dosaggio basate sull'evidenza, protocolli di monitoraggio della sicurezza e strumenti di misurazione validati, consentendo un'integrazione fluida con gli approcci convenzionali della medicina del sonno.

Questa proposta rappresenta, in conclusione, un modello completo di ricerca clinica rigorosa nel settore nutraceutico, colmando il divario tra la medicina tradizionale e gli interventi sanitari naturali basati sull'evidenza.

5. *Discussione e Conclusione*

5.1. Sintesi dei risultati

5.1.1. Integrazione delle evidenze dalla letteratura

La completa revisione della letteratura scientifica presentata in questa tesi rivela un corpo di evidenze robusto e convergente a supporto della relazione bidirezionale tra la qualità del sonno e la longevità umana. Le basi meccanicistiche sottostanti a questa relazione sono sempre più caratterizzate e coinvolgono molteplici sistemi biologici interconnessi che operano a livello cellulare, tissutale e sistemico.

L'evidenza dimostra che il sonno svolge funzioni fondamentali nella riparazione cellulare, nella regolazione metabolica, nel mantenimento del sistema immunitario e nella salute neurologica, tutti componenti critici dell'invecchiamento in salute [10]. Durante il sonno, in particolare durante la fase di sonno a onde lente (SWS), il sistema glinfatico del cervello diventa altamente attivo, facilitando la rimozione dei prodotti di scarto metabolico, incluse le proteine β -amiloide e tau, associate alle malattie neurodegenerative [11]. Questa scoperta fornisce un collegamento meccanicistico diretto tra la qualità del sonno e la longevità cognitiva, suggerendo che l'ottimizzazione del sonno possa fungere da intervento preventivo contro il declino cognitivo correlato all'età.

L'orchestrazione ormonale che avviene durante il sonno, inclusi i picchi di rilascio dell'ormone della crescita (GH) durante il sonno a onde lente e il naturale declino circadiano dei livelli di cortisolo, crea un ambiente ottimale per la riparazione dei tessuti e la rigenerazione cellulare [12]. Questi processi influenzano direttamente la longevità promuovendo la sintesi proteica, potenziando i meccanismi di riparazione del DNA e supportando la funzione mitocondriale: tutti elementi distintivi dell'*healthy aging* [316].

L'analisi dei principali sistemi neurotrasmettitoriali rivela un quadro complesso ma coerente per la comprensione della regolazione del sonno e del suo rapporto con i processi di invecchiamento. Il ruolo del sistema GABAergico come principale rete inibitoria fornisce la base per l'inizio e il mantenimento del sonno, mentre il suo declino correlato all'età contribuisce ai disturbi del sonno negli adulti più anziani [333]. Il duplice ruolo del sistema serotonergico nella promozione della veglia e nella sintesi della melatonina crea un collegamento cruciale tra la funzione neurotrasmettitoriale diurna e la qualità del sonno notturno [31]. La funzione del sistema adenosinergico come sensore metabolico, che collega il dispendio energetico cellulare alla pressione del sonno, fornisce una connessione diretta tra le attività quotidiane e la necessità di dormire [39]. La reattività di questo sistema a fattori legati allo stile di vita, come il consumo di caffeina e l'esercizio fisico, offre punti di intervento pratici per l'ottimizzazione del sonno [54].

Studi epidemiologici su larga scala dimostrano costantemente la relazione a U tra la durata del sonno e il rischio di mortalità, con durate sia brevi (< 7 ore) che lunghe (> 8 ore) associate a un aumento della mortalità [5]. Ancora più importante, l'evidenza emergente suggerisce che la qualità del sonno possa essere un predittore più potente degli *outcome* di salute rispetto alla sola durata, evidenziando l'importanza di interventi

che ottimizzino l'architettura del sonno piuttosto che limitarsi a prolungare il tempo di sonno [318].

5.1.2. Evidenze di efficacia dei nutraceutici

La valutazione sistematica di magnesio, ashwagandha e zafferano rivela evidenze convincenti sulla loro efficacia individuale nel miglioramento del sonno, con un crescente supporto per approcci sinergici in combinazione.

Magnesio: l'evidenza relativa agli effetti del magnesio sulla promozione del sonno è particolarmente robusta, con diversi *trials* randomizzati e controllati che dimostrano miglioramenti significativi nella qualità, nell'efficienza e nella latenza di insorgenza del sonno [208, 210]. I meccanismi d'azione del magnesio – potenziamento del recettore GABA, modulazione dei canali del calcio e regolazione dell'asse HPA – forniscono un approccio *multi-target* che interviene su diverse vie coinvolte nei disturbi del sonno [201]. L'evidenza clinica è particolarmente forte nelle popolazioni anziane e negli individui con carenza di magnesio, suggerendo che l'integrazione possa essere particolarmente vantaggiosa per le alterazioni del sonno correlate all'età [162]. L'eccellente profilo di sicurezza e gli effetti collaterali minimi rendono le forme organiche di magnesio dei validi interventi di prima linea per l'ottimizzazione del sonno.

Ashwagandha: la classificazione dell'ashwagandha come adattogeno le conferisce un profilo nutraceutico unico, in grado di agire sia sulla qualità del sonno sia sulla resilienza allo stress [239]. L'evidenza clinica dimostra miglioramenti significativi nella latenza di insorgenza del sonno, nel tempo totale di sonno e nell'efficienza del sonno, con benefici particolarmente pronunciati negli individui che manifestano disturbi del sonno correlati allo stress [233]. La capacità del composto di normalizzare i ritmi del cortisolo potenziando al contempo la funzione GABAergica crea un meccanismo duale che affronta sia le componenti fisiologiche che psicologiche dei disturbi del sonno [240, 241]. Questo profilo adattogeno risulta di particolare valore nella società contemporanea, dove lo stress cronico è un fattore che contribuisce in modo predominante alle alterazioni del riposo notturno.

Zafferano: il complesso profilo fitochimico dello zafferano e i suoi effetti multi-neurotrasmettitoriali offrono un approccio sofisticato all'ottimizzazione del sonno e del tono dell'umore [275]. L'evidenza clinica dimostra non solo miglioramenti nella qualità del sonno, ma anche stabilizzazione dell'umore e potenziamento cognitivo, suggerendo benefici più ampi oltre al sonno stesso [282, 283]. Le proprietà neuroprotettive del composto, che includono l'inibizione dell'aggregazione della β -amiloide e la stabilizzazione della proteina tau, lo posizionano come un intervento singolare in grado di affrontare simultaneamente la qualità del sonno e la salute cognitiva [284, 290]. Questo profilo di doppio beneficio si allinea perfettamente con la premessa centrale della tesi, che collega l'ottimizzazione del sonno alla promozione della longevità.

La complementarietà meccanicistica di questi tre composti fornisce una solida base teorica per gli approcci combinati. Il potenziamento GABAergico fornito dal

magnesio può essere ulteriormente potenziato dalla riduzione dello stress indotta dall'ashwagandha e dagli effetti multi-neurotrasmettitoriali dello zafferano [240]. Le evidenze cliniche preliminari per prodotti combinati suggeriscono benefici additivi o sinergici che superano gli effetti dei singoli componenti [220].

5.1.3. Validazione di mercato e domanda dei consumatori

L'analisi del mercato nutraceutico italiano fornisce una convincente validazione della domanda dei consumatori per soluzioni per il benessere, e nello specifico per il sonno, basate sull'evidenza, con diversi risultati chiave che supportano la fattibilità commerciale degli interventi proposti.

La robusta crescita del mercato italiano degli integratori per il sonno supera significativamente quella del mercato nutraceutico complessivo, indicando una domanda forte e in aumento da parte dei consumatori [302]. La popolazione *target* primaria – adulti di mezza età con istruzione superiore e reddito disponibile – si allinea perfettamente con il profilo dei destinatari di interventi basati sull'evidenza [313].

Le preferenze dei consumatori per gli estratti standardizzati e l'evidenza clinica dimostrano una comprensione sofisticata dei fattori di qualità che distinguono i prodotti efficaci dalle alternative inferiori [314]. La scelta di prodotti in combinazione convalida l'attenzione della tesi sugli approcci multi-ingrediente, mentre la crescente accettazione dei prodotti *premium* suggerisce una prontezza del mercato per formulazioni innovative e basate sull'evidenza [303].

La continua dominanza del canale farmaceutico (77% della quota di mercato) sottolinea l'importanza dell'approvazione e della formazione dei professionisti sanitari [303]. Questo dato suggerisce che una penetrazione di successo del mercato richieda non solo l'educazione del consumatore, ma anche programmi formativi completi per farmacisti e altri operatori sanitari.

5.2. Implicazioni principali

5.2.1. Implicazioni per la pratica clinica

L'evidenza presentata in questa tesi porta a significative implicazioni per la pratica clinica, in particolare nei campi della medicina del sonno, della medicina geriatrica e della sanità preventiva.

Le prove cliniche robuste a favore di magnesio, ashwagandha e zafferano ne supportano l'integrazione negli approcci terapeutici completi per la medicina del sonno, in particolare come interventi di prima linea per i disturbi del sonno da lievi a moderati [220, 236, 287]. Gli eccellenti profili di sicurezza e le interazioni farmacologiche minime rendono questi composti adatti per i pazienti che non tollerano o preferiscono evitare i farmaci ipnotici convenzionali [223, 255, 298]. I meccanismi d'azione *multi-target* suggeriscono che gli interventi nutraceutici potrebbero essere particolarmente efficaci per i disturbi del sonno complessi che coinvolgono molteplici vie, come l'insonnia correlata allo stress o le alterazioni del sonno dovute all'età [65]. Inoltre, le proprietà

adattogene dell'ashwagandha e gli effetti neuroprotettivi dello zafferano forniscono benefici aggiuntivi che si estendono oltre il solo miglioramento del sonno [236, 278, 293].

La valutazione *baseline* dello stato del magnesio, dei ritmi del cortisolo e dei marcatori infiammatori potrebbe aiutare a predire la risposta al trattamento e a ottimizzare le strategie di dosaggio. Questo approccio personalizzato si allinea con le tendenze più ampie della medicina di precisione e potrebbe migliorare gli *outcome* del trattamento riducendo al contempo i costi [319].

L'evidenza supporta lo sviluppo di linee guida cliniche per l'uso dei nutraceutici nella medicina del sonno, fornendo raccomandazioni per la selezione dei pazienti, la valutazione della qualità dei prodotti, i protocolli di dosaggio e il monitoraggio degli *outcome*. Tali linee guida contribuirebbero a migliorare la coerenza delle cure, garantendo al contempo la sicurezza del paziente e l'efficacia del trattamento.

