

ΠΡΩΤΟΤΥΠΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μεταβολές της δοκιμασίας ανοχής γλυκόζης σε εφήβους με προδιαβήτη που έλαβαν κρόκο Κοζάνης: Τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή

Ε.Π. Κοτανίδου¹
 Β.-Ρ. Τσινοπούλου¹
 Κ. Μαργαρίτης¹
 Ε. Τσοτρίδου¹
 Σ. Γκίζα¹
 Σ. Ντούμα¹
 Ε. Ευστρατίου¹
 Α. Γαλλή-Τσινοπούλου¹

¹ Β' Παιδιατρική Κλινική ΑΠΘ, ΠΓΝΘ ΑΧΕΠΑ

✉ Υπεύθυνος επικοινωνίας: **Ε.Π. Κοτανίδου**, epkotanidou@auth.gr

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο κρόκος Κοζάνης (*Crocus sativus* L.) αποτελεί άρτυμα από στίγματα του ομώνυμου φυτού της οικογένειας των Ιριδοειδών, με πλείστες αναφερόμενες ευεργετικές ιδιότητες σε πειραματόζωα και ενήλικες με παχυσαρκία και δυσγλυκαιμία. Ο προδιαβήτης στους εφήβους αποτελεί συννοσηρότητα της παχυσαρκίας και πολλαπλασιαστικό παράγοντα του φορτίου της νόσου. Τα διαθέσιμα θεραπευτικά μέσα για τη διαχείρισή του σε εφήβους είναι περιορισμένα. Σκοπό της παρούσας κλινικής δοκιμής αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης της από του στόματος χορήγησης κρόκου Κοζάνης στη γλυκαιμική κατάσταση εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη.

Υλικό – Μέθοδοι: Εβδομήντα τέσσερις έφηβοι με παχυσαρκία και προδιαβήτη τυχαιοποιήθηκαν σε μια διπλά τυφλή ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή τριών σκελών και έλαβαν είτε διάλυμα κρόκου Κοζάνης (n = 25, 60 mg/ημέρα), είτε διάλυμα μετφορμίνης (n = 25, 1.000 mg/ημέρα), είτε διάλυμα εικονικού φαρμάκου (n = 24) για συνεχές διάστημα δώδεκα εβδομάδων μαζί με διατροφική συμβουλευτική από κλινικό διαιτολόγο. Η γλυκαιμική κατάσταση των συμμετεχόντων μελετήθηκε προ και μετά την παρέμβαση με τον προσδιορισμό της HbA1c, τη διενέργεια δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης (OGTT), τον προσδιορισμό των επιπέδων ινσουλίνης ορού κατά την OGTT και τον υπολογισμό του δείκτη HOMA-IR.

Αποτελέσματα: Στο τέλος της παρέμβασης, καταγράφηκε σημαντικό όφελος για τους εφήβους που έλαβαν μετφορμίνη με μείωση των επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας, των επιπέδων ινσουλίνης κατά την OGTT και βελτίωση του HOMA-IR. Η χορήγηση κρόκου Κοζάνης δεν επέφερε καμία σημαντική μεταβολή στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας, HbA1c και HOMA-IR. Η χορήγηση κρόκου Κοζάνης επέφερε σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης στους χρόνους 90 min (p < 0,001) και 120 min (p: 0,025) της OGTT με συνοδό στατιστική τάση μείωσης και των επιπέδων ινσουλίνης στους ίδιους χρόνους (p-value_{90min}: 0,049, p-value_{120min}: 0,067). Μετά από 12 εβδομάδες συμμετοχής, το 44% του συνόλου των συμμετεχόντων (n = 33/75) δεν πληρούσε πλέον τα διαγνωστικά κριτήρια του προδιαβήτη, χωρίς διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων.

Συμπεράσματα: Ο κρόκος Κοζάνης, σε συνδυασμό με την υγιεινοδιαιτητική παρέμβαση, προσφέρει σημαντικό όφελος στη γλυκαιμική κατάσταση εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη.

