Clinical Nutrition ESPEN 71 (2026) 102883

Spis treści dostępny w serwisie ScienceDirect

Clinical Nutrition ESPEN

Strona główna czasopisma: http://www.clinicalnutritionespen.com

Randomizowane badanie kontrolowane

Wpływ suplementacji polifenoli z oliwy z oliwek na parametry zespołu metabolicznego Badanie OleoMetS: randomizowane, kontrolowane badanie kliniczne

George Samoutis [a,*], Tassos C. Kyriakides [b], Nicholas Demetriou [c], Evdoxia Poulianiti [c], Gregoria Samouti [c], Sophronia Samouti [c], Panagiotis Diamantakos [d], Eleni Melliou [d], Prokopios Magiatis [d,**]

[a] Wydział Medyczny Uniwersytetu w Nikozji, Cypr
[b] Szkoła Zdrowia Publicznego Uniwersytetu Yale, New Haven, CT, USA
[c] Centrum Medyczne Apostolos Loukas, Nikozja, Cypr
[d] Laboratorium Farmakognozji i Chemii Produktów Naturalnych, Wydział Farmacji, Narodowy Uniwersytet Kapodistriański w Atenach, Kampus Uniwersytecki 15771, Zografou, Grecja

ARTYKUŁ INFO

Historia artykułu:
Otrzymano 16 listopada 2025 r.
Zaakceptowano 15 grudnia 2025 r.

Słowa kluczowe:
oleokanthal, oleaceina
Zespół metaboliczny

STRESZCZENIE

Kontekst i cele: Fenole aldehydowe oliwy z oliwek (OOP), w tym oleokantal, oleaceina, aglikon oleuropeiny oraz aglikon ligstrosidu, to wysoce bioaktywne sekwoiridoidy o wyjątkowych właściwościach prozdrowotnych. Badania przedkliniczne wykazały, że OOP wykazują działanie przeciwzapalne i przeciwutleniające. Celem badania była ocena bezpośredniego wpływu OOP na zdrowie jako suplementu diety u osób, u których zdiagnozowano zespół metaboliczny. Jako główne punkty końcowe wybrano stężenie glukozy we krwi na czczo (FBG) oraz hemoglobiny A1c (HbA1c), ponieważ są to kluczowe wskaźniki kontroli glikemii, stanowiącej podstawowy aspekt zespołu metabolicznego. Ich łączna ocena zapewnia kompleksowy obraz zarówno krótkoterminowej, jak i długoterminowej regulacji glikemii, co sprawia, że mają one duże znaczenie dla oceny interwencji.
Metody: W ramach tego podwójnie ślepego, randomizowanego, kontrolowanego badania klinicznego w okresie od 16 września 2024 r. do 27 stycznia 2025 r. przeprowadzono selekcję 110 osób pod kątem spełnienia kryteriów kwalifikacyjnych. Osiem osób nie spełniło kryteriów włączenia dotyczących zespołu metabolicznego, a 102 kwalifikujących się uczestników przydzielono losowo do grupy otrzymującej suplement OOPs lub do grupy placebo, wykorzystując wygenerowaną komputerowo sekwencję randomizacji. W ramach 12-tygodniowej interwencji uczestnicy otrzymywali albo suplement diety zawierający 10 mg/dobę ekstraktu z oliwy z oliwek bogatego w polifenole (80% oleokantalu/oleaceiny, 18% aglikonu oleuropeiny/aglikonu ligstrosidu), albo placebo. Nie zalecano żadnych zmian stylu życia, a dietę i aktywność fizyczną oceniano w 6. tygodniu. Głównymi punktami końcowymi były stężenie glukozy we krwi na czczo (FBG) oraz hemoglobina A1C (HbA1c). Punkty końcowe drugorzędne obejmowały profil lipidowy, białko C-reaktywne (CRP), wskaźnik masy ciała (BMI), ciśnienie krwi, obwód talii, badania czynności wątroby (LFT), szacowany współczynnik filtracji kłębuszkowej (eGFR), stężenie kwasu moczowego oraz wyniki w skali zmęczenia. Do porównania średnich zmian (12 tygodni – wartość wyjściowa) stężenia glukozy we krwi na czczo między grupą interwencyjną a grupą placebo zastosowano analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANOVA) oraz liniowe modele mieszane. Podobną analizę (zmiany w stosunku do wartości wyjściowej) przeprowadzono dla ciągłych wyników drugorzędnych. W przypadku wyników kategorycznych zmiany w stosunku do wartości wyjściowej porównano za pomocą testu chi-kwadrat. W stosownych przypadkach zastosowano korektę Bonferroniego dla wielokrotnych porównań.
Wyniki: Wszyscy 102 losowo przydzieleni uczestnicy ukończyli 12-tygodniową interwencję i zostali uwzględnieni w ostatecznej analizie. W grupie interwencyjnej odnotowano istotną poprawę w zakresie różnych wskaźników metabolicznych i fizjologicznych w porównaniu z grupą placebo. Znaczące obniżenie zaobserwowano w przypadku stężenia glukozy na czczo (FBG) (średnia różnica: —7,06 mg/dl, $p < 0,0001$) oraz HbA1c (—0,29 %, $p < 0,0001$). Ponadto interwencja doprowadziła do znaczącego obniżenia wskaźnika BMI (–1,15, $p < 0,0001$), skurczowego ciśnienia krwi (–7,66 mmHg, $p = 0,004$), trójglicerydów (–8,57, $p = 0,0003$), utlenionego LDL (–5,01, $p < 0,0001$) oraz kwasu moczowego (–1,04,

* Autor korespondencyjny.
** Autor korespondencyjny.
Adresy e-mail: george.samoutis@apostolosloukas.org, samoutis.g@unic.ac.cy (G. Samoutis), prokopios.magiatis@gmail.com (P. Magiatis).

https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2025.102883
2405-4577/© 2025 Opublikowano przez Elsevier Ltd w imieniu Europejskiego Towarzystwa Żywienia Klinicznego i Metabolizmu.

p < 0,0001), ALT (—4,92, p = 0,0002) oraz wskaźniki zmęczenia (—16,88, p < 0,0001). Odnotowano również istotny wzrost eGFR (+3,38, p = 0,0002).
Wniosek: Suplementacja OOPs wydaje się obiecująca w poprawie kluczowych markerów metabolicznych u pacjentów z zespołem metabolicznym (MetS). Interwencja była dobrze tolerowana, nie odnotowano żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych. Konieczne są dalsze badania z dłuższymi okresami interwencji, obserwacją follow-up oraz jeszcze wyższymi dawkami OOPs w celu oceny długoterminowej trwałości i wielkości efektu.
Rejestracja badania: Identyfikator ClinicalTrials.gov: NCT07144488.
© 2025 Opublikowano przez Elsevier Ltd w imieniu Europejskiego Towarzystwa Żywienia Klinicznego i Metabolizmu.

1. Wprowadzenie i kontekst

Zespół metaboliczny (MetS) to zespół powiązanych ze sobą zaburzeń metabolicznych — otyłości brzusznej, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego i insulinooporności — które znacznie zwiększają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych (CVD), udaru mózgu i cukrzycy typu 2 (T2DM). Częstość występowania zespołu metabolicznego rośnie na całym świecie w związku z rosnącą częstością występowania otyłości i siedzącego trybu życia. Osoby z MetS są nawet pięciokrotnie bardziej narażone na rozwój T2DM i mają około dwukrotnie większe ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych w porównaniu z osobami bez MetS.

Regularne spożywanie oliwy z oliwek zapewnia znaczące korzyści w zakresie ochrony serca, co po raz pierwszy wykazało badanie „Seven Countries Study" przeprowadzone w latach 60. XX wieku [1]. Badanie to ujawniło, że śmiertelność z powodu chorób wieńcowych w regionie śródziemnomorskim była od dwóch do trzech razy niższa w porównaniu z Europą Północną i Stanami Zjednoczonymi. Wynik ten był konsekwentnie potwierdzany w kolejnych badaniach [2,3]. Ponadto w dużym amerykańskim badaniu kohortowym wykazano związek między wyższym spożyciem oliwy z oliwek a mniejszą liczbą zdarzeń sercowo-naczyniowych, niższą śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz z jakiejkolwiek przyczyny, a także znacznie zmniejszonym ryzykiem udaru mózgu [4]. Podstawowa patofizjologia zespołu metabolicznego obejmuje przewlekłe, niskostopniowe zapalenie, dysfunkcję śródbłonka oraz zwiększony stres oksydacyjny, a wszystkie te czynniki przyczyniają się do przyspieszenia rozwoju miażdżycy. Polifenole pochodzenia pokarmowego okazały się potencjalnymi modulatorami tych procesów. W szczególności polifenole pochodzące z oliwy z oliwek extra virgin, takie jak oleokantal i oleaceina, wykazały silne działanie przeciwzapalne poprzez hamowanie cyklooksygenazy (COX) [5], a także szereg innych korzystnych właściwości [6], podczas gdy oleaceina, aglikon oleuropeiny i aglikon ligstrosidu wykazały w badaniach przedklinicznych właściwości przeciwutleniające i ochronne dla śródbłonka, a także właściwości związane z regulacją otyłości, zapobieganiem nowotworom i neurodegeneracji oraz zmniejszaniem ryzyka miażdżycy [7–9].

Od 2012 roku EFSA oficjalnie uznaje ochronną rolę
związki fenolowe zawarte w oliwie z oliwek przeciwdziałają utlenianiu lipidów we krwi [10], co zostało uznane przez Komisję Europejską za dopuszczalne oświadczenie zdrowotne [11]. Badania kliniczne przeprowadzone przez członków naszej grupy wykazały korzyści płynące ze stosowania oliwy z oliwek o wysokiej zawartości OOPs w takich schorzeniach, jak przewlekła białaczka limfocytowa [12], łagodne zaburzenia poznawcze [13,14], stres oksydacyjny [15] oraz agregacja płytek krwi [16,17]. Wcześniejsze niezależne badania kliniczne wykazały również, że oliwy z oliwek o wysokiej zawartości związków fenolowych wykazują znacznie silniejsze działanie w porównaniu z oliwami o niskiej zawartości tych związków w odniesieniu do cholesterolu, utlenionego LDL, stężenia glukozy we krwi, ciśnienia krwi oraz różnych innych parametrów związanych z zespołem metabolicznym [18–22].

Do tej pory przypisywanie zaobserwowanych u ludzi efektów działaniu składników fenolowych opierało się pośrednio na porównaniach między działaniem oliw z oliwek o wysokiej i niskiej zawartości fenoli, ponieważ izolacja OOP na dużą skalę wiązała się z trudnościami technicznymi, które uniemożliwiały ich stosowanie w suplementach diety. W niniejszym badaniu opisujemy nowatorską metodę izolacji i przygotowania preparatów zawierających OOP oraz po raz pierwszy oceniamy u ludzi z zespołem metabolicznym, ich bezpośredni wpływ na zdrowie jako suplementu diety.