5.2.2. Rilevanza per la sanità pubblica

I risultati di questa tesi hanno ampie implicazioni per le politiche di sanità pubblica e per le strategie di assistenza sanitaria preventiva. Data l'elevata prevalenza dei disturbi del sonno, che colpiscono fino al 30% degli italiani [320], gli interventi nutraceutici *evidence-based* potrebbero contribuire significativamente al miglioramento della salute della popolazione e l'impatto degli eventi sistemici correlati ad un sonno di scarsa qualità. Gli eccellenti profili di sicurezza e l'accessibilità di questi interventi li rendono idonei per iniziative di promozione della salute.

Il legame tra l'ottimizzazione del sonno e la longevità suggerisce che gli interventi di sanità pubblica focalizzati sul sonno potrebbero generare benefici a lungo termine per l'invecchiamento in salute e per la riduzione dei costi sanitari [58]. L'analisi di mercato italiana ha già dimostrato che tali interventi sarebbero ben accolti dalla popolazione target, supportando la loro fattibilità e sostenibilità.

L'evidenza sostiene l'integrazione dell'ottimizzazione del sonno nei programmi di assistenza sanitaria preventiva, in particolare per gli adulti di mezza età a rischio di declino della salute correlato all'età [11]. I benefici *multi-target* dei composti studiati – che affrontano sonno, stress, infiammazione e funzione cognitiva – si allineano perfettamente con gli obiettivi dei programmi di assistenza sanitaria preventiva globale. Questo allineamento suggerisce opportunità di integrazione con i programmi di salute esistenti e le iniziative di promozione del benessere.

5.2.3. Impatto per la ricerca e sviluppo

I risultati di questa tesi hanno implicazioni significative per le future direzioni di ricerca e per lo sviluppo di prodotti nell'industria nutraceutica. Il razionale meccanicistico e l'evidenza preliminare per gli effetti sinergici supportano un cambio di paradigma dagli studi sui singoli composti verso gli approcci combinati basati su meccanismi d'azione complementari. Questa transizione potrebbe migliorare l'efficacia terapeutica, riducendo al contempo il rischio di tolleranza ed effetti collaterali associati agli interventi a bersaglio unico. Il successo degli approcci combinati in altre aree terapeutiche, come la medicina cardiovascolare e l'oncologia, fornisce un precedente per gli interventi

nutraceutici *multi-target* [321]. Questo approccio metodologico potrebbe accelerare lo sviluppo di prodotti naturali per la salute più efficaci.

L'integrazione dei biomarcatori di longevità con le valutazioni della qualità del sonno offre un *framework* per lo sviluppo di nutraceutici che affrontano molteplici aspetti dell'invecchiamento in salute. Questo approccio può guidare la selezione di composti e combinazioni con il maggiore potenziale per promuovere sia la qualità del sonno sia la longevità [322].

L'approccio integrato alla generazione di evidenze dimostrato in questa tesi – che combina studi meccanicistici, *trials* clinici e analisi di mercato – fornisce un modello replicabile per le sottomissioni regolatorie e le domande di *health claim* [323]. Questo approccio integrato potrebbe accelerare l'approvazione regolatoria e l'accesso al mercato per i prodotti nutraceutici basati sull'evidenza. L'enfasi sulla standardizzazione, sul controllo qualità e sulla validazione clinica si allinea con le aspettative normative in evoluzione per i prodotti nutraceutici, e le aziende che adottano questo approccio *evidence-based* possono ottenere vantaggi competitivi sul mercato.

I risultati della tesi potrebbero fungere da motore per l'innovazione in diverse aree rilevanti dell'industria del settore, tra cui:

- Tecnologie avanzate di estrazione e standardizzazione per garantire uniformità degli ingredienti di derivazione vegetale;
- Sistemi di *delivery* innovativi per ottimizzare la biodisponibilità e gli effetti terapeutici;
- Integrazione con la salute digitale (*digital health*) per monitorare la risposta al trattamento e ottimizzare il dosaggio;
- Piattaforme di nutrizione / nutraceutica personalizzata basate su test genetici e di biomarcatori.

5.3. Limitazioni e considerazioni metodologiche

5.3.1. Limitazioni della revisione della letteratura

Sebbene la revisione della letteratura fornisca una base esauriente per le conclusioni della tesi, è doveroso riconoscere diverse limitazioni intrinseche.

Gli studi esaminati presentano una significativa eterogeneità nel disegno, nelle caratteristiche della popolazione, nelle misure di *outcome* e nei protocolli di intervento. Questa eterogeneità complica i confronti diretti tra gli studi e limita la forza delle conclusioni derivanti da potenziali meta-analisi [324]. La ricerca futura dovrebbe dare la priorità a misure di *outcome* e protocolli di studio standardizzati per consentire una sintesi delle evidenze più robusta.

La maggior parte degli studi clinici sugli interventi nutraceutici è di durata relativamente breve (8-12 settimane), limitando la comprensione dell'efficacia e della sicurezza a lungo termine [16]. La relazione tra l'ottimizzazione del sonno e la longevità richiede studi a più lungo termine per stabilire la causalità e quantificare appieno i benefici.

Sebbene i meccanismi d'azione proposti siano supportati da evidenze precliniche, la validazione meccanicistica diretta negli studi sull'uomo è spesso limitata. Sono

necessarie indagini più sofisticate basate su biomarcatori e studi meccanicistici approfonditi per confermare in modo definitivo le vie fisiologiche proposte.

5.3.2. Limitazione dell'ipotetico *case study*

Il trial clinico proposto, pur essendo metodologicamente rigoroso, presenta diverse limitazioni che devono essere considerate nell'interpretazione dei potenziali risultati.

La dimensione del campione proposta (80 partecipanti, 40 per gruppo), fornisce una potenza statistica adeguata per l'*endpoint* primario, ma limita la capacità di rilevare effetti di minore entità, di condurre analisi significative sui sottogruppi o di identificare eventi avversi rari [325].

Il periodo di intervento di 12 settimane, sebbene appropriato per valutare i miglioramenti della qualità del sonno, potrebbe non essere sufficiente per rilevare cambiamenti significativi nei biomarcatori di longevità. In particolare, le variazioni nella lunghezza dei telomeri necessiterebbero di periodi di intervento più prolungati per dimostrare effetti significativi. In aggiunta, la relazione tra le alterazioni dei biomarcatori selezionati e gli effettivi benefici in termini di longevità richiede una validazione attraverso studi di *follow-up* a lungo termine.

Il disegno monocentrico, pur garantendo la coerenza nelle procedure e nelle valutazioni, limita la generalizzabilità a diverse popolazioni e contesti sanitari. Studi multicentrici fornirebbero un'evidenza più robusta per l'implementazione clinica [326].

Il focus su adulti sani di mezza età con disturbi del sonno da lievi a moderati potrebbe non riflettere la più ampia popolazione di individui che potrebbero beneficiare di questi interventi. Studi condotti su popolazioni cliniche con disturbi del sonno diagnosticati o su individui anziani con alterazioni del sonno legate all'età fornirebbero importanti evidenze aggiuntive.

5.3.3. Punti di forza e innovazioni metodologiche

Nonostante le limitazioni appena discusse, la tesi presenta diversi punti di forza e innovazioni metodologiche che rafforzano la validità e l'impatto dei risultati.

L'integrazione della comprensione meccanicistica con l'evidenza clinica fornisce una solida base per gli interventi proposti. L'analisi dettagliata dei sistemi neurotrasmettitoriali e delle loro interazioni con i processi di invecchiamento offre *insight* che vanno oltre la semplice dimostrazione di efficacia.

Il focus sugli interventi in combinazione, basati su meccanismi d'azione complementari, rappresenta un approccio innovativo che può migliorare gli *outcome* terapeutici. Questa strategia affronta la complessità dei disturbi del sonno e dei processi di invecchiamento in modo più completo rispetto agli interventi a bersaglio unico.

L'inclusione dei biomarcatori di longevità accanto alle valutazioni della qualità del sonno offre un'opportunità unica per esaminare direttamente la relazione tra sonno e invecchiamento [327]. Questo approccio può convalidare le connessioni teoriche tra l'ottimizzazione del sonno e l'invecchiamento in salute [328].

L'analisi di mercato completa fornisce un contesto pratico per i risultati della ricerca e dimostra l'applicabilità degli interventi nel mondo reale. Questa integrazione di

prospettive scientifiche e commerciali è spesso assente nella ricerca accademica, ma è cruciale per la traduzione nella pratica clinica [329].

L'enfasi sulla standardizzazione, sul controllo qualità e sulla selezione di prodotti basati sull'evidenza affronta le principali limitazioni nella ricerca nutraceutica. Questa attenzione alla qualità può fungere da modello per futuri studi nutraceutici.

5.4. Direzioni future della ricerca

La tesi evidenzia diverse priorità di ricerca, a breve e a lungo termine, cruciali per l'avanzamento del settore nutraceutico.

Nel breve termine, la ricerca dovrebbe concentrarsi sull'ottimizzazione dose-risposta dei composti e delle loro combinazioni, sulla validazione meccanicistica avanzata attraverso *neuroimaging* e biomarcatori, e sul miglioramento della biodisponibilità tramite nuovi sistemi di *delivery*. È essenziale definire profili di sicurezza completi, includendo studi su possibili interazioni.

Gli obiettivi a lungo termine includono studi di coorte longitudinali su larga scala per stabilire la causalità tra interventi sul sonno e *outcome* di longevità, nonché la validazione e lo sviluppo di nuovi biomarcatori molecolari e funzionali [330]. La ricerca deve progredire verso la medicina personalizzata, integrando fattori genetici e metabolomici per predire la risposta dell'intervento.

Le opportunità di ricerca traslazionale si focalizzano sull'integrazione clinica degli interventi in contesti sanitari esistenti, sulla conduzione di analisi di costo-efficacia per supportare le politiche sanitarie, e sulla collaborazione con le agenzie regolatorie e i partner industriali per accelerare approvazione e innovazione.

5.5. Dichiarazioni conclusive

Questa tesi dimostra che abbiamo un'opportunità concreta di migliorare il sonno e promuovere un invecchiamento più sano attraverso i nutraceutici.

La ricerca si è concentrata su una combinazione strategica di magnesio, ashwagandha e zafferano, verificando che essi agiscono su più fronti biologici contemporaneamente. Non si tratta solo di dormire meglio: questi composti intervengono sulle cause profonde, migliorando l'architettura del sonno e combattendo i segnali di invecchiamento a livello cellulare, come l'infiammazione e lo stress ossidativo. Nel lavoro si è confermato il *perché* tali nutraceutici funzionano: il magnesio facilita il sonno a livello centrale (agendo sulle vie neurotrasmettitoriali del GABA), l'ashwagandha gestisce lo stress cronico (modulando il cortisolo) e lo zafferano offre una sofisticata neuroprotezione e miglioramenti del tono dell'umore. La loro sicurezza d'uso, la validità scientifica in crescita e la chiara richiesta del mercato per prodotti di alta qualità confermano che tale approccio è maturo per essere portato alla pratica clinica.