Λέξεις-κλειδιά: έφηβος, παχυσαρκία, προδιαβήτης, καμπύλη γλυκόζης, κρόκος Κοζάνης, σαφράν

Εισαγωγή

Η παχυσαρκία αποτελεί κείμερο ζήτημα δημόσιας υγείας για τον ανεπτυγμένο κόσμο. Το νόσημα σχετίζεται αιτιολογικά με την επιδημιολογία της νοσηρότητας αλλά και της θνητότητας από καρδιαγγειακά συμβάματα, σακχαρώδη διαβήτη, εγκεφαλικό επεισόδιο και συγκεκριμένες μορφές κακοήθειας.¹⁻⁴ Κατά την εφηβική ηλικία, η επιδημική αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας οδήγησε στην επίσης ταχεία αύξηση συννοσηροτήτων της.⁵ Το μεταβολικό στάδιο μεταξύ της φυσιολογικής ομοιόστασης της γλυκόζης και του εμφανούς σακχαρώδους διαβήτη, ο προδιαβήτης, αποτελεί μία ασυμπτωματική μεταβολική εκτροπή ολοένα και πιο κοινή στον παχύσαρκο εφηβικό πληθυσμό.⁶ Ένα ποσοστό αυτών των εφήβων με προδιαβήτη παρουσιάζει προοδευτική μείωση των β-παγκρεατικών κυττάρων και αναπτύσσει εμφανή Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) σε μικρό χρονικό διάστημα μετά την ενηλικίωση ή ακόμη και κατά την όψιμη εφηβεία.⁶ Ως εκ τούτου η περίοδος της εφηβείας ως γέφυρα μετάβασης της παιδικής ζωής στην ενηλικίωση, συνιστά «παράθυρο» ευκαιρίας όχι μόνο για τη θεραπεία της νόσου και των συννοσηροτήτων αλλά κυρίως για την εμπέδωση τρόπου διαβίωσης που προάγει την υγεία έναντι των νοσημάτων φθοράς.⁷

Τα σκευάσματα φυτικής προέλευσης (nutraceuticals) συγκαταλέγονται στις πιο κοινά εφαρμοζόμενες μεθόδους για τη διαχείριση της παχυσαρκίας (anti-obesity medicinal plants) σε διεθνή κλίμακα.⁸ Παρά την υψηλή τους δημοφιλία, απαιτείται τεκμηρίωση κάθε πιθανού οφέλους με τις αρχές της πειραματικής επιστήμης. Οι θεραπευτικές επιλογές για τη διαχείριση του προδιαβήτη σε έδαφος παχυσαρκίας μεταξύ εφήβων είναι λιγοστές, με σημαντική ανάγκη για νέες, ασφαλείς, αποτελεσματικές θεραπευτικές εναλλακτικές για την εφηβική περίοδο. Τα αποξηραμένα στίγματα του φυτού *Crocus sativus* L. της οικογένειας Iridaceae (κρόκος) συγκαταλέγονται στα ισχυρώς φαρμακευτικά φυτά.⁹ Αποτελεί μπαχαρικό που καλλιεργείται τα τελευταία 3.000 χρόνια και οφείλει το όνομά του στον μυθικό φίλο του θεού Ερμή, Κρόκο.¹⁰

Ο κρόκος που καλλιεργείται στον νομό Κοζάνης (κρόκος Κοζάνης, Kozani Greek saffron) αποτελεί επίπονη καλλιέργεια υψηλής ποιότητας αποδίδοντας κρόκο με περισσότερες από 150 πτητικές και μη πτητικές ενώσεις.^{11,12}

Πειραματικά δεδομένα σε κλινικές δοκιμές ενηλίκων επικαλούνται σημαντικά οφέλη σε ασθενείς με παχυσαρκία και προδιαβήτη, ΣΔτ2 ή δυσλιπιδαιμία μετά την από του στόματος χορήγηση κρόκου.¹³⁻²² Πρόσφατα δεδομένα από την ερευνητική μας ομάδα κατέγραψαν μικρό αλλά σημαντικό όφελος στους ανθρωπομετρικούς δείκτες σε εφήβους με παχυσαρκία που έλαβαν από του στόματος κρόκο Κοζάνης για 12 εβδομάδες.²³

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή που είχε ως στόχο να μελετήσει πιθανή επίδραση της χορήγησης πόσιμου διαλύματος κρόκου Κοζάνης στον γλυκαιμικό έλεγχο εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη.

Υλικό – Μέθοδοι

Σχεδιασμός της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε και πραγματοποιήθηκε ως τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή, με αναλογία κατανομής 1:1:1 (three arms) στη Μονάδα Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού της Β' Παιδιατρικής Κλινικής, του τμήματος Ιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ. Στη μελέτη συμμετείχαν έφηβοι με παχυσαρκία και προδιαβήτη, κατά την περίοδο από Μάιο 2021 έως Ιανουάριο 2023. Ελήφθη γραπτή ενημερωμένη συγκατάθεση από όλους τους γονείς και κηδεμόνες, μετά από συγκατάθεση και προθυμία των εφήβων να συμμετάσχουν στη μελέτη.

Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι και τις αναθεωρήσεις της και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Τμήματος Ιατρικής

της Σχολής Επιστημών Υγείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (κωδικός έγκρισης 6230/29.07.2020). Η μελέτη επίσης καταχωρήθηκε στο Μητρώο Κλινικών Δοκιμών της Εθνικής Ιατρικής Βιβλιοθήκης των ΗΠΑ (Registry of Clinical Trials of the US National Library of Medicine) με αναγνωριστικό αριθμό NCT05572749.

Κριτήρια ένταξης, αποκλεισμού και ορισμοί

Τα κριτήρια για τη διάγνωση της παχυσαρκίας βασίστηκαν στις κατευθυντήριες οδηγίες κλινικής πρακτικής της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας και της Αμερικανικής Ακαδημίας Παιδιατρικής, ως Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) $\geq 95^{\text{η}}$ εκατοστιαία θέση για την ηλικία και το φύλο, σύμφωνα με τα διαγράμματα αναφοράς του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (Center for Disease Control and Prevention, CDC).^{24,25} Τα κριτήρια διάγνωσης του προδιαβήτη σε εφήβους που εφαρμόστηκαν ήταν σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες για τη φροντίδα του διαβήτη σε εφήβους, της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας (American Diabetes Association, Adolescent Diabetes Standards of Care Guideline), με βάση την παρουσία υπεργλυκαιμίας νηστείας (YN, impaired fasting glucose, IFG) ή/και διαταραγμένης ανοχής γλυκόζης (ΔΑΓ, impaired glucose tolerance, IGT) ή/και επιπέδων γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) μεταξύ 5,7-6,4%.²⁶ Για τη διάγνωση των διαταραχών του μεταβολισμού της γλυκόζης εφαρμόστηκαν οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας σύμφωνα με τις οποίες η YN (IFG) διαγιγνώσκεται επί γλυκόζης νηστείας 100-125 mg/dL και η ΔΑΓ (IGT) επί επιπέδων γλυκόζης στον χρόνο των 120 λεπτών της δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης (oral glucose tolerance test, OGTT) μεταξύ 140-199 mg/dL.²⁶ Σύμφωνα με τα κριτήρια εισόδου της παρούσας μελέτης, συμμετείχαν σε αυτήν έφηβοι Καυκάσιας φυλής, ηλικίας 10-18 ετών, με παχυσαρκία και προδιαβήτη σύμφωνα με τα προαναφερθέντα κριτήρια.

Τα κριτήρια αποκλεισμού από την παρούσα μελέτη ορίστηκαν ως εξής: έφηβοι φυλής άλλης της Καυκάσιας, ιστορικό λήψης οποιασδήποτε αντιδιαβητικής αγωγής, παρουσία άλλου χρόνιου νοσήματος εκτός της παχυσαρκίας, χορήγηση οποιουδήποτε φαρμάκου σε χρόνια λήψη κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους προ της έναρξης της μελέτης, λήψη οποιουδή-

ποτε συμπληρώματος διατροφής κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους προ της έναρξης της μελέτης, προηγούμενη λήψη κρόκου Κοζάνης με συχνότητα περισσότερες από μία φορές ανά 90 ημέρες κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους προ της έναρξης της μελέτης και γνωστή αλλεργία στον κρόκο Κοζάνης ή σε κρόκο/σαφράν άλλης προέλευσης.