Biorąc pod uwagę udowodnioną rolę stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w nasilaniu insulinooporności, otyłości brzusznej i dyslipidemii – głównych składników zespołu metabolicznego zgodnie z definicją IDF – polifenole zawarte w oliwie z oliwek mogą wywierać korzystny wpływ na metabolizm dzięki swoim właściwościom przeciwutleniającym i przeciwzapalnym. W związku z tym postawiliśmy sobie za cel ocenę wpływu suplementacji fenolem aldehydowym z oliwy z oliwek (OOP) na parametry metaboliczne i zapalne u osób z zespołem metabolicznym, stawiając hipotezę, że suplementacja OOP poprawi profil glikemiczny i lipidowy w porównaniu z placebo [23].

2. Pacjenci i metody

2.1. Projekt badania, randomizacja i uczestnicy

To 12-tygodniowe badanie interwencyjne było randomizowanym, jednoośrodkowym, podwójnie ślepym badaniem z dwiema równoległymi grupami, przeprowadzonym w okresie od 16.09.2024 r. do 27.01.2025 r. Badanie to zostało zarejestrowane w serwisie ClinicalTrials.gov pod numerem NCT07144488. Uczestników rekrutowano z Centrum Medycznego Apostolos Loukas – największego ośrodka ambulatoryjnego na Cyprze, obsługującego ponad 30 000 pacjentów, przy czym nadzór akademicki i monitorowanie protokołu zapewniła Wydział Medyczny Uniwersytetu w Nikozji. Komisja Etyczna Cypru zatwierdziła protokół badania klinicznego. Został on opracowany w celu oceny wpływu OOP jako suplementu diety na różne parametry zespołu metabolicznego. Nie zalecano żadnych zmian stylu życia, a dietę i aktywność fizyczną oceniano w 6. tygodniu.

W niniejszym badaniu wykorzystaliśmy kwestionariusz Pyramid based Mediterranean Diet Score (PyrMDS) [24] w celu oceny przestrzegania przez uczestników głównych zasad diety śródziemnomorskiej przed rozpoczęciem badania, w jego trakcie oraz po jego zakończeniu, a także poziomu ich aktywności fizycznej. PyrMDS to ustrukturyzowane, zweryfikowane narzędzie, które pozwala określić częstotliwość spożycia podstawowych składników diety, w tym warzyw, owoców, produktów pełnoziarnistych, ryb i owoców morza, a następnie określa główne źródło tłuszczów w diecie, ze szczególnym uwzględnieniem spożycia oliwy z oliwek. Ponadto zawiera on kwestionariusz aktywności fizycznej [25], który klasyfikuje osoby jako aktywne lub nieaktywne, przyczyniając się do uzyskania ogólnego wyniku odzwierciedlającego łączną jakość diety i stylu życia. To zintegrowane podejście ułatwia rzetelne badanie wpływu suplementacji polifenoli z oliwy z oliwek na kluczowe parametry zespołu metabolicznego. Ponadto wykorzystaliśmy ustrukturyzowany Kwestionariusz Poziomu Energii [26] w celu oceny postrzeganych przez uczestników poziomów zmęczenia i aktywności. Kwestionariusz ten posłużył do uchwycenia wielu aspektów zmęczenia, w tym zmęczenia ogólnego, fizycznego i psychicznego, a także obniżonej aktywności, poprzez pytania oparte na samoocenie i oceniane w skali stopniowej. Uczestnicy oceniali stopień, w jakim odczuwali zmęczenie, wyczerpanie, brak energii, trudności z koncentracją i pamięcią oraz ograniczenia w rozpoczynaniu lub wykonywaniu codziennych czynności. W ten sposób zebrano kompleksowy profil subiektywnych poziomów energii, który można skorelować z interwencjami dietetycznymi w celu oceny

potencjalny wpływ suplementacji OOP na zmęczenie i wyniki związane z aktywnością fizyczną.

Kwalifikujący się uczestnicy wyrazili zgodę na udział w badaniu, zostali poddani badaniom przesiewowym i losowo przydzieleni do grupy otrzymującej przez 12 tygodni suplement diety zawierający OOPs lub do grupy otrzymującej identyczną kapsułkę placebo. Uczestnikom przydzielonym losowo do grupy interwencyjnej przepisano dzienną dawkę 2 kapsułek, z których każda zawierała 5 mg (łącznie 10 mg dziennej dawki) polifenoli, a mianowicie oleokantalu/oleaceiny (80%) oraz aglikonu oleuropeiny/aglikonu lig-strosidu (18%). Uczestnikom przydzielonym losowo do grupy kontrolnej przepisano dzienną dawkę 2 kapsułek placebo. Wszyscy uczestnicy byli objęci rutynową opieką w ośrodku medycznym. W momencie włączenia do badania wszyscy uczestnicy otrzymali takie same wytyczne dotyczące interwencji dietetycznej, schematu leczenia farmakologicznego oraz aktywności fizycznej. Na początku badania cechy demograficzne (w tym pochodzenie etniczne, płeć, wiek, poziom wykształcenia) oraz historia rodzinna zespołu metabolicznego zostały zebrane w trakcie wywiadu przeprowadzonego przez lekarza prowadzącego badanie. Do badania włączono osoby (w wieku 30–70 lat) z aktualną diagnozą zespołu metabolicznego opartą na kryteriach Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF). Zgodnie z definicją Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF) zespół metaboliczny rozpoznawano na podstawie obecności otyłości brzusznej, definiowanej przez progi obwodu talii specyficzne dla danej grupy etnicznej (≥94 cm u mężczyzn i ≥80 cm u kobiet w populacjach rasy europejskiej), wraz z co najmniej dwoma z następujących czynników: podwyższony poziom trójglicerydów (≥150 mg/dl lub leczenie), obniżony poziom cholesterolu HDL (<40 mg/dl u mężczyzn lub <50 mg/dl u kobiet lub leczenie), podwyższone ciśnienie tętnicze (≥130/85 mmHg lub leczenie przeciwnadciśnieniowe) lub podwyższony poziom glukozy w osoczu na czczo (≥100 mg/dl) lub wcześniej zdiagnozowana cukrzyca typu 2 [27]. Następujące wyniki rejestrowano na początku badania oraz po 12 tygodniach: wskaźniki biochemiczne na podstawie badań krwi na czczo: lipidy, CRP, stężenie glukozy na czczo, HbA1c, profil lipidowy, kwas moczowy, wyniki badań czynności wątroby (LFT) i nerek (RFT); status palenia tytoniu; wskaźnik masy ciała (BMI); skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze; stosunek obwodu talii do bioder (WHR); nawyki żywieniowe (dieta bogata w tłuszcze nasycone i węglowodany); dziennik aktywności fizycznej. Co miesiąc wysyłano elektroniczny kwestionariusz dotyczący aktywności fizycznej w celu uchwycenia wszelkich zmian w zakresie ćwiczeń, które mogłyby przyczynić się do zmian w wynikach badania uczestników. Co miesiąc stosowano przypomnienia telefoniczne. Poważne zdarzenia niepożądane były oceniane przez cały czas trwania badania przez głównego badacza (GS). Wszystkie dane były wprowadzane na bezpiecznej, chronionej hasłem stronie internetowej przez przeszkolonych i zatwierdzonych lekarzy. System danych badania, w tym procesy selekcji i randomizacji oraz gromadzenie danych, został opracowany przez wykonawcę i zweryfikowany we współpracy z biostatystykiem badania (TCK). Dostęp do zgromadzonych danych był ograniczony do biostatystyka (TCK) do momentu zakończenia badania, oczyszczenia wszystkich danych oraz zamknięcia bazy danych w celu przeprowadzenia analizy. Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu oprogramowania SAS w wersji 9.4. Jakość wprowadzania danych zapewniono poprzez kontrole zakresu w czasie rzeczywistym oraz algorytmy automatycznej walidacji danych. Wszelkie rozbieżności rozstrzygano poprzez weryfikację danych źródłowych i przegląd przeprowadzany przez głównego badacza. Integralność badania zabezpieczono poprzez rutynowe monitorowanie zgodności z protokołem oraz kompletności danych.

Wszystkie pomiary kliniczne i biochemiczne przeprowadzono przy użyciu standardowych metod. Stężenie glukozy we krwi na czczo oraz HbA1c analizowano za pomocą zautomatyzowanych testów enzymatycznych. Profil lipidowy (TC, HDL, LDL, TG) oraz CRP mierzono za pomocą enzymatycznych testów kolorymetrycznych z wykorzystaniem tej samej platformy. Badania czynności wątroby i nerek (ALT, AST, kreatynina, eGFR) przeprowadzono przy użyciu zatwierdzonych metod spektrofotometrycznych zgodnie z instrukcjami producenta w akredytowanym laboratorium. Ciśnienie krwi mierzono trzykrotnie za pomocą skalibrowanego cyfrowego ciśnieniomierza Omron M6 Comfort po 5-minutowym odpoczynku w pozycji siedzącej, a wskaźnik BMI obliczano jako masa ciała (kg) podzielona przez wzrost $(m^2)^2$. Wszystkie badania laboratoryjne przeprowadzono w laboratorium klinicznym Centrum Medycznego Apostolos Loukas, które uczestniczy w zewnętrznych programach zapewnienia jakości w celu zagwarantowania dokładności i powtarzalności wyników.

Schemat przebiegu badania OleoMetS zgodny z wytycznymi CONSORT przedstawiono na rys. 1. Uczestnicy i badacze nie znali przypisania do poszczególnych grup w tym badaniu; uczestnicy zostali losowo przydzieleni do grupy otrzymującej suplement OOPs lub do grupy placebo przy użyciu generowanej komputerowo sekwencji randomizacyjnej. Zarówno kapsułki z preparatem, jak i kapsułki placebo zostały zaprojektowane tak, aby miały identyczny wygląd i smak.

2.2. *Pierwszorzędowe i drugorzędowe punkty końcowe*

Jako główne punkty końcowe ocenialiśmy kluczowe wskaźniki zdrowotne, w tym stężenie glukozy na czczo (FBG) i HbA1c, a jako drugorzędne punkty końcowe – stężenie HDL, LDL, cholesterolu całkowitego (TC), trójglicerydów (TG), CRP, wskaźnik masy ciała (BMI), ciśnienie tętnicze (BP), otyłość brzuszną, wyniki badań czynności wątroby (LFT), wyników badań czynności nerek (RFT), stężenie kwasu moczowego oraz wyniki w skali oceny zmęczenia. Oceny przeprowadzono w trzech momentach: na początku badania/w momencie randomizacji, po 6 tygodniach (dieta i aktywność fizyczna) oraz po 12 tygodniach od zakończenia interwencji.