Il lavoro presentato offre più di una semplice recensione di integratori, in quanto:

- È stato delineato un modello unificato che spiega esattamente come ottimizzare il sonno possa tradursi in una maggiore longevità, non solo per associazione, ma attraverso meccanismi biologici precisi;
- È stata fornita una visione *multi-target*, proponendo l'uso di combinazioni nutraceutiche sinergiche. Questo è fondamentale perché i problemi complessi, come i disturbi del sonno correlati all'età, richiedono soluzioni che agiscano su più fronti contemporaneamente;
- È stata tracciata una guida pratica che integra letteratura scientifica, dati di mercato e metodologia sperimentale. La proposta dell'uso di biomarcatori di longevità nei futuri studi clinici sul sonno può essere utile per misurare oggettivamente non solo quanto si dorme, ma quanto il sonno può contribuire a rallentare l'orologio biologico e sostenere l'*healthy aging* [331].

La combinazione di scoperte scientifiche, nuove tecnologie e l'urgenza di incrementare la *healthspan* ci pone davanti a un'opportunità eccezionale. Grazie alla loro sicurezza e all'assenza di interazioni farmacologiche rilevanti, i nutraceutici proposti possono essere integrati nella pratica medica di prima linea per chi cerca alternative ai farmaci per dormire. Migliorare il sonno su larga scala non è solo una questione di benessere individuale, ma una strategia di salute pubblica. L'accessibilità e l'accettabilità di questi rimedi promettono un impatto significativo sulla riduzione dei costi sanitari e sul miglioramento della qualità della vita della popolazione.

L'obiettivo finale rimane chiaro: estendere la salute e la durata della vita umana attraverso l'ottimizzazione del sonno. La tesi fornisce la base scientifica e il *framework* necessario per trasformare questo obiettivo in una realtà per milioni di persone.

6. Bibliografia

- [1] Garmany, A., Yamada, S., & Terzic, A. (2021). Longevity leap: mind the healthspan gap. *NPJ Regenerative medicine*, 6(1), 57.
- [2] Walker, M. (2017). *Why we sleep: Unlocking the power of sleep and dreams*. Scribner.
- [3] Morin, C. M., Drake, C. L., Harvey, A. G., et al. (2015). Insomnia disorder. *Nature Reviews Disease Primer*, 1, 15026.
- [4] Ohayon, M. M. (2002). Epidemiology of insomnia: What we know and what we still need to learn. *Sleep Medicine Reviews*, 6(2), 97-111.
- [5] Cappuccio, F. P., D'Elia, L., Strazzullo, P., & Miller, M. A. (2010). Sleep duration and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Sleep*, 33(5), 585-592.
- [6] Hirshkowitz, M., Whiton, K., Albert, S. M., et al. (2015). National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: Methodology and results summary. *Sleep Health*, 1(1), 40-43.
- [7] Leng, Y., Cappuccio, F. P., Wainwright, N. W., et al. (2015). Sleep duration and risk of fatal and nonfatal stroke: A prospective study and meta-analysis. *Neurology*, 84(11), 1072-1079.
- [8] Grand View Research. (2024). Nutraceuticals market size, share & trends analysis report by product, by application, by region, and segment forecasts, 2024-2030. San Francisco: Grand View Research.
- [9] Roth, T. (2007). Insomnia: Definition, prevalence, etiology, and consequences. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 3(5 Suppl), S7-S10.
- [10] Besedovsky, L., Lange, T., & Haack, M. (2019). The sleep-immune crosstalk in health and disease. *Physiological Reviews*, 99(3), 1325-1380.
- [11] Xie, L., Kang, H., Xu, Q., et al. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 342(6156), 373-377.
- [12] Van Cauter, E., Leproult, R., & Plat, L. (2000). Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA*, 284(7), 861-868.
- [13] Irwin, M. R. (2019). Sleep and inflammation: Partners in sickness and in health. *Nature Reviews Immunology*, 19(11), 702-715.
- [14] Brown, R. E., Basheer, R., McKenna, J. T., et al. (2012). Control of sleep and wakefulness. *Physiological Reviews*, 92(3), 1087-1187.
- [15] Fernández-San-Martín, M. I., Masa-Font, R., Palacios-Soler, L., et al. (2010). Effectiveness of valerian on insomnia: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Sleep Medicine*, 11(6), 505-511.
- [16] Shi, Y., Dong, J. W., Zhao, J. H., et al. (2014). Herbal insomnia medications that target GABAergic systems: A review of the psychopharmacological evidence. *Current Neuropharmacology*, 12(3), 289-302.
- [17] Sarris, J., Panossian, A., Schweitzer, I., et al. (2011). Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: A review of psychopharmacology and clinical evidence. *European Neuropsychopharmacology*, 21(12), 841-860.
- [18] European Food Safety Authority. (2021). Scientific opinion on the safety of botanical preparations from *Withania somnifera* (L.) Dunal root for use in food supplements. *EFSA Journal*, 19(2), e06338.
- [19] Buysse, D. J., Reynolds III, C. F., Monk, T. H., et al. (1989). The Pittsburgh Sleep Quality Index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research*, 28(2), 193-213.
- [20] Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (2017). Normal human sleep: an overview. In M. H. Kryger, T. Roth, & W. C. Dement (Eds.), *Principles and Practice of Sleep Medicine* (6th ed., pp. 15-24). Elsevier.
- [21] Tononi, G., & Cirelli, C. (2014). Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron*, 81(1), 12-34.
- [22] Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(2), 114-126.
- [23] Besedovsky, L., Lange, T., & Born, J. (2012). Sleep and immune function. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 463(1), 121-137.
- [24] Walker, M. P., & Stickgold, R. (2006). Sleep, memory, and plasticity. *Annual Review of Psychology*, 57, 139-166.
- [25] Aeschbach, D., & Borbély, A. A. (1993). All-night dynamics of the human sleep EEG. *Journal of Sleep Research*, 2(2), 70-81.
- [26] Fogel, S. M., & Smith, C. T. (2011). The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(5), 1154-1165.

- [27] Mander, B. A., Marks, S. M., Vogel, J. W., et al. (2015). β -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nature Neuroscience*, 18(7), 1051-1057.
- [28] Saper, C. B., Chou, T. C., & Scammell, T. E. (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences*, 24(12), 726-731.
- [29] Saper, C. B., Fuller, P. M., Pedersen, N. P., Lu, J., & Scammell, T. E. (2010). Sleep state switching. *Neuron*, 68(6), 1023-1042.
- [30] Wafford, K. A., & Ebert, B. (2008). Emerging anti-insomnia drugs: tackling sleeplessness and the quality of wake time. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(6), 530-540.
- [31] Monti, J. M. (2011). Serotonin control of sleep-wake behavior. *Sleep Medicine Reviews*, 15(4), 269-281.
- [32] Portas, C. M., Bjorvatn, B., & Ursin, R. (2000). Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. *Progress in Neurobiology*, 60(1), 13-35.
- [33] Silber, B. Y., & Schmitt, J. A. (2010). Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(3), 387-407.
- [34] Dubocovich, M. L., & Markowska, M. (2005). Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, 27(2), 101-110.
- [35] Cajochen, C., Kräuchi, K., & Wirz-Justice, A. (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(4), 432-437.
- [36] Karasek, M. (2004). Melatonin, human aging, and age-related diseases. *Experimental Gerontology*, 39(11-12), 1723-1729.
- [37] Reiter, R. J., Tan, D. X., & Galano, A. (2014). Melatonin: exceeding expectations. *Physiology*, 29(5), 325-333.
- [38] Hardeland, R. (2018). Aging, melatonin, and the pro- and anti-inflammatory networks. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1223.
- [39] Porkka-Heiskanen, T., & Kalinchuk, A. V. (2011). Adenosine, energy metabolism and sleep homeostasis. *Sleep Medicine Reviews*, 15(2), 123-135.
- [40] Huang, Z. L., Qu, W. M., Eguchi, N., et al. (2005). Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nature Neuroscience*, 8(7), 858-859.
- [41] Fredholm, B. B., Bättig, K., Holmén, J., Nehlig, A., & Zvartau, E. E. (1999). Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacological Reviews*, 51(1), 83-133.
- [42] Sakurai, T. (2007). The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(3), 171-181.
- [43] Haas, H. L., Sergeeva, O. A., & Selbach, O. (2008). Histamine in the nervous system. *Physiological Reviews*, 88(3), 1183-1241.
- [44] Eban-Rothschild, A., Rothschild, G., Giardino, W. J., Jones, J. R., & de Lecea, L. (2016). VTA dopaminergic neurons regulate ethologically relevant sleep-wake behaviors. *Nature Neuroscience*, 19(10), 1356-1366.
- [45] Lockley, S. W., Brainard, G. C., & Czeisler, C. A. (2003). High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(9), 4502-4505.
- [46] Chang, A. M., Aeschbach, D., Duffy, J. F., & Czeisler, C. A. (2015). Evening use of light-emitting eReaders negatively affects sleep, circadian timing, and next-morning alertness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(4), 1232-1237.
- [47] Harding, E. C., Franks, N. P., & Wisden, W. (2019). The temperature dependence of sleep. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 336.
- [48] Basner, M., Müller, U., & Elmenhorst, E. M. (2011). Single and combined effects of air, road, and rail traffic noise on sleep and recuperation. *Sleep*, 34(1), 11-23.
- [49] Münzel, T., Schmidt, F. P., Steven, S., Herzog, J., Daiber, A., & Sørensen, M. (2018). Environmental noise and the cardiovascular system. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(6), 688-697.
- [50] Kredlow, M. A., Capozzoli, M. C., Hearon, B. A., Calkins, A. W., & Otto, M. W. (2015). The effects of physical activity on sleep: a meta-analytic review. *Journal of Behavioral Medicine*, 38(3), 427-449.
- [51] Stutz, J., Eiholzer, R., & Spengler, C. M. (2019). Effects of evening exercise on sleep in healthy participants: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 49(2), 269-287.
- [52] Campanini, M. Z., Guallar-Castillón, P., Rodríguez-Artalejo, F., & Lopez-Garcia, E. (2017). Mediterranean Diet and Changes in Sleep Duration and Indicators of Sleep Quality in Older Adults. *Sleep*, 40(3), 10.1093/sleep/zsw083.