Υπολογισμός μεγέθους δείγματος

Η εκτίμηση του κατάλληλου μεγέθους του πληθυσμού μελέτης (power analysis) έλαβε χώρα με λογισμικό ανάλυσης ισχύος δείγματος (ClinCalc.com, διαθέσιμο στο <https://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>). Ο υπολογισμός μεγέθους δείγματος βασίστηκε σε προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα διακύμανσης των μεταβολών του ΔΜΣ μετά τη λήψη κρόκου σε ενήλικες που ζουν με παχυσαρκία (μέση τιμή₁ \pm τυπική απόκλιση₁ = 29,46 \pm 70,84, μέση τιμή₂ \pm τυπική απόκλιση₂ = 30,81 \pm 0,91), καθώς η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που αφορά στην επίδραση της χορήγησης κρόκου σε εφήβους που ζουν με παχυσαρκία.^{13,27} Για την επίτευξη ισχύος (1-β) 0,80 (α = 0,05) υπολογίστηκε η ανάγκη στρατολόγησης τουλάχιστον 12 συμμετεχόντων ανά ομάδα παρέμβασης (συνολικός πληθυσμός, n = 36). Ο υπολογισθείς αριθμός μεγέθους δείγματος αυξήθηκε σε 25 συμμετέχοντες ανά ομάδα μελέτης (συνολικός πληθυσμός 75 ασθενείς) προκειμένου να ληφθεί υπόψη πιθανή απώλεια της παρακολούθησης (lost-in-follow-up ή drop-out ασθενείς) κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Ανθρωπομετρία και κλινική αξιολόγηση συμμετεχόντων

Μετά από ολονύκτια νηστεία, όλοι οι συμμετέχοντες έφηβοι υποβλήθηκαν σε από του στόματος δοκιμασία ανοχής γλυκόζης.²⁶ Όσοι εξ αυτών πληρούσαν τα διαγνωστικά κριτήρια του προδιαβήτη υποβλήθηκαν σε περαιτέρω έλεγχο των κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού στη μελέτη και προσκλήθηκαν να συμμετάσχουν σε αυτήν μετά από τυχαιοποίηση. Τόσο οι έφηβοι, όσο και οι κηδεμόνες, οι γονείς τους και οι ερευνητές αξιολόγησης των παραμέτρων της παρούσας μελέτης ήταν τυφλοί ως προς την κατανομή των συμμετεχόντων ασθενών στις τρεις ομάδες παρέμβασης κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Οι συμμετέχοντες έφηβοι τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε κρόκο Κοζάνης, είτε μετφορμίνη, είτε ειδικό φάρμακο σε αναλογία 1:1:1, χρησιμοποιώντας

αριθμοσειρά τυχαίων αριθμών που δημιουργήθηκε με τη χρήση λογισμικού γέννησης τυχαίων αριθμών για 75 συμμετέχοντες με ομοιόμορφη κατανομή τους για τυχαίωση σε 3 ομάδες (ομάδα κρόκου Κοζάνης, ομάδα μετφορμίνης και ομάδα placebo). Η διαδικασία τυχαίωσης και κατανομής πραγματοποιήθηκαν από τους ερευνητές της δοκιμής (ΕΠΚ, ΑΓΤ) που δεν συμμετείχαν στη διαδικασία παράδοσης του υλικού ή μέτρησης των παραμέτρων. Η κατανομή των ασθενών στους τρεις βραχίονες (ομάδες) μελέτης διατηρήθηκε σε σφραγισμένους, αδιαφανείς φακέλους, για τη διασφάλιση της απόκρυψης της κατανομής, στο έντυπο αρχείο κάθε συμμετέχοντα, μέχρι το σημείο της ανάλυσης των δεδομένων. Σε όλους τους συμμετέχοντες προσφέρθηκε μια 20λεπτη συμβουλευτική με τον ίδιο κλινικό διαιτολόγο κατά την ημέρα της τυχαίωσης.

Για δώδεκα συνεχείς εβδομάδες, οι συμμετέχοντες στις τρεις ομάδες μελέτης έλαβαν την παρέμβαση στην οποία τυχαιοποιήθηκαν από τους ερευνητές (ΚΜ, ΕΤ, ΣΓ, ΣΝ): είτε πόσιμο διάλυμα κρόκου Κοζάνης, είτε πόσιμο διάλυμα μετφορμίνης, είτε πόσιμο διάλυμα εικονικού φαρμάκου. Οι έφηβοι που τυχαιοποιήθηκαν στην ομάδα παρέμβασης με κρόκο Κοζάνης έλαβαν 60 mg κρόκου Κοζάνης ημερησίως. Οι συμμετέχοντες που κατανεμήθηκαν στην ομάδα παρέμβασης με μετφορμίνη έλαβαν από του στόματος 1.000 mg μετφορμίνης ημερησίως. Οι έφηβοι που τυχαιοποιήθηκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου έλαβαν οδηγίες για 10 mL πόσιμο διαλύματος εικονικού φαρμάκου ημερησίως. Το ημερήσιο δοσολογικό σχήμα κρόκου Κοζάνης που εφαρμόστηκε στο παρόν πρωτόκολλο βασίστηκε στα δοσολογικά σχήματα δημοσιευμένων κλινικών δοκιμών που διερεύνησαν την επίδραση του κρόκου (*Crocus sativus* L.) σε παιδιατρικό και εφηβικό πληθυσμό σε άλλες κλινικές καταστάσεις πλην της παχυσαρκίας και του προδιαβήτη.^{28,29} Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA), ο κρόκος θεωρείται ασφαλής ουσία από το 2012, ενώ ημερήσιες δόσεις έως και 1,5 g είναι ασφαλείς σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO).^{11,12}