2.2.1. *Charakterystyka suplementu OOPs, ekstrakcja oliwy z oliwek i receptura*

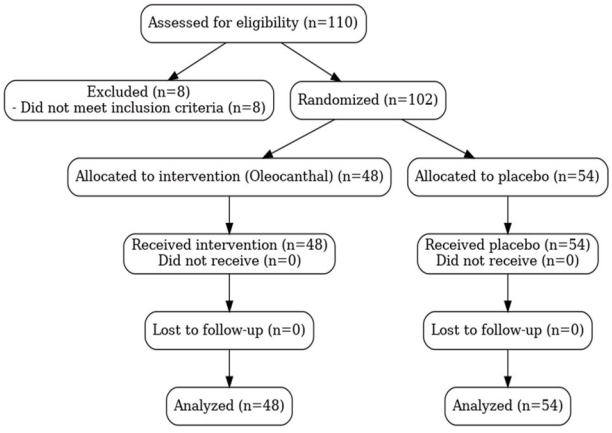
Związki docelowe, które zostały selektywnie wyekstrahowane z oliwy z oliwek, przedstawiono na rys. 2. Obejmują one głównie fenole aldehydowe oliwy z oliwek (OOPs), takie jak oleokantal, oleaceina, aglikon oleuropeiny i aglikon ligstrosidu, które są wysoce bioaktywnymi sekwoiridoidami o wyjątkowych właściwościach ochronnych dla zdrowia, oraz mniej znaczące proste związki fenolowe, takie jak hydroksytyrosol i tyrosol.

Tożsamość związków wyekstrahowanych z oliwy z oliwek potwierdzono za pomocą spektroskopii NMR przy użyciu aparatu Bruker Avance 400 MHz. Widmo 1H NMR związków OOP w $CDCl_3$ przedstawiono na rys. 3.

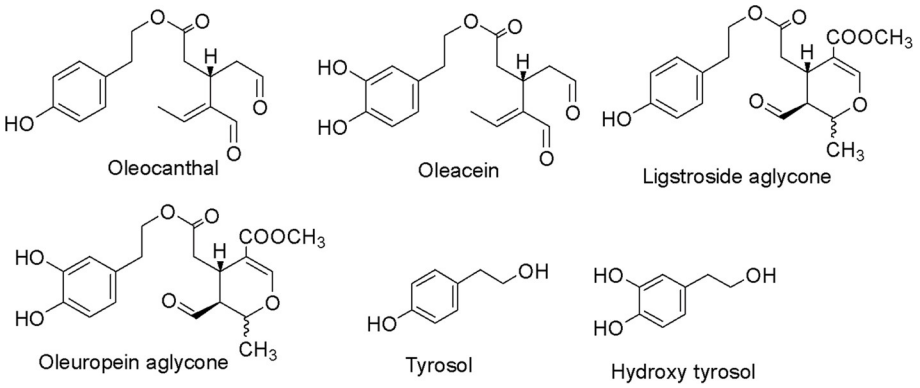
Widma NMR w 1H zostały przetworzone przy użyciu oprogramowania MNova 6.0.2 (Mestrelab Research). Oznaczenie ilościowe związków OOP w oliwie z oliwek, która posłużyła jako materiał wyjściowy, a także w uzyskanych ekstraktach i gotowych produktach przeprowadzono metodą qNMR, zgodnie z wcześniejszą procedurą [28].

Oliwa z oliwek wyprodukowana w firmie OMPHAX SA z mieszanki oliwek odmian Kalamon i Olympia, specjalnie wyselekcjonowanych pod kątem wysokiego stężenia (>1 g/kg) oleokantalu, oleaceiny, aglikonu oleuropeiny oraz aglikonu ligstrosidu, została intensywnie wymieszana z PEG400, a następnie mieszaninę pozostawiono na 10 dni w zbiorniku stożkowym. Dwie warstwy rozdzielono grawitacyjnie, a cięższa warstwa PEG400 została zebrana, przefiltrowana w celu usunięcia wszelkich cząstek nierozpuszczalnych i wykorzystana do przygotowania preparatu [29].

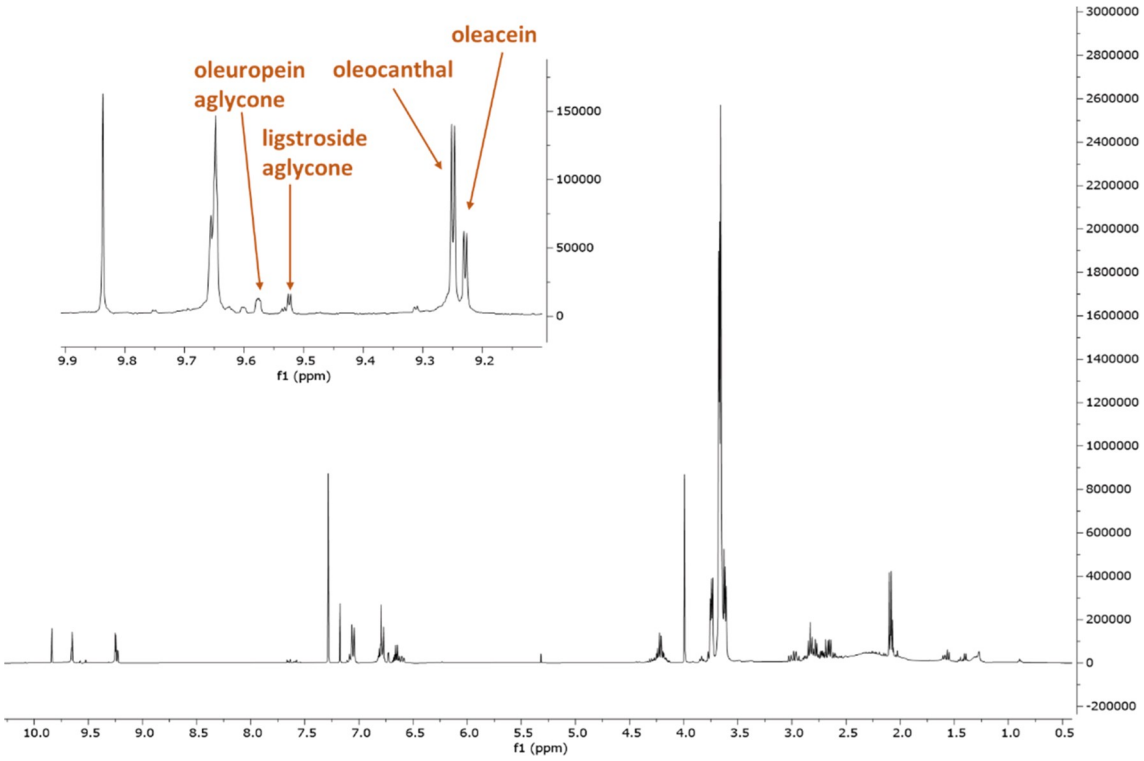
Kapsułki aktywne (Thousand Olives®) przygotowano poprzez zmieszanie ekstraktu z oliwy z oliwek w PEG400 z celulozą, dwutlenkiem krzemu i stearynianem magnezu. Kapsułki placebo przygotowano wyłącznie z PEG400, celulozy, dwutlenku krzemu i stearynianu magnezu; miały one taką samą masę i wygląd



Rys. 1. Schemat przebiegu badania OleoMetS.



Rys. 2. Struktury sekwoiridoidów/związków fenolowych selektywnie wyekstrahowanych z oliwy z oliwek.



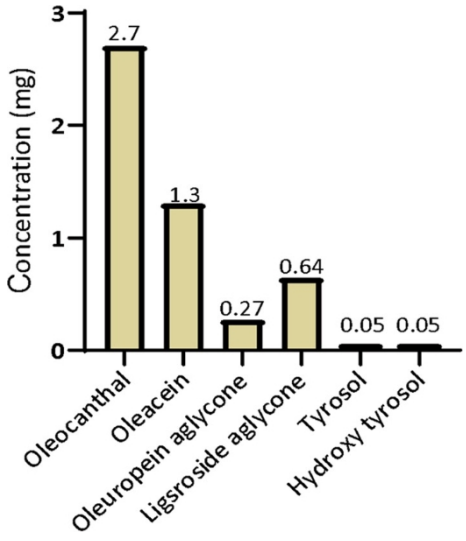
Rys. 3. Profil NMR ekstraktu Oleoprotect rozcieńczonego w $_{CDCl_3}$ wskazujący, że zawiera on wyłącznie fenole sekwoiridoidowe

w tym te aktywne. Dokładna zawartość poszczególnych OOP w kapsułce została przedstawiona na rys. 4 i została zmierzona metodą qNMR.

Ekstrakt OOP, jak pokazano na widmie NMR na rys. 3, zawiera wyłącznie opisane związki (oleokantal, oleaceinę, aglikon oleuropeiny, aglikon ligstrosidu oraz tyrosol). Zgodnie z pomiarami qNMR całkowita zawartość OOP w każdej kapsułce wynosi 5 mg, co odpowiada minimalnej dziennej dawce zalecanej przez EFSA dla 20 g oliwy z oliwek. Przyjmowanie dwóch kapsułek dziennie zapewnia 10 mg OOP, co odpowiada ilości zawartej w około trzech łyżkach stołowych oliwy z oliwek. Biorąc pod uwagę od dawna potwierdzone bezpieczeństwo spożycia oliwy z oliwek, zalecane przez EFSA dzienne spożycie oraz równoważność zawartości OOP w kapsułkach z ilością uzyskiwaną w ramach typowej diety opartej na wysokiej jakości oliwie z oliwek, produkt uznaje się za bezpieczny do stosowania przez ludzi.

Metodologię ekstrakcji opracowali autorzy (Panagiotis Diamantakos, Eleni Melliou i Prokopios Magiatis). Ekstrakt OOPs został przygotowany przez firmę OMPHAX SA, a końcowy produkt w kapsułkach został wyprodukowany przez firmę OnePharma SA, zarejestrowaną w Greckiej Narodowej Agencji Leków (EOF). Kontrolę jakości przeprowadzono zarówno w odniesieniu do ekstraktu, jak i gotowego produktu, wykorzystując ilościowy rezonans magnetyczny (qNMR) do pomiaru zawartości polifenoli oliwy z oliwek (OOPs). Proces kontroli jakości obejmował również badania na obecność zanieczyszczeń mikrobiologicznych oraz analizę pozostałości metali ciężkich, a wszystkie te badania potwierdziły bezpieczeństwo produktu i jego zgodność ze specyfikacjami. Badania stabilności suplementu przeprowadzono zgodnie z opisem w sekcji „Metody", wykazując jego stabilność przez cały okres badania. Nie przeprowadzono badań stabilności dla placebo, ponieważ zawierało ono wyłącznie substancje pomocnicze (PEG400, celulozę, dwutlenek krzemu i stearynian magnezu), które są chemicznie stabilne w identycznych warunkach przechowywania.

Aby zapewnić spójność i integralność produktu, opracowany suplement OOPs poddano badaniom stabilności w różnych warunkach przechowywania. Próbki przechowywano przez 3 miesiące w temperaturze 40 ° C i przy wilgotności 75 %



Rys. 4. Fenole sekwoiridoidowe w preparacie Thousand Olives®: mg na kapsułkę.

wilgotności względnej (RH), w temperaturze 30 ° C i przy 65 % RH oraz w temperaturze 25 ° C i przy 60 % RH. We wszystkich przypadkach preparat zachował >90 % początkowo oznaczonej zawartości OOPs, co wskazuje na doskonałą stabilność krótkoterminową nawet w warunkach przyspieszonych.

Przeprowadzono również długoterminowe monitorowanie w temperaturze pokojowej przez 30 miesięcy, podczas którego kapsułki konsekwentnie zachowywały >90 % zawartości substancji aktywnych (OOP), co potwierdziło trwałość preparatu.