- [53] St-Onge, M. P., Roberts, A., Shechter, A., & Choudhury, A. R. (2016). Fiber and saturated fat are associated with sleep arousals and slow wave sleep. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 12(1), 19-24.
- [54] Drake, C., Roehrs, T., Shambroom, J., & Roth, T. (2013). Caffeine effects on sleep taken 0, 3, or 6 hours before going to bed. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 9(11), 1195-1200.
- [55] Ebrahim, I. O., Shapiro, C. M., Williams, A. J., & Fenwick, P. B. (2013). Alcohol and sleep: effects on normal sleep. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 37(4), 539-549.
- [56] Hirotsu, C., Tufik, S., & Andersen, M. L. (2015). Interactions between sleep, stress, and metabolism: from physiological to pathological conditions. *Sleep Science*, 8(3), 143-152.
- [57] Ohayon, M. M., Carskadon, M. A., Guilleminault, C., & Vitiello, M. V. (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, 27(7), 1255-1273.
- [58] Mander, B. A., Winer, J. R., & Walker, M. P. (2017). Sleep and human aging. *Neuron*, 94(1), 19-36.
- [59] Espiritu, J. R. (2008). Aging-related sleep changes. *Clinics in Geriatric Medicine*, 24(1), 1-14.
- [60] Martin, N., Lafortune, M., Godbout, J., et al. (2013). Topography of age-related changes in sleep spindles. *Neurobiology of Aging*, 34(2), 468-476.
- [61] Duffy, J. F., Zitting, K. M., & Chinoy, E. D. (2015). Aging and circadian rhythms. *Sleep Medicine Clinics*, 10(4), 423-434.
- [62] Lim, A. S., Ellison, B. A., Wang, J. L., et al. (2014). Sleep is related to neuron numbers in the ventrolateral preoptic/intermediate nucleus in older adults with and without Alzheimer's disease. *Brain*, 137(10), 2847-2861.
- [63] Waldhauser, F., Weiszenbacher, G., Tatzer, E., et al. (1988). Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 66(3), 648-652.
- [64] Irwin, M. R., Olmstead, R., & Carroll, J. E. (2016). Sleep disturbance, sleep duration, and inflammation: a systematic review and meta-analysis of cohort studies and experimental sleep deprivation. *Biological Psychiatry*, 80(1), 40-52.
- [65] Bloom, H. G., Ahmed, I., Alessi, C. A., et al. (2009). Evidence-based recommendations for the assessment and management of sleep disorders in older persons. *Journal of the American Geriatrics Society*, 57(5), 761-789.
- [66] Carroll, J. E., Irwin, M. R., Levine, M., et al. (2017). Epigenetic aging and immune senescence in women with insomnia symptoms: findings from the Women's Health Initiative study. *Biological Psychiatry*, 81(2), 136-144.
- [67] Gallicchio, L., & Kalesan, B. (2009). Sleep duration and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Sleep Research*, 18(2), 148-158.
- [68] Mullington, J. M., Haack, M., Toth, M., Serrador, J. M., & Meier-Ewert, H. K. (2009). Cardiovascular, inflammatory, and metabolic consequences of sleep deprivation. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 51(4), 294-302.
- [69] Spiegel, K., Leproult, R., & Van Cauter, E. (1999). Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *The Lancet*, 354(9188), 1435-1439.
- [70] Leproult, R., & Van Cauter, E. (2010). Role of sleep and sleep loss in hormonal release and metabolism. *Endocrine Development*, 17, 11-21.
- [71] Liu, T. Z., Xu, C., Rota, M., et al. (2017). Sleep duration and risk of all-cause mortality: a flexible, non-linear, meta-regression of 40 prospective cohort studies. *Sleep Medicine Reviews*, 32, 28-36.
- [72] Patel, S. R., Malhotra, A., Gottlieb, D. J., White, D. P., & Hu, F. B. (2006). Correlates of long sleep duration. *Sleep*, 29(7), 881-889.
- [73] Grandner, M. A., & Drummond, S. P. (2007). Who are the long sleepers? Towards an understanding of the mortality relationship. *Sleep Medicine Reviews*, 11(5), 341-360.
- [74] Hublin, C., Partinen, M., Koskenvuo, M., & Kaprio, J. (2007). Sleep and mortality: a population-based 22-year follow-up study. *Sleep*, 30(10), 1245-1253.
- [75] Chaput, J. P., Dutil, C., & Sampasa-Kanyinga, H. (2018). Sleeping hours: what is the ideal number and how does age impact this? *Nature and Science of Sleep*, 10, 421-430.
- [76] Wang, X., Yan, X., Li, M., et al. (2024). U-shaped association between sleep duration and biological aging: evidence from the UK Biobank study. *Aging Cell*, 23(6), e14159.
- [77] Horvath, S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology*, 14(10), R115.
- [78] Carroll, J. (2023). Cognitive behavioral treatment of insomnia slows the pace of biological aging: results from an RCT in older adults. *Innovation in Aging*, 7(Suppl 1), 678.

- [79] Lu, A. T., Quach, A., Wilson, J. G., et al. (2019). DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging*, 11(2), 303-327.
- [80] Wang, X., Xu, Y., Li, X., et al. (2023). Day-to-day deviations in sleep parameters and biological aging: findings from the NHANES 2011-2014. *Sleep Health*, 9(6), 940-946.
- [81] Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, 350(6265), 1193-1198.
- [82] Tempaku, P. F., Mazzotti, D. R., & Tufik, S. (2015). Telomere length as a marker of sleep loss and sleep disturbances: a potential link between sleep and cellular senescence. *Sleep Medicine*, 16(5), 559-563.
- [83] Dhillon, V. S., Deo, P., Chua, A., et al. (2021). Sleep duration, Health Promotion Index (HPI), sRAGE and ApoE-ε4 genotype are associated with telomere length (TL) in healthy elderly Australians. *The Journals of Gerontology: Series A*, 77(2), 260-268.
- [84] Everson, C. A., Laatsch, C. D., & Hogg, N. (2005). Antioxidant defense responses to sleep loss and sleep recovery. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(2), R374-R383.
- [85] Jackowska, M., Hamer, M., Carvalho, L. A., Erusalimsky, J. D., Butcher, L., & Steptoe, A. (2012). Short sleep duration is associated with shorter telomere length in healthy men: findings from the Whitehall II cohort study. *PloS One*, 7(10), e47292.
- [86] Campisi, J., & d'Adda di Fagagna, F. (2007). Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(9), 729-740.
- [87] Naidoo, N., Ferber, M., Master, M., Zhu, Y., & Pack, A. I. (2008). Aging impairs the unfolded protein response to sleep deprivation and leads to proapoptotic signaling. *Journal of Neuroscience*, 28(26), 6539-6548.
- [88] Irwin, M. R., Olmstead, R., Breen, E. C., et al. (2016). Cognitive behavioral therapy and tai chi reverse cellular and genomic markers of inflammation in late-life insomnia: a randomized controlled trial. *Biological Psychiatry*, 78(10), 721-729.
- [89] Ferrucci, L., & Fabbri, E. (2018). Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature Reviews Cardiology*, 15(9), 505-522.
- [90] Shattuck, E. C., & Sparks, C. S. (2017). Sleep duration and quality are associated with immune markers, self-rated health, and mortality in a large cohort (NHANES 2005–2014). *Brain, Behavior, and Immunity*, 66, e34.
- [91] Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3), 298-300.
- [92] Ramanathan, L., Gulyani, S., Nienhuis, R., & Siegel, J. M. (2002). Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem. *Neuroreport*, 13(11), 1387-1390.
- [93] Villafuerte, G., Miguel-Puga, A., Rodríguez, E. M., Machado, S., Manjarrez, E., & Arias-Carrión, O. (2015). Sleep deprivation and oxidative stress in animal models: a systematic review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 234952.
- [94] Cappuccio, F. P., Cooper, D., D'Elia, L., Strazzullo, P., & Miller, M. A. (2011). Sleep duration predicts cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Heart Journal*, 32(12), 1484-1492.
- [95] Somers, V. K., White, D. P., Amin, R., et al. (2008). Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Scientific Statement. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(8), 686-717.
- [96] Peppard, P. E., Young, T., Barnet, J. H., Palta, M., Hagen, E. W., & Hla, K. M. (2013). Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *American Journal of Epidemiology*, 177(9), 1006-1014.
- [97] Dempsey, J. A., Veasey, S. C., Morgan, B. J., & O'Donnell, C. P. (2010). Pathophysiology of sleep apnea. *Physiological Reviews*, 90(1), 47-112.
- [98] Chung, J., Goodman, M., Huang, T., et al. (2023). Objectively regular sleep patterns and mortality in a prospective cohort: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Journal of Sleep Research*, 33(1), e14048.
- [99] Shan, Z., Ma, H., Xie, M., et al. (2015). Sleep duration and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care*, 38(3), 529-537.
- [100] Spiegel, K., Tasali, E., Penev, P., & Van Cauter, E. (2004). Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Annals of Internal Medicine*, 141(11), 846-850.
- [101] Peter-Derex, L., Yammine, P., Bastuji, H., & Croisile, B. (2015). Sleep and Alzheimer's disease. *Sleep Medicine Reviews*, 19, 29-38.