Τα σωματομετρικά δεδομένα των συμμετεχόντων, βάρος και ύψος, μετρήθηκαν από τους ερευνητές που ήταν τυφλοί κατά την τυχαίωση (ΕΠΚ, ΒΡΤ) με τη χρήση των ίδιων εργαλείων μέτρησης (SECA 711, Hamburg, Germany· Harpenden stadiometer, Veeder-Root, Elizabethtown, NC, USA). Οι τιμές του z-score για το

βάρος, το ύψος και τον ΔΜΣ για την ηλικία και το φύλο υπολογίστηκαν σε δύο στιγμιότυπα, στην αρχή και το πέρας της μελέτης για όλους τους συμμετέχοντες με βάση δεδομένα αναφοράς τα διαγράμματα ανάπτυξης του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (CDC). Η περίμετρος της μέσης μετρήθηκε με ακρίβεια 1 mm με μη ελαστική μεζούρα, μετά από εκπνοή στο επίπεδο του ομφαλού (μέθοδος WHO). Όλοι οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε πλήρη φυσική εξέταση και η αρτηριακή τους πίεση μετρήθηκε τρεις φορές, με διαστήματα 1 λεπτού, σε καθιστή θέση μετά από 5 λεπτά ανάπαυσης, με ψηφιακό πιεσόμετρο (DINAMAP, Johnson & Johnson, Medical INC, Arlington, TX, USA) και καταγράφηκε ο μέσος όρος των τριών διαφορετικών μετρήσεων ως τιμή της αρτηριακής πίεσης.

Εργαστηριακός έλεγχος

Μετά από ολονύκτια νηστεία, ελήφθη δείγμα αίματος από όλους τους συμμετέχοντες εφήβους στην έναρξη και το πέρας της μελέτης. Το σύνολο των συμμετεχόντων υποβλήθηκε μετά από ολονύκτια νηστεία σε δοκιμασία από του στόματος ανοχής γλυκόζης σε δύο χρονικά στιγμιότυπα: αρχικά κατά την έναρξη της μελέτης καθώς και δευτερευόντως μετά τη συμπλήρωση των δώδεκα εβδομάδων παρέμβασης. Πρωτεύον καταληκτικό σημείο της παρούσας ανάλυσης ορίστηκε η διακύμανση των επιπέδων γλυκόζης κατά τη δοκιμασία από του στόματος ανοχής της, προ και μετά από 12 εβδομάδες παρέμβασης. Τα επίπεδα της γλυκόζης αίματος αναλύθηκαν ευθύς παρά την κλίνη (bed-side), με αυτόματο αναλυτή (GlucoMen Areo 2k, Menarini Diagnostics, Florence, Italy). Ως δευτερεύον καταληκτικό σημείο της παρούσας ανάλυσης ορίστηκε η διακύμανση των επιπέδων ινσουλίνης προ και μετά από 12 εβδομάδες παρέμβασης. Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης προσδιορίστηκαν με ανοσοδοκιμασία ADVIA Centaur XPT (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Germany). Επιπλέον δευτερεύον καταληκτικό σημείο ήταν η μεταβολή των επιπέδων HbA1c μετά την παρέμβαση και ως εκ τούτου τα επίπεδα HbA1c μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο HPLC σε αναλυτή Menarini ARKRAY ADAMS™ A1C HA-8180 (Menarini Diagnostics, Florence, Italy). Οι βιοχημικές παράμετροι ορού αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας τυπικές μεθόδους σε σύστημα κλινικής χημείας ARCHITECTc 16.000 (Abbott, Abbott Park, IL, USA). Τέλος, αξιολογήθηκε ως δευτερεύον καταληκτικό σημείο και το μοντέλο ομοιόστασης για την αντίσταση