Ponadto analizy wielu partii wyprodukowanych niezależnie wykazały zmienność całkowitego stężenia składników aktywnych (OOPs) między partiami na poziomie poniżej 5%, co potwierdza odtwarzalność i wysoką integralność produktu w całym procesie produkcyjnym.

2.2.2. *Kwestie etyczne*

Protokół został zatwierdzony przez Krajową Komisję Bioetyczną Cypru pod numerem EEBK/ΕΠ/2024/39. Wszyscy uczestnicy podpisali świadomą zgodę po wyjaśnieniu wszystkich celów i metodologii badania. Badanie OleoMetS zostało przeprowadzone zgodnie z zaleceniami Deklaracji Helsińskiej oraz wytycznymi Dobrej Praktyki Klinicznej Międzynarodowej Rady ds. Harmonizacji (CPMP/ICH/135/95).

2.3. *Analiza statystyczna*

Wielkość próby została ustalona a priori na podstawie pierwszorzędowego punktu końcowego, jakim było stężenie glukozy w osoczu na czczo (FBG). Badanie zaprojektowano tak, aby wykryć średnią różnicę międzygrupową (Δ) wynoszącą 10 mg/dl w zmianie stężenia FBG od wartości wyjściowej do 12. tygodnia. Wybrano tę wielkość zmiany, ponieważ uważa się ją za klinicznie istotną i znaczącą w kontekście zespołu metabolicznego oraz zaburzeń regulacji glikemii. Na podstawie wcześniejszych badań klinicznych przyjęto szacunkowe odchylenie standardowe (σ) wynoszące 15 mg/dL dla zmiany stężenia FBG.

Przy zastosowaniu tych parametrów, dwustronnego poziomu istotności (błąd typu I α = 0,05) oraz pożądanej mocy statystycznej wynoszącej 90%, obliczono, że minimalna wymagana wielkość próby wynosi 47 uczestników w każdej grupie. Aby zrekompensować przewidywany 10-procentowy wskaźnik rezygnacji lub utraty uczestników w trakcie obserwacji, ostateczny cel rekrutacji zwiększono do 53 uczestników w każdej grupie, co dało planowaną łączną liczbę 106 uczestników. Ostatecznie losowo przydzielono łącznie 102 uczestników (grupa kontrolna n = 54; grupa interwencyjna n = 48). Nawet przy tej nieco
mniejszej liczbie uczestników, uzyskana wielkość próby pozostała wystarczająca, aby zachować moc statystyczną przekraczającą 90% w celu wykrycia z góry określonej wielkości efektu w zakresie zmian stężenia glukozy na czczo (FBG). Późniejsza weryfikacja mocy potwierdziła, że zaobserwowana wielkość efektu mieściła się w granicach wykrywalności dla ostatecznej próby.

Wszystkie analizy przeprowadzono zgodnie z zasadą „intention-to-treat". W przypadku głównych punktów końcowych (FBG i HbA1c) zastosowano analizę wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANCOVA) oraz liniowe modele mieszane w celu porównania średnich zmian w stosunku do wartości wyjściowych między grupami w poszczególnych wizytach badawczych. Modele najpierw uruchomiono bez korekty, a następnie skorygowano o z góry określone zmienne towarzyszące (wiek, płeć i wyjściowy wskaźnik BMI) w celu uwzględnienia potencjalnych czynników zakłócających. Porównania między osobami badanymi na podstawie tych modeli wykazały statystycznie istotne efekty leczenia w przypadku obu głównych punktów końcowych, a istotność ta utrzymała się po skorygowaniu o zmienne towarzyszące (Tabela 1).

W przypadku pierwszorzędowego punktu końcowego, jakim jest stężenie glukozy na czczo (FBG), przeprowadzono porównanie średnich zmian w stosunku do wartości wyjściowej (12. tydzień minus wartość wyjściowa) przy użyciu metod powtarzanych pomiarów. Dla każdego uczestnika obliczono różnicę między stężeniem glukozy we krwi na czczo w 12. tygodniu a wartością wyjściową. Średnią różnicę w głównym punkcie końcowym między grupami interwencyjnymi porównano z wynikami z grupy placebo przy użyciu analizy wariancji z powtarzanymi pomiarami (ANOVA) lub liniowych modeli mieszanych. Podobną analizę (zmiana w 12. tygodniu w stosunku do wartości wyjściowej) przeprowadzono dla HbA1c oraz ciągłych punktów końcowych drugorzędnych. W przypadku punktów końcowych kategorycznych zmiany od wartości wyjściowej do 12. tygodnia porównano przy użyciu testu chi-kwadrat (Tabela 2).

3. Wyniki

3.1. *Rekrutacja, charakterystyka wyjściowa i przestrzeganie zaleceń*

W okresie od września 2024 r. do grudnia 2024 r. oceniono kwalifikowalność 110 osób (patrz tabela 2). Osiem osób nie spełniło kryteriów włączenia dotyczących zespołu metabolicznego i zostało wykluczonych. Pozostałych 102 kwalifikujących się uczestników przydzielono losowo do grupy otrzymującej suplement OOPs lub do grupy placebo, wykorzystując wygenerowaną komputerowo sekwencję randomizacji. Wszyscy losowo przydzieleni uczestnicy ukończyli 12-tygodniową interwencję i zostali uwzględnieni w ostatecznej analizie. Najważniejsze cechy demograficzne i charakterystyka wyjściowa uczestników poddanych randomizacji zostały podsumowane w tabeli 3. Główną zaletą badania był brak jakichkolwiek przypadków rezygnacji uczestników w trakcie jego trwania, co zapewniło integralność zebranych danych. W trakcie 12-tygodniowej interwencji nie zgłoszono żadnych działań niepożądanych ani problemów związanych z bezpieczeństwem w żadnej z grup badawczych. Suplement OOPs był dobrze tolerowany i żaden z uczestników nie przerwał interwencji z powodu skutków ubocznych.

Po włączeniu do badania przeprowadzono kompleksową ocenę cech wyjściowych wszystkich uczestników. Jak szczegółowo przedstawiono w tabeli 3, cechy te okazały się spójne w obu grupach badawczych, co wskazuje na pomyślną randomizację i minimalizuje ryzyko wystąpienia zmiennych zakłócających. Ponadto dokładna analiza nie wykazała żadnych istotnych różnic w cechach wyjściowych uczestników przy uwzględnieniu kolejności interwencji, co dodatkowo potwierdza solidność

Tabela 1
Skorygowane wyniki z liniowego modelu mieszanego dla głównych punktów końcowych (FBG i HbA1c).

Wynik	Zmienna	Nieskorygowane	Skorygowane
FBG	Grupa terapeutyczna	**0,007**	**0,0065**
	Wiek	brak danych	0,0235
	Płeć	brak danych	0,4990
	Wartość wyjściowa BMI	brak danych	0,0024
HbA1C	Grupa terapeutyczna	**0,0273**	**0,0318**
	Wiek	brak danych	0,0440
	Płeć	brak danych	0,5590
	Wartość wyjściowa BMI	brak danych	<0,0001

badania i dane pilotażowe dotyczące interwencji z wykorzystaniem oliwy z oliwek o wysokiej zawartości fenoli.

Tabela 2
Różnice międzygrupowe w zmianie stężenia glukozy we krwi na czczo (12. tydzień – wartość wyjściowa) wraz z wielkością efektu i mocą analizy post hoc.

Grupa	n	Średnia zmiana stężenia glukozy we krwi na czczo (12. tydzień – wartość wyjściowa)	Odchylenie standardowe	dCohena	Wielkość efektu	Moc statystyczna
Grupa kontrolna	54	0,5463	4,08			
oleokanthal	48	—6,52	7,60			
				—1,16	—0,5	>90 %*

Uwaga: Moc statystyczna oszacowana za pomocą testu t dla dwóch prób (o nierównych wariancjach) przy użyciu programu PASS 2022.

Tabela 3
Wychodzące cechy demograficzne i kliniczne uczestników przydzielonych losowo do grup (n = 102).

	Grupa kontrolna (n = 54)*	Grupa interwencyjna (n = 48)*	Ogółem (n = 102)*
Pleć			
Kobiety	21 (39 %)	15 (31 %)	36 (35 %)
Mężczyzna	33 (61 %)	33 (69 %)	66 (65 %)
Poziom wykształcenia			
Gimnazjum	5 (9 %)	6 (13 %)	11 (11 %)
Liceum	22 (41 %)	18 (38 %)	40 (39 %)
Uniwersytet/szkoła wyższa	15 (28 %)	17 (35 %)	32 (31 %)
Studia podyplomowe (magisterskie)	11 (20 %)	5 (10 %)	16 (16 %)
Studia podyplomowe (doktoranckie)	1 (2 %)	2 (4 %)	3 (3 %)
Pochodzenie etniczne			
Cypryjczyk grecki	51 (94 %)	48 (100 %)	99 (97 %)
Turcy cypryjscy	1 (2 %)	0 (0 %)	1 (1 %)
Inni Europejczycy	2 (4 %)	0 (0 %)	2 (2 %)
Zespół metaboliczny w rodzinie			
Nie	26 (48 %)	23 (48 %)	49 (48 %)
Tak	28 (52 %)	25 (52 %)	53 (52 %)
Obecnie palący			
Nie	33 (61 %)	34 (71 %)	67 (66 %)
Tak	21 (39 %)	14 (29 %)	35 (34 %)
Obecna diagnoza stłuszczenia wątroby			
Nie	35 (65 %)	23 (48 %)	58 (57 %)
Tak	19 (35 %)	25 (52 %)	44 (43 %)
Wiek (w latach)	58 (11,5)	55,1 (11,4)	56,6 (11,5)
Wskaźnik BMI na początku badania	31,3 (4,3)	32,3 (5,8)	31,8 (5,1)
Ciśnienie krwi w mm Hg			
Ciśnienie rozkurczowe	89,9 (11,5)	90,5 (11,2)	90,2 (11,3)
Ciśnienie skurczowe	140,1 (13,7)	139,6 (14,0)	139,9 (13,8)
Stosunek obwodu talii do bioder	1,1 (0,3)	1,0 (0,2)	1,09 (0,29)
Wyniki ELQ			11,3 (3,8)
Wynik ogólny	79,5 (17,8)	78,4 (15,6)	79,0 (16,7)
Ogólna ocena zmęczenia	11,4 (4,0)	11,3 (3,7)	11,3 (3,8)
Wynik zmęczenia fizycznego	12,2 (4,9)	12,0 (4,5)	12,1 (4,7)
Wynik zmęczenia psychicznego	10,9 (4,7)	10,6 (4,6)	10,8 (4,6)
Wynik dotyczący zmniejszonej aktywności	10,8 (4,3)	10,7 (4,1)	10,7 (4,2)
Wynik w zakresie obniżonej motywacji	10,5 (4,6)	9,8 (4,1)	10,2 (4,4)
Wynik samopoczucia	12,2 (3,9)	12,2 (4,1)	12,2 (4,0)
Wynik jakości snu	11,6 (2,0)	11,7 (2,3)	11,6 (2,2)
Przestrzeganie diety śródziemnomorskiej	3,7 (1,4)	3,3 (1,3)	3,5 (1,4)

Uwaga: Łączna liczba n = 102 obejmuje wszystkich losowo przydzielonych uczestników (110 poddanych badaniu przesiewowemu, 8 wykluczonych).