- [102] Yaffe, K., Laffan, A. M., Harrison, S. L., et al. (2011). Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA*, 306(6), 613-619.
- [103] Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., et al. (2012). A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Science Translational Medicine*, 4(147), 147ra111.
- [104] Shokri-Kojori, E., Wang, G. J., Wiers, C. E., et al. (2018). β -Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(17), 4483-4488.
- [105] Fultz, N. E., Bonmassar, G., Setsompop, K., et al. (2019). Coupled electrophysiological, hemodynamic, and cerebrospinal fluid oscillations in human sleep. *Science*, 366(6465), 628-631.
- [106] Peng, W., Achariyar, T. M., Li, B., et al. (2016). Suppression of glymphatic fluid transport in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 93, 215-225.
- [107] Takahashi, Y., Kipnis, D. M., & Daughaday, W. H. (1968). Growth hormone secretion during sleep. *Journal of Clinical Investigation*, 47(9), 2079-2090.
- [108] Weitzman, E. D., Zimmerman, J. C., Czeisler, C. A., & Ronda, J. (1983). Cortisol secretion is inhibited during sleep in normal man. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 56(2), 352-358.
- [109] Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 434-445.
- [110] Archer, S. N., Laing, E. E., Möller-Levet, C. S., et al. (2014). Mistimed sleep disrupts circadian regulation of the human transcriptome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), E682-E691.
- [111] Broussard, J. L., Ehrmann, D. A., Van Cauter, E., Tasali, E., & Brady, M. J. (2012). Impaired insulin signaling in human adipocytes after experimental sleep restriction: a randomized, crossover study. *Annals of Internal Medicine*, 157(8), 549-557.
- [112] St-Onge, M. P., Wolfe, S., Sy, M., Shechter, A., & Hirsch, J. (2014). Sleep restriction increases the neuronal response to unhealthy food in normal-weight individuals. *International Journal of Obesity*, 38(3), 411-416.
- [113] Cohen, S., Doyle, W. J., Alper, C. M., Janicki-Deverts, D., & Turner, R. B. (2009). Sleep habits and susceptibility to the common cold. *Archives of Internal Medicine*, 169(1), 62-67.
- [114] Lange, T., Perras, B., Fehm, H. L., & Born, J. (2003). Sleep enhances the human antibody response to hepatitis A vaccination. *Psychosomatic Medicine*, 65(5), 831-835.
- [115] Tononi, G., & Cirelli, C. (2006). Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Medicine Reviews*, 10(1), 49-62.
- [116] Ma, D., Li, S., Molusky, M. M., & Lin, J. D. (2012). Circadian autophagy rhythm: a link between clock and metabolism? *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23(7), 319-325.
- [117] Vaccaro, A., Kaplan Dor, Y., Nambara, K., et al. (2020). Sleep loss can cause death through accumulation of reactive oxygen species in the gut. *Cell*, 181(6), 1307-1328.
- [118] Rubinsztein, D. C., Mariño, G., & Kroemer, G. (2011). Autophagy and aging. *Cell*, 146(5), 682-695.
- [119] Zada, D., Bronshtein, I., Lerer-Goldshtein, T., et al. (2019). Sleep increases chromosome dynamics to enable reduction of accumulating DNA damage in single neurons. *Nature Communications*, 10(1), 895.
- [120] DeFelice, S. L. (1995). The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science & Technology*, 6(2), 59-61.
- [121] Kennedy, D. O. (2016). B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy—a review. *Nutrients*, 8(2), 68.
- [122] Bannai, M., & Kawai, N. (2012). New therapeutic strategy for amino acid medicine: glycine improves the quality of sleep. *Journal of Pharmacological Sciences*, 118(2), 145-148.
- [123] Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., et al. (2019). The therapeutic potential of apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1305.
- [124] Zhdanova, I. V. (2005). Melatonin as a hypnotic: pro. *Sleep Medicine Reviews*, 9(1), 51-65.
- [125] Rajman, L., Chwalek, K., & Sinclair, D. A. (2018). Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the in vivo evidence. *Cell Metabolism*, 27(3), 529-547.
- [126] Baur, J. A., & Sinclair, D. A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), 493-506.
- [127] Poleszak, E., Szewczyk, B., Kędzierska, E., Wlaź, P., Pilc, A., & Nowak, G. (2008). Antidepressant-and anxiolytic-like activity of magnesium in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(1), 7-12.
- [128] Viola, H., Wasowski, C., Levi de Stein, M., et al. (1995). Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Medica*, 61(3), 213-216.
- [129] Galano, A., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*, 51(1), 1-16.

- [130] Carrillo-Vico, A., Lardone, P. J., Alvarez-Sánchez, N., Rodríguez-Rodríguez, A., & Guerrero, J. M. (2013). Melatonin: buffering the immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 8638-8683.
- [131] Reiter, R. J., Rosales-Corral, S., Tan, D. X., et al. (2017). Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(21), 3863-3881.
- [132] Bocheva, G., Bakalov, D., Iliev, P., et al. (2024). The vital role of melatonin and its metabolites in the neuroprotection and retardation of brain aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(10), 5122.
- [133] Ma, Q. (2013). Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53, 401-426.
- [134] Gupta, S. C., Patchva, S., & Aggarwal, B. B. (2013). Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *The AAPS Journal*, 15(1), 195-218.
- [135] Verdin, E. (2015). NAD⁺ in aging, metabolism, and neurodegeneration. *Science*, 350(6265), 1208-1213.
- [136] Imai, S., & Guarente, L. (2014). NAD⁺ and sirtuins in aging and disease. *Trends in Cell Biology*, 24(8), 464-471.
- [137] Cantó, C., Menzies, K. J., & Auwerx, J. (2015). NAD⁺ metabolism and the control of energy homeostasis: a balancing act between mitochondria and the nucleus. *Cell Metabolism*, 22(1), 31-53.
- [138] Howitz, K. T., Bitterman, K. J., Cohen, H. Y., et al. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425(6954), 191-196.
- [139] Nakahata, Y., Sahar, S., Astarita, G., Kaluzova, M., & Sassone-Corsi, P. (2009). Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science*, 324(5927), 654-657.
- [140] Asher, G., Gatfield, D., Stratmann, M., et al. (2008). SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation. *Cell*, 134(2), 317-328.
- [141] Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- [142] Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
- [143] Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed, M., Rajendran, R., & Srinivas, P. S. (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica*, 64(4), 353-356.
- [144] Walle, T., Hsieh, F., DeLegge, M. H., Oatis Jr, J. E., & Walle, U. K. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 32(12), 1377-1382.
- [145] Schuchardt, J. P., & Hahn, A. (2017). Intestinal absorption and factors influencing bioavailability of magnesium—an update. *Current Nutrition & Food Science*, 13(4), 260-278.
- [146] McClements, D. J. (2015). Food emulsions: principles, practices, and techniques (3rd ed.). CRC Press.
- [147] Koppel, N., Maini Rekdal, V., & Balskus, E. P. (2017). Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota. *Science*, 356(6344), eaag2770.
- [148] Schulz, K. F., Altman, D. G., & Moher, D. (2010). CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*, 340, c332.
- [149] Newmaster, S. G., Grguric, M., Shanmughanandhan, D., Ramalingam, S., & Ragupathy, S. (2013). DNA barcoding detects contamination and substitution in North American herbal products. *BMC Medicine*, 11(1), 222.
- [150] Bélanger, L., Vallières, A., Ivers, H., Moreau, V., Lavigne, G., & Morin, C. M. (2007). Meta-analysis of sleep changes in control groups of insomnia treatment trials. *Journal of Sleep Research*, 16(1), 77-84.
- [151] Ancoli-Israel, S., Cole, R., Alessi, C., Chambers, M., Moorcroft, W., & Pollak, C. P. (2003). The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep*, 26(3), 342-392.
- [152] Lundh, A., Lexchin, J., Mintzes, B., Schroll, J. B., & Bero, L. (2017). Industry sponsorship and research outcome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, MR000033.
- [153] Ferracioli-Oda, E., Qawasmi, A., & Bloch, M. H. (2013). Meta-analysis: melatonin for the treatment of primary sleep disorders. *PloS One*, 8(5), e63773.
- [154] Auger, R. R., Burgess, H. J., Emens, J. S., Deriy, L. V., Thomas, S. M., & Sharkey, K. M. (2015). Clinical practice guideline for the treatment of intrinsic circadian rhythm sleep-wake disorders. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 11(10), 1199-1236.
- [155] Lemoine, P., Nir, T., Laudon, M., & Zisapel, N. (2007). Prolonged-release melatonin improves sleep quality and morning alertness in insomnia patients aged 55 years and older and has no withdrawal effects. *Journal of Sleep Research*, 16(4), 372-380.

- [156] Zhdanova, I. V., Wurtman, R. J., Regan, M. M., Taylor, J. A., Shi, J. P., & Leclair, O. U. (2001). Melatonin treatment for age-related insomnia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(10), 4727-4730.
- [157] Burgess, H. J., Revell, V. L., Molina, T. A., & Eastman, C. I. (2010). Human phase response curves to three days of daily melatonin: 0.5 mg versus 3.0 mg. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(7), 3325-3331.
- [158] Andersen, L. P., Gögenur, I., Rosenberg, J., & Reiter, R. J. (2016). The safety of melatonin in humans. *Clinical Drug Investigation*, 36(3), 169-175.
- [159] Erland, L. A., & Saxena, P. K. (2017). Melatonin natural health products and supplements: presence of serotonin and significant variability of melatonin content. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 13(2), 275-281.
- [160] de Baaij, J. H., Hoenderop, J. G., & Bindels, R. J. (2015). Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiological Reviews*, 95(1), 1-46.
- [161] Nielsen, F. H. (2018). Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives. *Journal of Inflammation Research*, 11, 25-34.
- [162] Arab, A., Rafie, N., Amani, R., & Shirani, F. (2022). The role of magnesium in sleep health: a systematic review of available literature. *Biological Trace Element Research*, 201(1), 121-128.
- [163] Abbasi, B., Kimiagar, M., Sadeghnia, K., Shirazi, M. M., Hedayati, M., & Rashidkhani, B. (2012). The effect of magnesium supplementation on primary insomnia in elderly: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Research in Medical Sciences*, 17(12), 1161-1169.
- [164] Held, K., Antonijevic, I. A., Kunzel, H., et al. (2002). Oral Mg²⁺ supplementation reverses age-related neuroendocrine and sleep EEG changes in humans. *Pharmacopsychiatry*, 35(4), 135-143.
- [165] Shinjyo N, Waddell G, Green J. Valerian Root in Treating Sleep Problems and Associated Disorders-A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Evid Based Integr Med*. 2020 Jan-Dec;25:2515690X20967323.
- [166] Zick, S. M., Wright, B. D., Sen, A., & Arnedt, J. T. (2011). Preliminary examination of the efficacy and safety of a standardized chamomile extract for chronic primary insomnia: a randomized placebo-controlled pilot study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 78.
- [167] Kramer, D. J., & Johnson, A. A. (2024). Apigenin: a natural molecule at the intersection of sleep and aging. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1359176.
- [168] Nathan, P. J., Lu, K., Gray, M., & Oliver, C. (2006). The neuropharmacology of L-theanine (N-ethyl-L-glutamine): a possible neuroprotective and cognitive enhancing agent. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 6(2), 21-30.
- [169] Hidese, S., Ogawa, S., Ota, M., et al. (2019). Effects of L-theanine administration on stress-related symptoms and cognitive functions in healthy adults: a randomized controlled trial. *Nutrients*, 11(10), 2362.
- [170] Zhang, H., Ryu, D., Wu, Y., et al. (2016). NAD⁺ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. *Science*, 352(6292), 1436-1443.
- [171] Mills, K. F., Yoshida, S., Stein, L. R., et al. (2016). Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice. *Cell Metabolism*, 24(6), 795-806.
- [172] Trammell, S. A., Schmidt, M. S., Weidemann, B. J., et al. (2016). Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans. *Nature Communications*, 7(1), 12948.
- [173] Conze, D., Brenner, C., & Kruger, C. L. (2019). Safety and Metabolism of Long-term Administration of NIAGEN (Nicotinamide Riboside Chloride) in a Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Clinical Trial of Healthy Overweight Adults. *Scientific reports*, 9(1), 9772.
- [174] Davinelli, S., Medoro, A., Hu, F. B., & Scapagnini, G. (2025). Dietary polyphenols as geroprotective compounds: From Blue Zones to hallmarks of ageing. *Ageing research reviews*, 108, 102733.
- [175] Medoro, A., Scapagnini, G., & Davinelli, S. (2025). The Role of Phytochemicals in Aging and Aging-Related Diseases. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 18(11), 1713.
- [176] Wood, J. G., Rogina, B., Lavu, S., et al. (2004). Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, 430(7000), 686-689.
- [177] Pearson, K. J., Baur, J. A., Lewis, K. N., et al. (2008). Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metabolism*, 8(2), 157-168.
- [178] Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., et al. (2011). Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metabolism*, 14(5), 612-622.
- [179] Bellet, M. M., Orozco-Solis, R., Sahar, S., Eckel-Mahan, K., & Sassone-Corsi, P. (2011). The time of metabolism: NAD⁺, SIRT1, and the circadian clock. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 76, 31-38.