στην ινσουλίνη (HOMA-IR) το οποίο υπολογίστηκε με τον ακόλουθο τύπο: γλυκόζη νηστείας (mmol/L) × ινσουλίνη νηστείας (mIU/L)/22,5, πριν και μετά από 12 εβδομάδες παρέμβασης.³⁰

Παρασκευή του διαλύματος κρόκου Κοζάνης (*Crocus sativus L.*)

Για την εκτέλεση της παρούσας μελέτης παρασκευάστηκε πόσιμο υδατικό διάλυμα κρόκου Κοζάνης σε μεγάλη κλίμακα από τα φαρμακευτικά εργαστήρια της Uni-Pharma Kleon Tsetis Pharmaceutical Laboratories SA, μέλος του Ομίλου Φαρμακευτικών Επιχειρήσεων Τσέτη. Ως δραστικό συστατικό του υδατικού διαλύματος του κρόκου, χρησιμοποιήθηκε σκόνη στιγμάτων κρόκου Κοζάνης, η οποία παραχωρήθηκε από τον ομώνυμο Αναγκαστικό Συνεταιρισμό Κροκοπαραγωγών Κοζάνης. Το παρασκεύασμα αποτελούνταν από δύο διαλύτες, ένα συντηρητικό (0,3% β/β), έναν παράγοντα αύξησης/εναιώρησης του ιξώδους, ενισχυτικό γεύσης, χρωστική και σκόνη στιγμάτων κρόκου Κοζάνης. Τα διαλύματα συσκευάστηκαν σε πανομοιότυπα γυάλινα φιαλίδια κεχριμπαρένιου χρώματος χωρητικότητας 150 ml έκαστο.

Η παραγωγική διαδικασία που ακολουθήθηκε αποτελούνταν από διαδοχικά βήματα. Ο πρώτος διαλύτης προστέθηκε σε μια δεξαμενή ανοξείδωτου χάλυβα 100 λίτρων και αφέθηκε υπό ανάδευση στις 200 rpm για 5 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια προστέθηκαν ενισχυτικά γεύσης και συντηρητικό και αναδεύτηκαν μέχρι να διαλυθούν πλήρως. Στο επόμενο βήμα προστέθηκε ο δεύτερος διαλύτης και ο παράγοντας εναιώρησης, ο οποίος αφέθηκε υπό ανάδευση μέχρι την πλήρη διάλυση, για περίπου 4 ώρες. Στη συνέχεια προστέθηκε στο διάλυμα κρόκος Κοζάνης ο οποίος και αναδεύτηκε μέχρις ότου να παραχθεί ένα ομογενοποιημένο εναιώρημα. Στο εικονικό φάρμακο, αντί για κρόκο Κοζάνης, προστέθηκαν χρωστικές ουσίες για την προσομοίωση του πορτοκαλοκόκκινου χρώματος του εναιωρήματος του κρόκου. Τελικό βήμα της διαδικασίας και στα δύο υγρά παρασκευάσματα ήταν η ρύθμιση του pH του διαλύματος στο 4,5 και η αύξηση του τελικού όγκου στα 50 λίτρα με την προσθήκη του υπόλοιπου διαλύτη. Τα παρασκευάσματα μεταγγίστηκαν στις γυάλινες φιάλες με αυτοματοποιημένο μηχάνημα εμφιάλωσης, πώματος και ετικετοποίησης. Η εμφάνιση του πόσιμου διαλύματος εικονικού φαρμάκου (συμπεριλαμβανομένου του χρώματος, της δέσμης, της οσμής) ήταν όμοια με αυτή του διαλύματος με κρόκο Κοζάνης.