Projekt badania. Chociaż stłuszczenie wątroby występowało częściej w grupie interwencyjnej (52%) niż w grupie kontrolnej (35%), różnica ta nie była statystycznie istotna (test χ^2 ^{2}, p = 0,11). Porównania danych wyjściowych wykazały ponadto brak istotnych różnic między grupami pod względem wskaźnika BMI, skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi, podczas gdy stężenie glukozy we krwi na czczo oraz poziom HbA1c były istotnie wyższe w grupie interwencyjnej na początku badania (odpowiednio p = 0,001 i p = 0,002).

3.2. Wyniki pierwotne i wtórne

Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w zakresie głównego punktu końcowego (stężenie glukozy we krwi na czczo; FBG) między dwiema grupami badanymi. W grupie interwencyjnej odnotowano średni spadek (po 12 tygodniach w porównaniu z wartością wyjściową) stężenia FBG o 6,5 mg/dl (95% CI średniej: —4,3; —8,7); w grupie kontrolnej zmiana o 0,5 mg/dl (po 12 tygodniach w porównaniu z wartością wyjściową) nie była statystycznie istotna (95% przedział ufności dla średniej: –0,6; 1,7). Różnica w średniej zmianie między obiema grupami badania, wynosząca 7,06 mg/dl, była statystycznie istotna (95% CI średniej: 4,6; 9,5; p < 0,0001) w momencie Błąd typu I na poziomie 0,05, a także skorygowany błąd typu I na poziomie 0,025 (w celu umożliwienia badania HbA1c jako drugorzędowego punktu końcowego). Podobnie różnica w średniej zmianie HbA1c (po 12 tygodniach w stosunku do wartości wyjściowej) między dwiema grupami badanymi wyniosła 0,29 i była statystycznie istotna przy poziomie alfa wynoszącym 0,025 (skorygowanym z uwzględnieniem wielokrotnych porównań podczas badania HbA1c jako drugiego głównego punktu końcowego). (95 % CI; 0,19; 0,39; p < 0,0001).

Nie zaobserwowano żadnych istotnych zmian w przestrzeganiu diety śródziemnomorskiej i aktywności fizycznej między grupami ani w obrębie poszczególnych grup wśród uczestników obu ram badania, co sugeruje, choć nie dowodzi ostatecznie, brak zanieczyszczenia w naszych próbkach. W związku z tym szczegółowe dane z 6-tygodniowej oceny diety i aktywności fizycznej nie zostały uwzględnione w głównej prezentacji wyników.

Porównanie zmian w wynikach głównych i drugorzędnych, zarówno ciągłych, jak i kategorycznych, przedstawiono w tabeli 4.

Oprócz poprawy podstawowych parametrów glikemicznych w grupie objętej interwencją zaobserwowano klinicznie i statystycznie istotne

Tabela 4
Porównanie zmian w wynikach pierwotnych i wtórnych.

Wynik	Średnia zmiana w grupie kontrolnej	Średnia zmiana w grupie interwencyjnej	Średnia zmiana w grupie interwencyjnej – średnia zmiana w grupie kontrolnej	95 % CI	p [a]
Główne					
FBG	0,55	—6,52	7,07	4,61; 9,53	<0,0001 [b]
HbA1c	—0,14	—0,30	0,29	0,19; 0,39	<0,0001 [c]
Wtórne					
BMI	0,066	—1,09	1,15	0,81, 1,50	*<0,0001*
WHR	—0,02	0,02	0,00	—0,05, 0,06	0,93
Ciśnienie tętnicze					
Ciśnienie rozkurczowe	1,20	—4,85	6,06	1,18; 10,93	*0,015*
Ciśnienie skurczowe	0,43	—7,23	7,66	2,49; 12,81	*0,004*
Cholesterol	—1,67	—12,0	10,33	4,44, 16,22	*0,0007*
HDL	—0,07	—0,26	0,19	—0,75, 1,12	0,7
LDL	—0,78	—6,05	5,27	0,94; 9,60	*0,018*
Utleniony LDL	1,06	—3,96	5,01	3,21; 6,81	*<0,0001*
Triglicerydy	—1,22	—9,79	8,57	4,02, 13,11	*0,0003*
CRP	0,04	0,02	0,02	—1,25, 1,30	0,98
Kwas moczowy	0,70	—0,34	1,04	0,67; 1,41	*<0,0001*
Kreatynina	0,01	—2,07	2,08	—2,00, 6,20	0,31
ALT	1,05	—3,90	4,92	2,45; 7,39	*0,0002*
AST	0,85	—0,64	1,49	—0,39, 3,37	0,12
eGFR	—0,28	3,10	—3,38	—5,11; -1,65	*0,0002*
Wynik PyrMD [d]	0,07	0,46	—0,38	—1,04, 0,27	0,25
Wynik PyrMD [e]	0,12	0,54	—0,42	—1,10, 0,24	0,21
Ogólny wynik ELQ	6,94	—9,94	16,88	10,86; 22,91	*<0,0001*

Uwaga: W przypadku wyników drugorzędnych skorygowany poziom błędu typu I, uwzględniający wielokrotne testowanie, wynosi 0,05/18 = 0,0028. Wartości p przedstawione kursywą są statystycznie istotne przy skorygowanym poziomie błędu typu I wynoszącym .

[a] Na podstawie testu t dla prób powiązanych (3 miesiące od punktu odniesienia).
[b] Na podstawie modelu GLM ANOVA z powtarzanymi pomiarami: p = 0,007 dla efektów międzyosobniczych.
[c] Na podstawie modelu GLM ANOVA z powtarzanymi pomiarami: p = 0,0273 dla efektów między badanymi.
[d] PyrMD (punkt odniesienia po 6 tygodniach).
[e] PyrMD (12 tygodni – wartość wyjściowa).

poprawę w zakresie kilku wyników drugorzędnych w porównaniu z grupą kontrolną. Co istotne, u uczestników przyjmujących suplement OOPs odnotowano większy spadek wskaźnika masy ciała (różnica średnia: —1,15, p < 0,0001) oraz skurczowego ciśnienia krwi (—7,66 mmHg, p = 0,004). Znaczną poprawę zaobserwowano również w przypadku utlenionego LDL (–5,01, p < 0,0001), trójglicerydów (–8,57, p = 0,0003) oraz kwasu moczowego (–1,04, p < 0,0001), co wskazuje na korzystne zmiany w metabolizmie lipidów i stanach zapalnych. Poprawiła się również czynność wątroby, w szczególności poziom ALT (–4,92, p = 0,0002), natomiast eGFR znacznie wzrósł (+3,38, p = 0,0002), co sugeruje potencjalne korzyści dla nerek. Co istotne, grupa interwencyjna odnotowała znacząco lepsze wyniki w zakresie zmęczenia w skali ELQ (–16,88, p < 0,0001), co podkreśla odczuwalną poprawę jakości życia.

Potencjalne różnice w stosowaniu leków lub przestrzeganiu zaleceń terapeutycznych wśród uczestników mogły mieć wpływ na wyniki metaboliczne lub glikemiczne. Jednak wszyscy uczestnicy zostali poinstruowani, aby kontynuowali dotychczasowe schematy leczenia, i nie zgłoszono żadnych zmian w trakcie badania. Przestrzeganie zaleceń terapeutycznych było wspierane poprzez comiesięczne przypomnienia telefoniczne oraz weryfikację podczas wizyt kontrolnych. Chociaż nie można całkowicie wykluczyć resztkowego czynnika zakłócającego wynikającego z różnic w przestrzeganiu zaleceń, zrównoważone cechy wyjściowe oraz podobna częstotliwość kontaktów kontrolnych między grupami sprawiają, że systematyczne odchylenie związane z lekami jest mało prawdopodobne.

3.3. Różnice w odpowiedzi na leczenie związane z płcią

Przeprowadzono analizy eksploracyjne w celu oceny, czy efekty leczenia różniły się między uczestnikami płci męskiej i żeńskiej. Testy t dla prób niezależnych, porównujące zmiany stężenia glukozy we krwi na czczo (FBG) i HbA1c między grupą interwencyjną a kontrolną w obrębie każdej płci, wykazały statystycznie istotne różnice na korzyść grupy przyjmującej oleokanthal zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Wśród uczestniczek średnie zmiany stężenia FBG i HbA1c różniły się istotnie między ramionami terapeutycznymi (FBG p = 0,013; HbA1c p = 0,0004). Wśród mężczyzn różnice te były również istotne (FBG p < 0,0001; HbA1c p < 0,0001).

Jednak w modelach z powtarzanymi pomiarami, skorygowanych o wyjściowy wskaźnik BMI, płeć oraz wyjściowe wartości każdego z parametrów, wpływ płci nie był statystycznie istotny ani w przypadku FBG (p = 0,499), ani HbA1c (p = 0,56). Wyniki te sugerują, że zarówno mężczyźni, jak i kobiety odnieśli podobne względne korzyści ze stosowania suplementacji oleokanthalem.

4. Dyskusja

Oleokanthal, oleaceina, aglikon oleuropeiny oraz aglikon ligstrosidu to silnie działające sekwoiridoidy występujące w oliwie z oliwek. Te fenole aldehydowe (OOP) są cenione za swoje wyjątkowe właściwości prozdrowotne. Randomizowane badanie kontrolowane OleoMetS dostarcza przekonujących dowodów na skuteczność OOP w poprawie kontroli glikemii oraz szeregu parametrów metabolicznych u pacjentów z zespołem metabolicznym (MetS). Co istotne, profil lipidowy wykazał znaczące korzyści, w tym obniżenie zarówno poziomu utlenionego cholesterolu LDL, jak i całkowitego cholesterolu LDL, a także spadek stężenia trójglicerydów. Wyniki badania OleoMetS zdecydowanie sugerują, że OOP są głównymi składnikami aktywnymi oliwy z oliwek przeciwdziałającymi określonym chorobom, a lipidy odgrywają potencjalnie drugorzędną rolę. Zgodnie z naszą wiedzą jest to pierwsze badanie kliniczne poświęcone metabolicznym skutkom działania oliwy z oliwek o wysokiej zawartości fenoli, naturalnie wzbogaconej w oleokanthal, u osób z zespołem metabolicznym. Chociaż w poprzednich badaniach szerzej analizowano zawartość fenoli w oliwie z oliwek, dane konkretnie wyodrębniające rolę oleokanthalu w tej populacji pozostają ograniczone, co podkreśla nowatorski charakter i znaczenie kliniczne niniejszych wyników.