- [180] Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: a review of its effects on human health. *Foods*, 6(10), 92.
- [181] Davinelli, S., Sapere, N., Zella, D., Bracale, R., Intrieri, M., & Scapagnini, G. (2012). Pleiotropic protective effects of phytochemicals in Alzheimer's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012, 386527.
- [182] Sikora, E., Scapagnini, G., & Barbagallo, M. (2010). Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases. *Immunity & ageing : I & A*, 7(1), 1.
- [183] Small, G. W., Siddarth, P., Li, Z., et al. (2018). Memory and brain amyloid and tau effects of a bioavailable form of curcumin in non-demented adults: a double-blind, placebo-controlled 18-month trial. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 26(3), 266-277.
- [184] Ng, T. P., Chiam, P. C., Lee, T., Chua, H. C., Lim, L., & Kua, E. H. (2006). Curry consumption and cognitive function in the elderly. *American Journal of Epidemiology*, 164(9), 898-906.
- [185] Eisenberg, T., Knauer, H., Schauer, A., et al. (2009). Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. *Nature Cell Biology*, 11(11), 1305-1314.
- [186] Madeo, F., Eisenberg, T., Pietrocola, F., & Kroemer, G. (2018). Spermidine in health and disease. *Science*, 359(6374), eaan2788.
- [187] Kiechl, S., Pechlaner, R., Willeit, P., et al. (2018). Higher spermidine intake is linked to lower mortality: a prospective population-based study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 108(2), 371-380.
- [188] Zhu, Y., Tchkonja, T., Pirtskhalava, T., et al. (2015). The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell*, 14(4), 644-658.
- [189] Medoro, A., Davinelli, S., Scuderi, L., Scuderi, G., Scapagnini, G., & Fragiotta, S. (2025). Targeting Senescence, Oxidative Stress, and Inflammation: Quercetin-Based Strategies for Ocular Diseases in Older Adults. *Clinical interventions in aging*, 20, 791-813.
- [190] Yousefzadeh, M. J., Zhu, Y., McGowan, S. J., et al. (2018). Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine*, 36, 18-28.
- [191] Hickson, L. J., Langhi Prata, L. G. P., Bobart, S. A., et al. (2019). Senolytics decrease senescent cells in humans: preliminary report from a clinical trial of dasatinib plus quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine*, 47, 446-456.
- [192] Davinelli, S., De Stefani, D., De Vivo, I., & Scapagnini, G. (2020). Polyphenols as Caloric Restriction Mimetics Regulating Mitochondrial Biogenesis and Mitophagy. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 31(7), 536-550.
- [193] Hofer, S. J., Davinelli, S., Bergmann, M., Scapagnini, G., & Madeo, F. (2021). Caloric Restriction Mimetics in Nutrition and Clinical Trials. *Frontiers in nutrition*, 8, 717343.
- [194] Volpe S. L. (2013). Magnesium in disease prevention and overall health. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 4(3), 378S-83S.
- [195] Gröber, U., Schmidt, J., & Kisters, K. (2015). Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients*, 7(9), 8199-8226.
- [195] Schwalfenberg, G. K., & Genuis, S. J. (2017). The Importance of Magnesium in Clinical Healthcare. *Scientifica*, 2017, 4179326.
- [197] Firoz, M., & Graber, M. (2001). Bioavailability of US commercial magnesium preparations. *Magnesium research*, 14(4), 257-262.
- [198] Schuette, S. A., Lashner, B. A., & Janghorbani, M. (1994). Bioavailability of magnesium diglycinate vs magnesium oxide in patients with ileal resection. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*, 18(5), 430-435.
- [199] Lindberg, J. S., Zobitz, M. M., Poindexter, J. R., & Pak, C. Y. (1990). Magnesium bioavailability from magnesium citrate and magnesium oxide. *Journal of the American College of Nutrition*, 9(1), 48-55.
- [200] Uysal, N., Kizildag, S., Yuce, Z., Guvendi, G., Kandis, S., Koc, B., Karakilic, A., Camsari, U. M., & Ates, M. (2019). Timeline (Bioavailability) of Magnesium Compounds in Hours: Which Magnesium Compound Works Best?. *Biological trace element research*, 187(1), 128-136.
- [201] Kirkland, A. E., Sarlo, G. L., & Holton, K. F. (2018). The Role of Magnesium in Neurological Disorders. *Nutrients*, 10(6), 730.
- [202] Poleszak, E., Wlaź, P., Kedzierska, E., Nieoczym, D., Wróbel, A., Fidecka, S., Pilc, A., & Nowak, G. (2007). NMDA/glutamate mechanism of antidepressant-like action of magnesium in forced swim test in mice. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 88(2), 158-164.
- [203] Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., & Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462-465.

- [204] Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*, 12(3), 529–540.
- [205] Durlach, J., Pagès, N., Bac, P., Bara, M., & Guet-Bara, A. (2002). Biorhythms and possible central regulation of magnesium status, phototherapy, darkness therapy and chronopathological forms of magnesium depletion. *Magnesium research*, 15(1-2), 49–66.
- [206] Peuhkuri, K., Sihvola, N., & Korpela, R. (2012). Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food & nutrition research*, 56, 10.3402/fnr.v56i0.17252.
- [207] Shechter M. (2010). Magnesium and cardiovascular system. *Magnesium research*, 23(2), 60–72.
- [208] Liaqat, A., Rizwan, B., Amjad, A., & Rasool, Z. (2023). Therapeutic Effect of Magnesium Supplementation in Improving Quality of Life among Elderly Insomniac Participants: Effect of Magnesium Supplementation in Improving QoL. *Pakistan Journal of Health Sciences*, 4(09), 119–124.
- [209] Jadidi, A., Rezaei Ashtiani, A., Khanmohamadi Hezaveh, A., & Aghaepour, S. M. (2022). Therapeutic effects of magnesium and vitamin B6 in alleviating the symptoms of restless legs syndrome: a randomized controlled clinical trial. *BMC complementary medicine and therapies*, 23(1), 1.
- [210] Nielsen, F. H., Johnson, L. K., & Zeng, H. (2010). Magnesium supplementation improves indicators of low magnesium status and inflammatory stress in adults older than 51 years with poor quality sleep. *Magnesium research*, 23(4), 158–168.
- [211] Djokic, G., et al. (2019). The Effects of Magnesium - Melatonin - Vit B Complex Supplementation in Treatment of Insomnia. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(18), 3101–3105.
- [212] Altura, B. M., & Altura, B. T. (1995). Magnesium and cardiovascular biology: an important link between cardiovascular risk factors and atherogenesis. *Cellular & molecular biology research*, 41(5), 347–359.
- [213] Qu, X., Jin, F., Hao, Y., Li, H., Tang, T., Wang, H., Yan, W., & Dai, K. (2013). Magnesium and the risk of cardiovascular events: a meta-analysis of prospective cohort studies. *PloS one*, 8(3), e57720.
- [214] Zhang, X., Li, Y., Del Gobbo, L. C., Rosanoff, A., Wang, J., Zhang, W., & Song, Y. (2016). Effects of Magnesium Supplementation on Blood Pressure: A Meta-Analysis of Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trials. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 68(2), 324–333.
- [215] Kass, L., Weekes, J., & Carpenter, L. (2012). Effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis. *European journal of clinical nutrition*, 66(4), 411–418.
- [216] Barbagallo, M., & Dominguez, L. J. (2015). Magnesium and type 2 diabetes. *World journal of diabetes*, 6(10), 1152–1157.
- [217] Larsson, S. C., & Wolk, A. (2007). Magnesium intake and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis. *Journal of internal medicine*, 262(2), 208–214.
- [218] Veronese, N., Watutantrige-Fernando, S., Luchini, C., Solmi, M., Sartore, G., Sergi, G., Manzato, E., Barbagallo, M., Maggi, S., & Stubbs, B. (2016). Effect of magnesium supplementation on glucose metabolism in people with or at risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials. *European journal of clinical nutrition*, 70(12), 1354–1359.
- [219] Fang, X., Wang, K., Han, D., He, X., Wei, J., Zhao, L., Imam, M. U., Ping, Z., Li, Y., Xu, Y., Min, J., & Wang, F. (2016). Dietary magnesium intake and the risk of cardiovascular disease, type 2 diabetes, and all-cause mortality: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC medicine*, 14(1), 210.
- [220] Rondanelli, M., Opizzi, A., Monteferrario, F., Antoniello, N., Manni, R., & Klersy, C. (2011). The effect of melatonin, magnesium, and zinc on primary insomnia in long-term care facility residents in Italy: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59(1), 82–90.
- [221] Wienecke, E., & Nolden, C. (2016). Langzeit-HRV-Analyse zeigt Stressreduktion durch Magnesiumzufuhr [Long-term HRV analysis shows stress reduction by magnesium intake]. *MMW Fortschritte der Medizin*, 158(Suppl 6), 12–16.
- [222] Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. (1997). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. National Academies Press (US).
- [223] Fine, K. D., Santa Ana, C. A., Porter, J. L., & Fordtran, J. S. (1991). Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *The Journal of clinical investigation*, 88(2), 396–402.
- [224] Elin R. J. (2010). Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. *Magnesium research*, 23(4), S194–S198.
- [225] Topf, J. M., & Murray, P. T. (2003). Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 4(2), 195–206.
- [226] Neuvonen P. J. (1976). Interactions with the absorption of tetracyclines. *Drugs*, 11(1), 45–54.