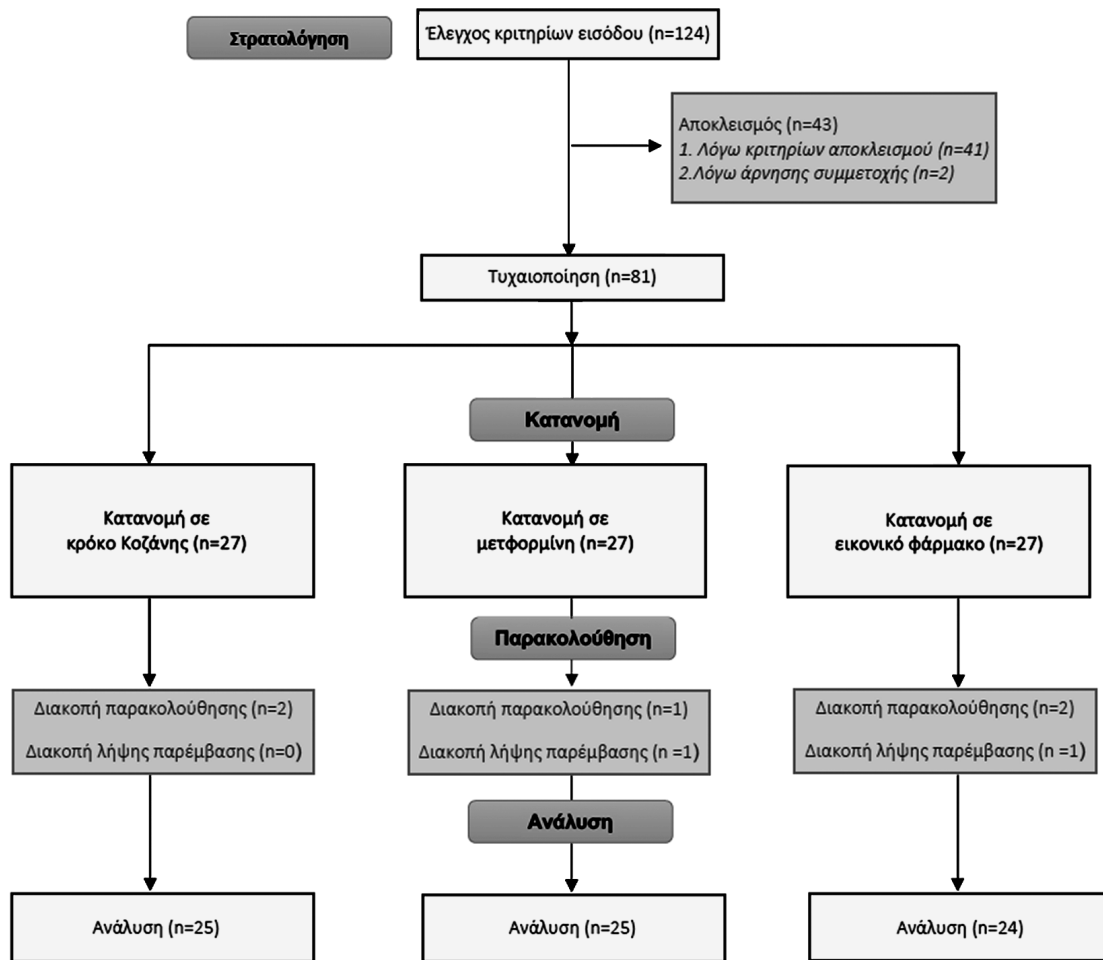
Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο IBM SPSS v24.0.0.2. Η δοκιμασία Shapiro-Wilk εφαρμόστηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας της κατανομής των συνεχών ποσοτικών μεταβλητών. Τα δεδομένα για τις συνεχείς ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (standard deviation, SD). Τα δεδομένα για τις διχότομες μεταβλητές εκφράστηκαν ως απόλυτοι αριθμοί (ποσοστό). Μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) ή το μη παραμετρικό ανάλογό της, δοκιμασία Kruskal-Wallis, εφαρμόστηκαν για να εξεταστούν οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στα συνεχή δεδομένα. Η δοκιμασία χ^2 χρησιμοποιήθηκε για να εξετάσει τις διαφορές στη συχνότητα των διχοτόμων δεδομένων. Οι διαφορές μετά την παρέμβαση μεταξύ των ομάδων μελέτης εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας μοντέλα ANCOVA μετά από προσαρμογή για τους συγχυτικούς παράγοντες ηλικία και φύλο. Δοκιμασίες paired t-test, ή το μη παραμετρικό ανάλογό της Wilcoxon signed-rank test, χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών πριν και μετά την παρέμβαση σε κάθε ομάδα. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε στο 5%.