Postawiliśmy hipotezę, że OOP są głównymi składnikami aktywnymi oliwy z oliwek, a lipidy mogą odgrywać drugorzędną rolę w jej właściwościach przeciwchorobowych. Zgodnie z naszą wiedzą na całym świecie nie przebadano dotąd żadnego suplementu zawierającego czyste OOP. Ta znacząca luka badawcza wynikała z braku opłacalnych metod

ekstrakcja substancji OOP z oliwy z oliwek na dużą skalę [30], co utrudnia ich wprowadzenie na rynek jako suplementów diety lub produktów farmaceutycznych. Aby temu zaradzić, opracowaliśmy szybką i ekonomiczną metodę selektywnej ekstrakcji OOP z oliwy z oliwek. Doprowadziło to do enkapsulacji dostępnego na rynku ekstraktu (Oleoprotect®) w suplemencie diety (Thousand Olives®), umożliwiając przeprowadzenie pierwszego badania klinicznego z wykorzystaniem czystych OOP, oddzielonych od matrycy lipidowej oliwy z oliwek. Badanie to dostarcza nowych informacji na temat ich bioaktywności oraz dostarcza solidnych danych dotyczących ich skuteczności klinicznej w walce z zespołem metabolicznym. Ograniczeniem badania jest brak danych dotyczących konkretnego rodzaju stosowanych leków przeciwcukrzycowych; jednak wszyscy uczestnicy musieli być na stabilnym schemacie leczenia przez co najmniej trzy miesiące przed włączeniem do badania, a podczas trwania badania nie zezwalano na żadne zmiany, co zminimalizowało potencjalne czynniki zakłócające. Biodostępność związków polifenolowych oliwy z oliwek (OOP), zarówno w zastosowanej konkretnej preparacji, jak i w samej oliwie z oliwek, stanowi złożony obszar, w którym dostępność opublikowanych danych dotyczących ludzi jest ograniczona. Przedkliniczne badania na zwierzętach wykazały, że po dożylnym podaniu myszom związki takie jak oleokantal czy oleaceina nie są bezpośrednio wykrywalne w osoczu. W związku z tym przyszłe badania mogą obejmować analizę biomarkerów we krwi lub osoczu – w szczególności związków fenolowych i ich metabolitów – w celu lepszej charakterystyki ekspozycji ogólnoustrojowej i mechanizmu działania OOP. Ponadto w przyszłych badaniach farmakokinetycznych należy również uwzględnić i omówić znaczną zmienność międzyosobniczą w zakresie obecności związków fenolowych i ich metabolitów w moczu, ponieważ stanowi to wyzwanie metodologiczne przy ocenie wchłaniania i metabolizmu. Nasze wcześniejsze badania (Darakjian L i in.) wykazały, że oleokanthal spontanicznie reaguje z aminokwasami osocza, tworząc nowe metabolity, takie jak oleoglicyna, która została wykorzystana jako marker farmakokinetyczny podawania oleokanthalu [30]. Jednak dane dotyczące podawania doustnego u ludzi nie zostały dotychczas opublikowane i są nadal przedmiotem badań. Wstępne wyniki badań naszej grupy wskazują, że u ludzi metabolity powstałe w wyniku reakcji oleokantalu lub oleaceiny z niektórymi aminokwasami osocza (np. glicyną lub cysteiną) osiągają maksymalne stężenia po 30 minutach i są wykrywalne przez okres do 60 minut, podczas gdy oleokanthal lub oleaceina same w sobie nie są wykrywalne w żadnym momencie.

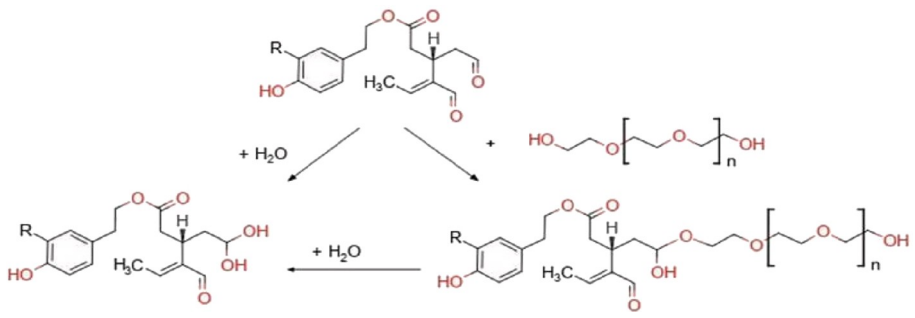
Po przebadaniu ponad 10 000 próbek oliwy z oliwek [31] odkryliśmy odmiany, które w określonych warunkach malaksacji mogą dawać oliwę zawierającą oleokanthal i oleaceinę jako główne składniki fenolowe. Spośród nich odmiana Kalamon wykazuje największą zdolność do wytwarzania oleokanthalu. Inną grecką odmianą zdolną do produkcji oliwy z oliwek bardzo bogatej w aglikony oleuropeiny i ligstrosidu jest odmiana Olympia. Wykorzystując mieszankę tych dwóch rodzajów oliwy z oliwek jako materiał wyjściowy oraz stosując nowo opracowaną procedurę selektywnej ekstrakcji, udało nam się uzyskać ekstrakt zawierający oleokanthal, oleaceinę, aglikon oleuropeiny i aglikon ligstrosidu bez lipidów ani żadnych innych składników oliwy z oliwek. Procedura selektywnej ekstrakcji została wcześniej opisana z wykorzystaniem wody jako medium ekstrakcyjnego [32,33] i opierała się na właściwości aldehydowych sekwoiroidów do reagowania z wodą i przekształcania się w rozpuszczalne w wodzie 1,1-dioly. Jednak rozpuszczalność uwodnionych aldehydów w wodzie jest stosunkowo niska (np. w przypadku oleokantadiolu wynosi 0,2%), co wymaga użycia dużych ilości wody do ekstrakcji i zwiększa ryzyko hydrolizy oraz zepsucia mikrobiologicznego przy zastosowaniu na skalę przemysłową. Aby przezwyciężyć te problemy, opracowaliśmy alternatywną metodę selektywnej ekstrakcji z wykorzystaniem glikolu polietylenowego PEG400. Dzięki PEG oleokanthal i wszystkie inne aldehydy sekwoiridoidowe przekształcają się w pegylowane hemiacetale (rys. 5), które wykazują rozpuszczalność w PEG do 30% w/w, a ponadto ich roztwór pozostaje stabilny przez co najmniej 2 lata w temperaturze pokojowej bez ryzyka zepsucia mikrobiologicznego. Na przykład 1000 kg oliwy z oliwek można selektywnie i skutecznie ekstrahować przy użyciu zaledwie 10 kg PEG (w przeciwieństwie do wody, która wymaga ponad 1000 kg). Roztwór PEG można wykorzystać bezpośrednio do przygotowania preparatu po zmieszaniu z odpowiednimi stałymi substancjami pomocniczymi (np. celulozą) lub, alternatywnie, można go dodatkowo wzbogacić przy użyciu technologii żywic adsorpcyjnych. Pegylowane formy sekoiridoidów są łatwo rozpuszczalne w wodzie. Reagują one ilościowo i spontanicznie z wodą, dając w wyniku odpowiednie 1,1-dioly, które są dokładnie tymi samymi związkami, jakie powstałyby w sokach żołądkowych po spożyciu aldehydowych OOP w postaci oliwy z oliwek.

Innowacyjna metoda selektywnej ekstrakcji na dużą skalę fenoli aldehydowych z oliwy z oliwek (OOP) z wykorzystaniem glikolu polietylenowego 400 (PEG 400) stanowi znaczący postęp w praktycznym wykorzystaniu tych bioaktywnych związków. PEG 400 tworzy z OOP rozpuszczalne w wodzie hemiacetale, co rozwiązuje problemy związane z ekonomiczną produkcją i umożliwia wytworzenie ekstraktu OLEOPROTECT®.

Oleokanthal, będący głównym związkiem o właściwościach przeciwbólowych zawartym w badanym suplemencie diety, jest dobrze znanym ligandem receptora przejściowego potencjału TRPA1, odpowiedzialnym za ostry smak oliwy z oliwek pozyskiwanej z niedojrzałych oliwek. TRPA1 to kanał jonowy występujący w neuronach czuciowych, komórkach beta trzustki oraz różnych tkankach metabolicznych. Jest on aktywowany przez związki o ostrym smaku, takie jak izotiocyjanian allilu (olej musztardowy), aldehyd cynamonowy (cynamon), allicyna (czosnek) oraz czynniki drażniące pochodzące ze środowiska, a także odgrywa rolę w odczuwaniu bólu, stanach zapalnych, stresie oksydacyjnym i regulacji metabolicznej. W szczególności niedawno dokonano przeglądu roli TRPA1 w regulacji stężenia glukozy we krwi [34]. Co ciekawe, TRPA1 ulega ekspresji w komórkach beta trzustki, gdzie jego aktywacja może zwiększać wydzielanie insuliny [35], a ponadto doniesiono, że kilka naturalnych agonistów TRPA1, takich jak cynamon, czosnek i olej musztardowy, obniża poziom glukozy we krwi w modelach zwierzęcych. W szczególności aldehyd cynamonowy (pochodzący z cynamonu), będący agonistą TRPA1, wykazał poprawę wrażliwości na insulinę oraz obniżenie poziomu glukozy we krwi na czczo u myszy z cukrzycą [36]. TRPA1 występuje również w neuronach jelitowych i może regulować uwalnianie peptydu glukagonopodobnego typu 1 (GLP-1) [37], który wpływa na wydzielanie insuliny i uczucie sytości. Ponadto może pośrednio wpływać na produkcję glukozy w wątrobie poprzez szlaki nerwowe.

W szczególności w badaniu OleoMetS suplementacja OOPs (grupa interwencyjna) doprowadziła do statystycznie istotnego obniżenia stężenia glukozy we krwi na czczo oraz HbA1c – kluczowych wskaźników homeostazy glukozowej i istotnych czynników prognostycznych progresji do cukrzycy typu 2 (T2DM). Wyniki te są zgodne z dotychczasowymi badaniami przedklinicznymi i mechanistycznymi, które podkreślają właściwości przeciwzapalne i zwiększające wrażliwość na insulinę związków OOP. Oprócz głównych wyników dotyczących glikemii interwencja wywołała również korzystne zmiany w parametrach drugorzędnych, w tym w BMI, skurczowym ciśnieniu krwi, trójglicerydach, utlenionym LDL i kwasie moczowym, co podkreśla jej szerokie korzyści metaboliczne. Na dalsze ogólnoustrojowe korzyści wynikające ze stosowania suplementu wskazywała poprawa funkcji wątroby (ALT) i nerek (eGFR), a także znaczące zmniejszenie zgłaszanego przez pacjentów zmęczenia. Te wieloaspektowe efekty można prawdopodobnie przypisać synergicznym mechanizmom przeciwutleniającym i przeciwzapalnym sekwoiridoidów obecnych w preparacie. Ponadto przestrzeganie diety śródziemnomorskiej pozostawało spójne w obu grupach badawczych przez cały czas trwania badania, co wyeliminowało potencjalne czynniki zakłócające z przedstawionych wyników.