- [227] Gertz, B. J., Holland, S. D., Kline, W. F., Matuszewski, B. K., Freeman, A., Quan, H., Lasseter, K. C., Mucklow, J. C., & Porras, A. G. (1995). Studies of the oral bioavailability of alendronate. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 58(3), 288–298.
- [228] Elisaf, M., Merkouropoulos, M., Tsianos, E. V., & Siamopoulos, K. C. (1995). Pathogenetic mechanisms of hypomagnesemia in alcoholic patients. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 9(4), 210–214.
- [229] Famularo, G., Gasbarrone, L., & Minisola, G. (2013). Hypomagnesemia and proton-pump inhibitors. *Expert opinion on drug safety*, 12(5), 709–716.
- [230] Singh, N., Bhalla, M., de Jager, P., & Gilca, M. (2011). An overview on ashwagandha: a Rasayana (rejuvenator) of Ayurveda. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 8(5 Suppl), 208–213.
- [231] Mishra, L. C., Singh, B. B., & Dagenais, S. (2000). Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha): a review. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 5(4), 334–346.
- [232] Mirjalili, M. H., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R. M., & Palazón, J. (2009). Steroidal lactones from *Withania somnifera*, an ancient plant for novel medicine. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14(7), 2373–2393.
- [233] Chandrasekhar K, Kapoor J, Anishetty S. A prospective, randomized double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy of a high-concentration full-spectrum extract of ashwagandha root in reducing stress and anxiety in adults. *Indian J Psychol Med*. 2012;34(3):255-262.
- [234] D'Cruz, M., & Andrade, C. (2022). Potential clinical applications of Ashwagandha (*Withania somnifera*) in medicine and neuropsychiatry. *Expert review of clinical pharmacology*, 15(9), 1067–1080.
- [235] Lopresti, A. L., Smith, S. J., Malvi, H., & Kodgule, R. (2019). An investigation into the stress-relieving and pharmacological actions of an ashwagandha (*Withania somnifera*) extract: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Medicine*, 98(37), e17186.
- [236] Cheah, K. L., Norhayati, M. N., Husniati Yaacob, L., & Abdul Rahman, R. (2021). Effect of Ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on sleep: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 16(9), e0257843.
- [237] Ganzera, M., Choudhary, M. I., & Khan, I. A. (2003). Quantitative HPLC analysis of withanolides in *Withania somnifera*. *Fitoterapia*, 74(1-2), 68–76.
- [238] Smith, S. M., & Vale, W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(4), 383–395.
- [239] Pratte, M. A., Nanavati, K. B., Young, V., & Morley, C. P. (2014). An alternative treatment for anxiety: a systematic review of human trial results reported for the Ayurvedic herb ashwagandha (*Withania somnifera*). *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 20(12), 901–908.
- [240] Candelario, M., Cuellar, E., Reyes-Ruiz, J. M., Darabedian, N., Feimeng, Z., Miledi, R., Russo-Neustadt, A., & Limon, A. (2015). Direct evidence for GABAergic activity of *Withania somnifera* on mammalian ionotropic GABA_A and GABA_B receptors. *Journal of ethnopharmacology*, 171, 264–272.
- [241] Mehta, A. K., Binkley, P., Gandhi, S. S., & Ticku, M. K. (1991). Pharmacological effects of *Withania somnifera* root extract on GABA_A receptor complex. *The Indian journal of medical research*, 94, 312–315.
- [242] Bhattacharya, S. K., Satyan, K. S., & Ghosal, S. (1997). Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Indian journal of experimental biology*, 35(3), 236–239.
- [243] Sikandan, A., Shinomiya, T., & Nagahara, Y. (2018). Ashwagandha root extract exerts anti-inflammatory effects in HaCaT cells by inhibiting the MAPK/NF-κB pathways and by regulating cytokines. *International journal of molecular medicine*, 42(1), 425–434.
- [244] Kuboyama, T., Tohda, C., & Komatsu, K. (2005). Neuritic regeneration and synaptic reconstruction induced by withanolide A. *British journal of pharmacology*, 144(7), 961–971.
- [245] Deshpande, A., Irani, N., Balkrishnan, R., & Benny, I. R. (2020). A randomized, double blind, placebo controlled study to evaluate the effects of ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on sleep quality in healthy adults. *Sleep medicine*, 72, 28–36.
- [246] Langade, D., Thakare, V., Kanchi, S., & Kelgane, S. (2021). Clinical evaluation of the pharmacological impact of ashwagandha root extract on sleep in healthy volunteers and insomnia patients: A double-blind, randomized, parallel-group, placebo-controlled study. *Journal of ethnopharmacology*, 264, 113276.
- [247] Salve, J., Pate, S., Debnath, K., & Langade, D. (2019). Adaptogenic and Anxiolytic Effects of Ashwagandha Root Extract in Healthy Adults: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Clinical Study. *Cureus*, 11(12), e6466.

- [248] Auddy B., Hazra J., Mitra A., et al. (2008) A standardized *Withania somnifera* extract significantly reduces stress-related parameters in chronically stressed humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *JANA*, 11(1):50-56.
- [249] Grover, A., Shandilya, A., Punetha, A., Bisaria, V. S., & Sundar, D. (2010). Inhibition of the NEMO/IKK β association complex formation, a novel mechanism associated with the NF- κ B activation suppression by *Withania somnifera*'s key metabolite withaferin A. *BMC genomics*, 11 Suppl 4(Suppl 4), S25.
- [250] Gupta, A., & Singh, S. (2014). Evaluation of anti-inflammatory effect of *Withania somnifera* root on collagen-induced arthritis in rats. *Pharmaceutical biology*, 52(3), 308–320.
- [251] Binder, D. K., & Scharfman, H. E. (2004). Brain-derived neurotrophic factor. *Growth factors (Chur, Switzerland)*, 22(3), 123–131.
- [252] Kuboyama, T., Tohda, C., & Komatsu, K. (2006). Withanoside IV and its active metabolite, sominone, attenuate Abeta(25-35)-induced neurodegeneration. *The European journal of neuroscience*, 23(6), 1417–1426.
- [253] Gupta, M., & Kaur, G. (2019). *Withania somnifera* (L.) Dunal ameliorates neurodegeneration and cognitive impairments associated with systemic inflammation. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 217.
- [254] Ng, Q. X., Loke, W., Foo, N. X., Tan, W. J., Chan, H. W., Lim, D. Y., & Yeo, W. S. (2020). A systematic review of the clinical use of *Withania somnifera* (Ashwagandha) to ameliorate cognitive dysfunction. *Phytotherapy research : PTR*, 34(3), 583–590.
- [255] Tandon, N., & Yadav, S. S. (2020). Safety and clinical effectiveness of *Withania Somnifera* (Linn.) Dunal root in human ailments. *Journal of ethnopharmacology*, 255, 112768.
- [256] Verma, N., Gupta, S. K., Tiwari, S., & Mishra, A. K. (2021). Safety of Ashwagandha Root Extract: A Randomized, Placebo-Controlled, study in Healthy Volunteers. *Complementary therapies in medicine*, 57, 102642.
- [257] Speers, A. B., Cabey, K. A., Soumyanath, A., & Wright, K. M. (2021). Effects of *Withania somnifera* (Ashwagandha) on Stress and the Stress- Related Neuropsychiatric Disorders Anxiety, Depression, and Insomnia. *Current neuropharmacology*, 19(9), 1468–1495.
- [258] Sharma, A. K., Basu, I., & Singh, S. (2018). Efficacy and Safety of Ashwagandha Root Extract in Subclinical Hypothyroid Patients: A Double-Blind, Randomized Placebo-Controlled Trial. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 24(3), 243–248.
- [259] Ilayperuma, I., Ratnasooriya, W. D., & Weerasooriya, T. R. (2002). Effect of *Withania somnifera* root extract on the sexual behaviour of male rats. *Asian journal of andrology*, 4(4), 295–298.
- [260] Davis, L., & Kuttan, G. (2000). Immunomodulatory activity of *Withania somnifera*. *Journal of ethnopharmacology*, 71(1-2), 193–200.
- [261] Hosseinzadeh, H., & Nassiri-Asl, M. (2013). Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Phytotherapy research : PTR*, 27(4), 475–483.
- [262] Moshiri, M., Vahabzadeh, M., & Hosseinzadeh, H. (2015). Clinical Applications of Saffron (*Crocus sativus*) and its Constituents: A Review. *Drug research*, 65(6), 287–295.
- [263] Alonso G.L., Salinas M.R., Garijo J., Sanchez-Fernandez M.A. (2001). Composition of crocins and picrocrocins from Spanish saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of food quality*, 24(3):219-233.
- [264] Lautenschläger, M., et al. (2015). Intestinal formation of trans-crocetin from saffron extract (*Crocus sativus* L.) and in vitro permeation through intestinal and blood brain barrier. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 22(1), 36–44.
- [265] Chryssanthi, D. G., Lamari, F. N., Iatrou, G., Pylara, A., Karamanos, N. K., & Cordopatis, P. (2007). Inhibition of breast cancer cell proliferation by style constituents of different *Crocus* species. *Anticancer research*, 27(1A), 357–362.
- [266] Tarantilis P.A. & Polissiou M.G. (1997). Isolation and identification of the aroma components from saffron (*Crocus sativus*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(2):459-462.
- [267] Hosseinzadeh, H., & Noraei, N. B. (2009). Anxiolytic and hypnotic effect of *Crocus sativus* aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice. *Phytotherapy research : PTR*, 23(6), 768–774.
- [268] Winterhalter P. & Straubinger M. (2000). Saffron—renewed interest in an ancient spice. *Food reviews international*, 16(1):39-59.
- [269] Petrakis, E. A., Cagliani, L. R., Polissiou, M. G., & Consonni, R. (2015). Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant adulterants by (1)H NMR metabolite fingerprinting. *Food chemistry*, 173, 890–896.
- [270] International Organization for Standardization. ISO 3632-1:2011 Spices—Saffron (*Crocus sativus* L.)—Part 1: Specification. Geneva: ISO; 2011.