Projekt badania opierał się na solidnych metodach, w tym rygorystycznej randomizacji, maskowaniu oraz skrupulatnym monitorowaniu przestrzegania protokołu, co łącznie zwiększyło wewnętrzną trafność naszych wyników. Ponadto stopień przestrzegania protokołu interwencji był wysoki, a sama interwencja była dobrze tolerowana – nie odnotowano żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych. Uznajemy jednak, że próba w tym jednoośrodkowym badaniu była niewielka i zalecamy potwierdzenie wyników w ramach większych, wieloośrodkowych badań. Eksploracyjne analizy z uwzględnieniem płci wykazały znaczącą poprawę zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet;



Rys. 5. Reakcja aldehydowych sekoirydoidów z PEG400 lub wodą stosowaną do selektywnej ekstrakcji z oliwy z oliwek.

Jednak po uwzględnieniu wyjściowego wskaźnika BMI i innych zmiennych towarzyszących płeć nie miała istotnego wpływu na odpowiedź na leczenie ani w przypadku stężenia glukozy na czczo, ani HbA1c, co wskazuje na zasadniczo spójny efekt u obu płci. Należy jednak wziąć pod uwagę kilka ograniczeń. Stosunkowo krótki czas trwania badania, wynoszący 12 tygodni, wymaga przeprowadzenia badań długoterminowych w celu potwierdzenia trwałej skuteczności i bezpieczeństwa. Ponadto, choć badanie miało odpowiednią moc statystyczną w odniesieniu do głównych punktów końcowych, analizy podgrup oraz badanie długoterminowych wyników, takich jak zdarzenia sercowo-naczyniowe, wykraczały poza zakres niniejszego badania.

Niedawne badanie krzyżowe z podwójnie ślepą próbą przeprowadzone wśród osób dorosłych z otyłością i stanem przedcukrzycowym, choć krótkotrwałe, wykazało, że zastąpienie popularnych olejów spożywczych oliwą z oliwek extra virgin o wysokiej zawartości oleokantalu przez jeden miesiąc znacząco obniżyło poziom markerów stanu zapalnego (np. interferonu-γ), poprawiło wskaźniki stresu oksydacyjnego oraz doprowadziło do umiarkowanego spadku masy ciała, wskaźnika BMI i stężenia glukozy na czczo. W badaniu tym nie oceniano jednak długoterminowych wskaźników metabolicznych. Natomiast badanie OleoMetS, 12-tygodniowe badanie z grupami równoległymi, w którym zastosowano standaryzowany suplement polifenoli oliwnych, wykazało bardziej kompleksowe korzyści metaboliczne. Obejmowały one znaczną poprawę kontroli glikemii (FBG i HbA1c), profilu lipidowego, ciśnienia krwi oraz funkcji nerek i wątroby u osób z rozpoznanym zespołem metabolicznym.

W ujęciu zbiorczym badania te potwierdzają rolę polifenoli pochodzących z oliwy z oliwek w regulowaniu kluczowych procesów patofizjologicznych związanych ze stanem zapalnym, stresem oksydacyjnym i zaburzeniami metabolicznymi. Badanie OleoMetS poszerza ten zbiór dowodów, wykazując utrzymującą się skuteczność w dłuższym okresie interwencji w populacji o podwyższonym ryzyku i zróżnicowanej klinicznie.

Wyniki te stanowią obiecującą wskazówkę co do potencjalnej przydatności suplementacji polifenoli w diecie jako metody wspomagającej w leczeniu zespołu metabolicznego (MetS). Biorąc pod uwagę rosnącą globalną częstość występowania MetS, opracowywanie bezpiecznych, opłacalnych i pochodzących z naturalnych źródeł metod leczenia wymaga dalszej rygorystycznej oceny klinicznej. Przyszłe badania powinny również skupić się na wyższych dawkach preparatów na bazie oleokantalu, ponieważ wstępne dowody sugerują zależność efektu od dawki.

5. Wnioski

Nasza innowacyjna metoda selektywnej ekstrakcji fenoli aldehydowych z oliwy z oliwek (OOP) na dużą skalę z wykorzystaniem glikolu polietylenowego 400 (PEG 400) wykazała znaczny potencjał do zastosowań komercyjnych i terapeutycznych. Ten biokompatybilny rozpuszczalnik skutecznie przekształca OOP w rozpuszczalne w wodzie hemiacetale, ułatwiając ich ekstrakcję i zwiększając ich stabilność w różnych preparatach. Otrzymany ekstrakt, OLEOPROTECT®, został z powodzeniem wprowadzony do produkcji na skalę wielu ton i wykorzystany w stabilnym preparacie suplementu diety (Thousand Olives®). Badanie kliniczne OleoMetS po raz pierwszy potwierdziło korzyści płynące ze stosowania biofenoli z oliwy z oliwek u ludzi, torując drogę do szerszego wykorzystania OOP w profilaktyce zdrowotnej i zapobieganiu chorobom . Wśród wszystkich uczestników, suplement wykazał doskonałe bezpieczeństwo i tolerancję; w trakcie 12-tygodniowej interwencji nie odnotowano żadnych zdarzeń niepożądanych. Podsumowując, badanie OleoMetS dostarcza pierwszych dowodów klinicznych na to, że suplementacja standaryzowanym ekstraktem polifenoli z oliwy z oliwek, bogatym w oleokanthal, oleaceinę, aglikon oleuropeiny i aglikon ligstrosidu, prowadzi do znaczącej i istotnej klinicznie poprawy stężenia glukozy na czczo oraz HbA1c – naszych głównych punktów końcowych – a także wywiera korzystny wpływ na wskaźnik BMI, ciśnienie krwi, profil lipidowy, czynność wątroby i nerek oraz wskaźniki zmęczenia. Wyniki te bezpośrednio potwierdzają hipotezę, że fenolowe sekwoiridoidy oliwy z oliwek (OOP) są kluczowymi bioaktywnymi składnikami odpowiedzialnymi za korzyści zdrowotne przypisywane oliwie z oliwek extra virgin [38,39].

Pomimo zaobserwowanych silnych i spójnych efektów niniejsze badanie ma pewne ograniczenia. Wielkość próby, choć wystarczająca do wykrycia głównych punktów końcowych, była niewielka i mogła nie odzwierciedlać w pełni zmienności populacyjnej. Czas trwania badania wynoszący 12 tygodni ogranicza możliwość wyciągnięcia wniosków dotyczących długoterminowej skuteczności i bezpieczeństwa. Ponadto większość uczestników regularnie spożywała oliwę z oliwek, co mogło wpłynąć na wyjściową wrażliwość na OOP.

Dlatego też przyszłe badania powinny mieć na celu rekrutację większych i bardziej zróżnicowanych populacji – w tym osób, które dotychczas spożywały oliwę z oliwek w minimalnych ilościach – oraz wydłużenie okresu interwencji powyżej trzech miesięcy, aby ocenić, czy zaobserwowana poprawa parametrów metabolicznych utrzymuje się w czasie. Badania takie pozwoliłyby na lepsze wyjaśnienie zależności dawka–odpowiedź, trwałości oraz mechanizmów leżących u podstaw bioaktywności OOP w zakresie zdrowia metabolicznego.

Wkład autorów

G. Samoutis opracował koncepcję badania, koordynował badanie RCT oraz nadzorował proces uzyskiwania zgód etycznych. TC. Kyriakides brał udział w opracowaniu projektu badania, nadzorował zarządzanie danymi oraz przeprowadził analizę statystyczną. N. Demetriou, E. Poulianiti, G. Samouti i S. Samouti byli odpowiedzialni za ocenę uczestników oraz gromadzenie danych. Panagiotis Diamantakos, Eleni Melliou i Prokopios Magiatis wnieśli znaczący wkład w ekstrakcję i syntezę fenoli z oliwy z oliwek. Wszyscy autorzy przyczynili się do powstania ostatecznej wersji manuskryptu i zatwierdzili ją.

Oświadczenie dotyczące wykorzystania generatywnej sztucznej inteligencji (AI) i technologii wspomaganych przez AI w procesie pisania

Podczas przygotowywania niniejszej pracy autorzy korzystali z ChatGPT w celu poprawy czytelności i języka tekstu. Po użyciu tego narzędzia autorzy dokonali przeglądu i edycji treści zgodnie z potrzebami oraz biorą pełną odpowiedzialność za treść publikacji.

Finansowanie

Badanie zostało sfinansowane przez *World Olive Center for Health* oraz *Fundacji* A*.G. Leventis* za hojne wsparcie i zapewnienie

stypendium oraz projekt „*Botanic Art*", przekazując kapsułki z suplementem diety OOPs oraz kapsułki placebo.

Podziękowania

Badanie to zostało sfinansowane przez World Olive Center for Health oraz Fundację A.G. Leventis, która przyznała również stypendium panu Nicholasowi Demetriou. Serdecznie dziękujemy również firmie Botanic Art za uprzejme dostarczenie suplementu diety OOPs oraz kapsułek placebo wykorzystanych w niniejszym badaniu. Ich wkład miał kluczowe znaczenie dla realizacji badań przedstawionych w niniejszym artykule.

Sponsorzy nie mieli żadnego wpływu na projekt badania, gromadzenie danych, analizę, interpretację ani sporządzenie raportu.

Autorzy oświadczają, że nie występują żadne konflikty interesów. Wszyscy współautorzy zapoznali się z treścią manuskryptu i zatwierdzili ją, nie zgłaszając żadnych interesów finansowych. Czasopismo „Botanic Art" udostępniło dodatek bezpłatnie, ale nie brało udziału w analizie danych, ich interpretacji ani w podjęciu decyzji o opublikowaniu wyników badań.

Bibliografia

[1] Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R i in. Dieta a 15-letni wskaźnik śmiertelności w badaniu siedmiu krajów. Am J Epidemiol 1986;124(6):903–15. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114480.

[2] Donat-Vargas C, Sandoval-Insausti H, Pen˜alvo JL, Moreno Iribas MC, Amiano P, Bes-Rastrollo M i in. Spożycie oliwy z oliwek wiąże się z mniejszym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych i udaru mózgu. Clin Nutr styczeń 2022;41(1): 122–30.

[3] Tsartsou E, Proutsos N, Castanas E, Kampa M. Metaanaliza sieciowa wpływu oliwy z oliwek na metabolizm u ludzi wskazuje na znaczenie spożywania oliwy o umiarkowanej zawartości polifenoli w ramach diety śródziemnomorskiej. Front Nutr 2019;6:6.

[4] Guasch-Ferre M, Liu G, Li Y, Sampson L, Manson JE, Salas-Salvado J i in. Spożycie i ryzyko sercowo-naczyniowe u dorosłych w Stanach Zjednoczonych. J Am Coll Cardiol 2020;75(15):1729–39.

[5] Beauchamp GK, Keast RS, Morel D, Lin J, Pika J, Han Q i in. Fitochemia: działanie podobne do ibuprofenu w oliwie z oliwek extra virgin. Nature 1 września 2005;437(7055): 45–6.

[6] González-Rodríguez M, Ait Edjoudi D, Cordero-Barreal A, Farrag M, Varela-García M, Torrijos-Pulpoñ C i in. Oleokanthal, fenolowy związek przeciwutleniający występujący w oliwie z oliwek extra virgin: kompleksowy przegląd systematyczny jego potencjału w zakresie stanów zapalnych i nowotworów. Antioxidants 2023;12(12):2112.