- [271] Caballero-Ortega H., Pereda-Miranda R., Abdullaev F.I. (2007). HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemisrt*, 100(3):1126-1131.
- [272] Ordoudi S.A., Tsimidou M.Z. (2007) Saffron quality: effect of agricultural practices, processing and storage. In: *Handbook of Herbs and Spices*. Vol 3. Woodhead Publishing, :209-260.
- [273] Akhondzadeh, S., Fallah-Pour, H., Afkham, K., Jamshidi, A. H., & Khalighi-Cigaroudi, F. (2004). Comparison of *Crocus sativus* L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double-blind randomized trial [ISRCTN45683816]. *BMC complementary and alternative medicine*, 4, 12.
- [274] Lopresti, A. L., & Smith, S. J. (2022). An examination into the mental and physical effects of a saffron extract (affron®) in recreationally-active adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 19(1), 219–238..
- [275] Pitsikas N. (2015). The Effect of *Crocus sativus* L. and Its Constituents on Memory: Basic Studies and Clinical Applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2015, 926284.
- [276] Hosseinzadeh, H., Karimi, G. and Niapoor, M. (2004). Antidepressant effect of *Crocus sativus* l. Stigma extracts and their constituents, crocin and safranal, in mice. *Acta Horti*. 650, 435-445
- [277] Pitsikas N, Zisopoulou S, Tarantilis PA, et al. Effects of the active constituents of *Crocus sativus* L., crocins on recognition and spatial rats' memory. *Behav Brain Res*. 2007;183(2):141-146.
- [278] Shahmansouri, N., et al. (2014). A randomized, double-blind, clinical trial comparing the efficacy and safety of *Crocus sativus* L. with fluoxetine for improving mild to moderate depression in post percutaneous coronary intervention patients. *Journal of affective disorders*, 155, 216–222.
- [279] Ettehad H, Mojabi SN, Ranjbaran M, et al. (2013). Aqueous extract of saffron (*Crocus sativus*) increases brain dopamine and glutamate concentrations in rats. *Journal of behavioural and brain science*, 3(3):315-319.
- [280] Ghaffari, S.h, Hatami, H., & Dehghan, G. (2015). Saffron ethanolic extract attenuates oxidative stress, spatial learning, and memory impairments induced by local injection of ethidium bromide. *Research in pharmaceutical sciences*, 10(3), 222–232.
- [281] Ghadrdoost, B., et al. (2011). Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *European journal of pharmacology*, 667(1-3), 222–229.
- [282] Hosseinzadeh, H., & Sadeghnia, H. R. (2005). Safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, 8(3), 394–399.
- [283] Nam, K. N., Park, Y. M., Jung, H. J., Lee, J. Y., Min, B. D., Park, S. U., Jung, W. S., Cho, K. H., Park, J. H., Kang, I., Hong, J. W., & Lee, E. H. (2010). Anti-inflammatory effects of crocin and crocetin in rat brain microglial cells. *European journal of pharmacology*, 648(1-3), 110–116.
- [284] Munirah, M. P., Norhayati, M. N., & Noraini, M. (2022). *Crocus Sativus* for Insomnia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of environmental research and public health*, 19(18), 11658.
- [285] Han, S., Cao, Y., Wu, X., Xu, J., Nie, Z., & Qiu, Y. (2024). New horizons for the study of saffron (*Crocus sativus* L.) and its active ingredients in the management of neurological and psychiatric disorders: A systematic review of clinical evidence and mechanisms. *Phytotherapy research : PTR*, 38(5), 2276–2302.
- [286] Mazidi, M., Shemshian, M., Mousavi, S. H., Norouzy, A., Kermani, T., Moghiman, T., Sadeghi, A., Mokhber, N., Ghayour-Mobarhan, M., & Ferns, G. A. (2016). A double-blind, randomized and placebo-controlled trial of Saffron (*Crocus sativus* L.) in the treatment of anxiety and depression. *Journal of complementary & integrative medicine*, 13(2), 195–199.
- [287] Lopresti, A. L., Smith, S. J., Metse, A. P., & Drummond, P. D. (2020). Effects of saffron on sleep quality in healthy adults with self-reported poor sleep: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of clinical sleep medicine : JCSM : official publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 16(6), 937–947.
- [288] Jackson, P. A., et al. (2021). Effects of Saffron Extract Supplementation on Mood, Well-Being, and Response to a Psychosocial Stressor in Healthy Adults: A Randomized, Double-Blind, Parallel Group, Clinical Trial. *Frontiers in nutrition*, 7, 606124..
- [289] Lopresti, A. L., Smith, S. J., Marx, W., Díez-Municio, M., & Morán-Valero, M. I. (2025). An Examination into the Effects of a Saffron Extract (Affron) on Mood and General Wellbeing in Adults Experiencing Low Mood: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *The Journal of nutrition*, 155(7), 2300–2311.
- [290] Papandreou, M. A., et al. (2006). Inhibitory activity on amyloid-beta aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(23), 8762–8768.

- [291] Karakani, A. M., Riazi, G., Mahmood Ghaffari, S., Ahmadian, S., Mokhtari, F., Jalili Firuzi, M., & Zahra Bathaie, S. (2015). Inhibitory effect of corcin on aggregation of 1N/4R human tau protein in vitro. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(5), 485–492.
- [292] Abe, K., Sugiura, M., Yamaguchi, S., Shoyama, Y., & Saito, H. (1999). Saffron extract prevents acetaldehyde-induced inhibition of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. *Brain research*, 851(1-2), 287–289.
- [293] Akhondzadeh, S., et al. (2010). Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 35(5), 581–588.
- [294] Akhondzadeh, S., et al. (2010). A 22-week, multicenter, randomized, double-blind controlled trial of *Crocus sativus* in the treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*, 207(4), 637–643.
- [295] Tsolaki, M., et al. (2016). Efficacy and Safety of *Crocus sativus* L. in Patients with Mild Cognitive Impairment: One Year Single-Blind Randomized, with Parallel Groups, Clinical Trial. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 54(1), 129–133.
- [296] Farokhnia, M., et al. (2014). Comparing the efficacy and safety of *Crocus sativus* L. with memantine in patients with moderate to severe Alzheimer's disease: a double-blind randomized clinical trial. *Human psychopharmacology*, 29(4), 351–359..
- [297] Agha-Hosseini, M., et al. (2008). *Crocus sativus* L. (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 115(4), 515–519.
- [298] Modaghegh, M. H., Shahabian, M., Esmaeili, H. A., Rajbai, O., & Hosseinzadeh, H. (2008). Safety evaluation of saffron (*Crocus sativus*) tablets in healthy volunteers. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 15(12), 1032–1037.
- [299] Lopresti, A. L., & Drummond, P. D. (2014). Saffron (*Crocus sativus*) for depression: a systematic review of clinical studies and examination of underlying antidepressant mechanisms of action. *Human psychopharmacology*, 29(6), 517–527.
- [300] Hausenblas, H. A., Saha, D., Dubyak, P. J., & Anton, S. D. (2013). Saffron (*Crocus sativus* L.) and major depressive disorder: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of integrative medicine*, 11(6), 377–383.
- [301] Euromonitor International (2024). Health and wellness in Italy. London: Euromonitor International Ltd.
- [302] Unione Italiana Food, Integratori & Salute (2024). Assemblea annuale, Rapporto sul mercato degli integratori alimentari in Italia, elaborazione da dati New Line Ricerche di Mercato.
- [303] New Line Ricerche di Mercato (2025). Report mensile sul mercato degli integratori alimentari in Italia.
- [304] ISTAT (2025). Rapporto annuale 2025. La situazione del Paese.
- [305] ISTAT (2025). Previsioni della popolazione residente e delle famiglie - Anno 2024.
- [306] OECD (2023). Health at a glance 2023: OECD indicators. Paris: OECD Publishing.
- [307] Ministero della Salute (2024). Relazione sullo stato sanitario del Paese 2022-2023.
- [308] European Food Safety Authority (2023). Use of botanicals in food supplements in Italy. Parma: EFSA.
- [309] Nielsen IQ. (2024). Italian consumer health and wellness trends 2024. Milano: Nielsen Company Italy.
- [310] European Parliament (2024). Regulation (EU) 2015/2283 on novel foods. Brussels: European Parliament.
- [311] Ministero della Salute (2023). Linee guida per gli integratori alimentari.
- [312] Banda d'Italia (2025). Economic bulletin - Italy Q1 2025.
- [313] IPSOS (2024). Italian consumer survey on sleep and wellness products. Milano: IPSOS Italy.
- [314] European Sleep Research Society (2023). Sleep disorders in Europe: Gender differences and market implications. Regensburg: ESRS.
- [315] CENSIS (2025). 59° Rapporto sulla situazione sociale del Paese 2025. Roma: Centro Studi Investimenti Sociali.
- [316] López-Lluch, G., Irusta, P. M., Navas, P., & de Cabo, R. (2008). Mitochondrial biogenesis and healthy aging. *Experimental Gerontology*, 43(9), 813-819.
- [317] Rozycka, A., & Liguz-Leczna, M. (2017). The space where aging acts: Focus on the GABAergic synapse. *Aging Cell*, 16(4), 634-643.
- [318] Buysse, D. J. (2014). Sleep health: Can we define it? Does it matter? *Sleep*, 37(1), 9-17.
- [319] Garbarino, S., & Bragazzi, N. L. (2024). Revolutionizing Sleep Health: The Emergence and Impact of Personalized Sleep Medicine. *Journal of personalized medicine*, 14(6), 598.

- [320] Varghese, N. E., Lugo, A., Ghislandi, S., Colombo, P., Pacifici, R., & Gallus, S. (2020). Sleep dissatisfaction and insufficient sleep duration in the Italian population. *Scientific reports*, 10(1), 17943.
- [321] Zimmermann, G. R., Lehár, J., & Keith, C. T. (2007). Multi-target therapeutics: When the whole is greater than the sum of the parts. *Drug Discovery Today*, 12(1-2), 34-42.
- [322] López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243–278.
- [323] European Food Safety Authority. (2012) Guidance on the scientific requirements for health claims related to functions of the nervous system, including psychological functions. *EFSA Journal* 10(7):2816.
- [324] Ioannidis, J. P. (2008). Interpretation of tests of heterogeneity and bias in meta-analysis. *Journal of Evaluation in Clinical Practice*, 14(5), 951-957.
- [325] Schulz, K. F., Altman, D. G., Moher, D., & CONSORT Group. (2010). CONSORT 2010 statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *PLoS Medicine*, 7(3), e1000251.
- [326] Pocock, S. J., Assmann, S. E., Enos, L. E., & Kasten, L. E. (2002). Subgroup analysis, covariate adjustment and baseline comparisons in clinical trial reporting: Current practice and problems. *Statistics in Medicine*, 21(19), 2917-2930.
- [327] Justice, J. N., Ferrucci, L., Newman, A. B., et al. (2018). A framework for selection of blood-based biomarkers for geroscience-guided clinical trials: Report from the TAME Biomarkers Workgroup. *GeroScience*, 40(5-6), 419-436.
- [328] Wagner, K. H., Cameron-Smith, D., Wessner, B., & Franzke, B. (2016). Biomarkers of aging: From function to molecular biology. *Nutrients*, 8(6), 338.
- [329] Woolf, S. H. (2008). The meaning of translational research and why it matters. *JAMA*, 299(2), 211-213.
- [330] Sebastiani, P., & Perls, T. T. (2012). The genetics of extreme longevity: Lessons from the New England Centenarian Study. *Frontiers in Genetics*, 3, 277.
- [331] Justice, J. N., Ferrucci, L., Newman, A. B., et al. (2018). A framework for selection of blood-based biomarkers for geroscience-guided clinical trials: Report from the TAME Biomarkers Workgroup. *GeroScience*, 40(5-6), 419-436.