[7] Huang Y, Guan Q, Zhang Z, Wang P, Li C. Oleaceina: kompleksowy przegląd dotyczący jej ekstrakcji, oczyszczania, wchłaniania, metabolizmu i wpływu na zdrowie. Food Chem 1 lutego 2024;433:137334.

[8] Xu F, Li Y, Zheng M, Xi X, Zhang X, Han C. Właściwości strukturalne, protokoły pozyskiwania i aktywność biologiczna aglikonu oleuropeiny. Front Chem 13 sierpnia 2018;6:239.

[9] Castejoón ML, Montoya T, Alarcón-de-la-Lastra C, Sánchez-Hidalgo M. Potencjalna rola ochronna sekwoiridoidów pochodzących z Olea europaea L. w chorobach nowotworowych, sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych, związanych ze starzeniem się oraz immunologiczno-zapalnych. Antioxidants 10 lutego 2020 r.; 9(2):149.

[10] Panel EFSA ds. Produktów Dietetycznych, Żywienia i Alergii (NDA). Opinia naukowa w sprawie uzasadnienia oświadczeń zdrowotnych dotyczących polifenoli zawartych w oliwkach. EFSA J 2011; 9(4): 2033.

[11] Komisja Europejska. Rozporządzenie (WE) nr 432/2012 ustanawiające wykaz dozwolonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej 2012; L136: 1–40.

[12] Rojas Gil AP, Kodonis I, Ioannidis A, Nomikos T, Dimopoulos I, Kosmidis G i in. Wpływ interwencji dietetycznej z wykorzystaniem oliwy z oliwek o wysokiej zawartości oleokantalu i oleaceiny u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową we wczesnym stadium: pilotażowe badanie z randomizacją. Front Oncol 2022;12:5746. https://doi.org/10.3389/ fonc.2022.05746.

[13] Tsolaki M, Lazarou E, Kozori M, Petridou N, Tabakis I, Lazarou I i in. Randomizowane badanie kliniczne dotyczące greckiej oliwy z oliwek extra virgin o wysokiej zawartości fenoli, pozyskanej z wczesnych zbiorów, w łagodnych zaburzeniach poznawczych: badanie pilotażowe MICOIL. J Alzheimers Dis 2020;78:801–17.

[14] Kaddoumi A, Denney TS Jr, Deshpande G, Robinson JL, Beyers RJ, Redden DT i in. Oliwa z oliwek extra virgin poprawia funkcjonowanie bariery krew-mózg w łagodnych zaburzeniach poznawczych: randomizowane badanie kontrolowane. Nutrients 1 grudnia 2022;14(23):5102.

[15] Katsa ME, Gil AP, Makri EM, Papadogiannis S, Ioannidis A, Kalliostra M i in. Wpływ oliwy z oliwek bogatej w oleokanthal na poobiadowe markery stresu oksydacyjnego u pacjentów z cukrzycą typu 2. Food Nutr Res 2024;68:12235. https://doi.org/10.29219/fnr.v68.12235.

[16] Agrawal K, Melliou E, Li X, Pedersen TL, Wang SC, Magiatis P i in. Oliwa z oliwek extra virgin bogata w oleokanthal wykazuje ostre działanie przeciwpłytkowe u zdrowych mężczyzn w badaniu z randomizacją. J Funct Foods 2017;36:84–93.

[17] Katsa ME, Ketselidi K, Kalliostra M, Ioannidis A, Rojas Gil AP, Diamantakos P i in. Ostre działanie przeciwpłytkowe oliwy z oliwek bogatej w oleokanthal u pacjentów z cukrzycą typu II: badanie posiłkowe. Int J Mol Sci 2024;25(2):908.

[18] Ruiz-García I, Ortíz-Flores R, Badía R, García-Borrego A, García-Fernández M, Lara E i in. Oliwa z oliwek extra virgin o wysokiej zawartości oleokantalu i oleaceiny a stan zapalny i poziom przeciwutleniaczy u osób z otyłością i stanem przedcukrzycowym. Badanie APRIL: randomizowane, kontrolowane badanie krzyżowe. Clin Nutr, sierpień 2023; 42(8):1389–98.

[19] Patti AM, Carruba G, Cicero AFG, Banach M, Nikolic D, Giglio RV i in. Codzienne spożywanie oliwy z oliwek extra virgin o wysokim stężeniu oleokantalu zmniejszyło masę ciała, obwód talii, aktywność transaminazy alaninowej, poziom cytokin zapalnych oraz stopień stłuszczenia wątroby u osób z zespołem metabolicznym: 2-miesięczne badanie interwencyjne. Metabolites, 2 października 2020 r.; 10(10):392.

[20] Sarapis K, George ES, Marx W, Mayr HL, Willcox J, Esmaili T i in. Oliwa z oliwek extra virgin o wysokiej zawartości polifenoli poprawia status antyoksydacyjny u osób dorosłych: badanie z podwójnie ślepą próbą, randomizowane, kontrolowane, krzyżowe (OLIVAUS). Eur J Nutr, marzec 2022; 61(2):1073–86.

[21] Covas MI, Nyysso€nen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, i in., Grupa badawcza EUROLIVE. Wpływ polifenoli zawartych w oliwie z oliwek na czynniki ryzyka chorób serca: badanie randomizowane. Ann Intern Med 5 września 2006; 145(5): 333–41.

[22] Moreno-Luna R, Muñoz-Hernández R, Miranda ML, Costa AF, Jiménez-Jimenez L, Vallejo-Vaz AJ i in. Polifenole zawarte w oliwie z oliwek obniżają ciśnienie krwi i poprawiają funkcję śródbłonka u młodych kobiet z łagodnym nadciśnieniem tętniczym. Am J Hypertens, grudzień 2012; 25(12): 1299–304.

[23] Vidal Damasceno J, Garcez A, Anelo Alves A, Rosa da Mata I, Morelo Dal Bosco S, Garavaglia J. Wpływ codziennego spożycia oliwy z oliwek extra virgin na biomarkery stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego: przegląd systematyczny i metaanaliza. Crit Rev Food Sci Nutr, sierpień 2025; 1:1–17.

[24] Chiriaco M, Tubili C, Bo S, Parillo M, Vetrani C, Mazzotti A i in. Krytyczna ocena kwestionariuszy oceniających przestrzeganie diety śródziemnomorskiej opartych na porcjach. Nutr, Metabol Cardiovasc Dis 2023;74(2):167–75.

[25] Craig CL, Marshall AL, Sjo€stro€m M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE i in. Międzynarodowy kwestionariusz aktywności fizycznej: rzetelność i trafność w 12 krajach. Med Sci Sports Exerc 2003;35(8):1381–95.

[26] Smets EMA, Garssen B, Bonke B, De Haes JCJM. Wielowymiarowy Inwentarz Zmęczenia (MFI) – właściwości psychometryczne narzędzia do oceny zmęczenia. J Psychosom Res 1995;39(5):315–25.

[27] Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Zespół metaboliczny: definicje i kontrowersje. BMC Med 5 maja 2011;9:48. https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-48. PMID: 21542944; PMCID: PMC3115896.

[28] Diamantakos P, Giannara T, Skarkou M, Melliou E, Magiatis P. Wpływ terminu zbiorów i warunków malaksacji na stężenie poszczególnych fenoli w oliwie z oliwek extra virgin związanych z jej właściwościami prozdrowotnymi. Molecules 2020;25(10):2449.

[29] Melliou E, Magiatis P, Diamantakos P, Rigakou A. Metoda otrzymywania sekwoiridoidów oleokanthalowych i wytwarzania odpowiednich preparatów farmaceutycznych. 2020. WO2020165614.

[30] Diamantakos P, Ioannidis K, Papanikolaou C, Tsolakou A, Rigakou A, Melliou E i in. Nowa definicja terminu „oliwa z oliwek o wysokiej zawartości fenoli" oparta na danych statystycznych zebranych na szeroką skalę dotyczących greckich oliw z oliwek analizowanych metodą qNMR. Molecules 2021;26(4):1115.

[31] Darakjian LI, Rigakou A, Brannen A, Qusa MH, Tasiakou N, Diamantakos P i in. Spontaniczna interakcja (—)-oleokantalu z glicyną w płynach biologicznych in vitro i in vivo: nowe markery farmakokinetyczne. ACS Pharmacol Transl Sci 2021;4:179–92.

[32] Papakonstantinou A, Koumarianou P, Rigakou A, Diamantakos P, Frakolaki E, Vassilaki N i in. Nowe, niedrogie metody izolacji głównych sekwoiridoidów z oliwek na dużą skalę oraz systematyczne badanie porównawcze ich działania antyproliferacyjnego/cytotoksycznego na wiele linii komórkowych nowotworowych o różnym pochodzeniu. Int J Mol Sci 2022;24(1):3.

[33] Siddique AB, Ebrahim H, Mohyeldin M, Qusa M, Batarseh Y, Fayyad A i in. Nowatorskie metody ekstrakcji ciecz-ciecz i samemulgacji służące do uproszczonego wyodrębniania związków fenolowych z oliwy z oliwek extra virgin, ze szczególnym uwzględnieniem (—)-oleokantalu i jego doustnego działania przeciwnowotworowego w przypadku raka piersi. PLoS One 2019;14(4):e0214798.

[34] Wu F, Bu S, Wang H. Rola kanałów TRP w chorobach związanych z metabolizmem. Int J Mol Sci 2024;25(2):692.

[35] Cao DS, Zhong L, Hsieh T-h, Abooj M, Bishnoi M, Hughes L i in. Ekspresja kanału TRPA1 (transient receptor potential ankyrin 1) i jego rola w uwalnianiu insuliny z komórek beta trzustki szczura. PLoS One 2012;7(5):e38005.

[36] Frederico MJS, Sulis PM, Pereira LL, Rey D, Aragón M, Silva FRMB. Potencjalny wpływ aldehydu cynamonowego na insulinooporność jest pośredniczony przez homeostazę glukozy i lipidów. Nutrients 2025;17(2):297.

[37] Emery EC, Diakogiannaki E, Gentry C, Psichas A, Habib AM, Bevan S i in. Stymulacja wydzielania GLP-1 za pośrednictwem kanału jonowego TRPA1 aktywowanego przez ligand. Diabetes kwiecień 2015;64(4):1202–10.

[38] Silva-Soto MA, Carrillo-Fernández P, Lancellotti i Saez, Medina-Jiménez E, Mogaburo Alba JF, Catena-Granados N i in. Związki fenolowe zawarte w oliwie z oliwek extra virgin: modulowanie funkcji mitochondriów i ochrona przed chorobami przewlekłymi — przegląd narracyjny. Nutrients, 25 kwietnia 2025 r.; 17(9):1443.

[39] Liva K, Panagiotopoulos AA, Foscolou A, Amerikanou C, Vitali A, Zioulis S i in. Oliwa z oliwek extra virgin o wysokiej zawartości polifenoli a otyłość niezdrowa metabolicznie: przegląd eksploracyjny danych przedklinicznych i badań klinicznych. Clin Pract 7 marca 2025 r.; 15(3):54.