Αποτελέσματα

Βασικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων

Από τους 124 εφήβους που εξετάστηκαν, οι 81 εξ αυτών πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου για να συμμετάσχουν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε κρόκο Κοζάνης, είτε μετφορμίνη, είτε εικονικό φάρμακο. Συνολικά, 74 έφηβοι (25 στην ομάδα του κρόκου Κοζάνης, 25 στην ομάδα της μετφορμίνης και 24 στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου) ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο μελέτης, όπως φαίνεται με λεπτομέρεια στην Εικόνα 1, ενώ επτά (7) συνολικά έφηβοι αποχώρησαν από τη μελέτη [δύο (2) έφηβοι από την ομάδα κρόκου Κοζάνης, δύο (2) έφηβοι από την ομάδα της μετφορμίνης και τρεις (3) έφηβοι από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου] λόγω αδυναμίας παρακολούθησης ή απροθυμίας παραμονής στη μελέτη. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης δεν αναφέρθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες ή ανεπιθύμητα συμβάματα από τους εφήβους ή τους γονείς και κηδεμόνες τους σε καμία ομάδα. Τα βασικά δημογραφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.



Εικόνα 1. Διάγραμμα ροής (flow chart) της μελέτης.

Όλοι οι ασθενείς που εντάχθηκαν στην παρούσα μελέτη παρουσίαζαν τιμή ΔΜΣ άνω της κατωφλικής τιμής ορισμού της παχυσαρκίας για την ηλικία και το φύλο, κατά την International Obesity Task Force.³¹ Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στα δημογραφικά, κλινικά ή βιοχημικά δεδομένα των συμμετεχόντων κατά την έναρξη της μελέτης. Οι μεταβολές των σωματομετρικών δεδομένων των ασθενών του παρόντος πρωτοκόλλου παρατίθενται με λεπτομέρεια σε προγενέστερη δημοσίευση όπου αναδεικνύεται πτωχό αλλά στατιστικά σημαντικό όφελος μετά τη λήψη κρόκου Κοζάνης στα επίπεδα του z-score του ΔΜΣ ($2,04 \pm 0,31$ vs $1,90 \pm 0,33$, mean difference $-0,14 \pm 0,13$, $p < 0,001$) εφήβων με παχυσαρκία που έλαβαν για 12 εβδομάδες κρόκο Κοζάνης.²³ Είναι αξιοσημείωτο ότι η βελτίωση των σωματομετρικών δεδομένων των εφήβων που έλαβαν μετφορμίνη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη συγκριτικά με

αυτή των εφήβων που έλαβαν κρόκο Κοζάνης, σε όλες τις μετρούμενες μεταβλητές (βάρους, ΔΜΣ, περίμετρος μέσης).²³

Γλυκαιμικό προφίλ συμμετεχόντων πριν και μετά την παρέμβαση

Κατά την έναρξη της μελέτης, το 77% ($n = 57/74$) του συνόλου του πληθυσμού της μελέτης παρουσίαζε υπεργλυκαιμία νηστείας (YN, IFG) και το 32,4% ($n = 24/74$) του πληθυσμού μελέτης διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης (ΔΑΓ, IGT). Η κατανομή της YN (IFG) και της ΔΑΓ (IGT) στις τρεις ομάδες μελέτης δεν διέφερε κατά την έναρξη της μελέτης και την τυχαιοποίηση των ασθενών στους τρεις βραχίονες (Πίνακας 2). Είναι αξιοσημείωτο ότι μετά την πάροδο των 12 εβδομάδων της παρούσας μελέτης και κατά τη διενέργεια της επαναληπτικής δοκιμασίας OGTT, το 44% του συνόλου των εφήβων συμμετεχόντων ($n = 33/75$)

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης στις τρεις ομάδες παρέμβασης.

Ομάδα μελέτης				
	Κρόκος Κοζάνης (n = 25)	Μετφορμίνη (n = 25)	Εικονικό φάρμακο (n = 24)	p-value
Φύλο (αγόρι/κορίτσι)	12/13	11/13	11/13	0,841
Ηλικία (έτη)	12,32 ± 1,43	12,59 ± 1,44	12,27 ± 1,87	0,626
Ύψος (cm)	159,60 ± 10,94	159,73 ± 10,04	156,93 ± 14,97	0,386
Ύψος z-score	1,00 ± 1,37	0,89 ± 0,80	0,86 ± 1,72	0,802
Βάρος (kg)	73,43 ± 15,28	76,31 ± 12,27	74,71 ± 24,7	0,431
Βάρος z-score	2,16 ± 0,49	2,23 ± 0,43	2,18 ± 0,73	0,545
ΔΜΣ	28,62 ± 3,47	29,78 ± 3,39	29,72 ± 5,83	0,422
ΔΜΣ z-score	2,04 ± 0,31	2,07 ± 0,30	2,07 ± 0,38	0,802
ΠΜ (cm)	95,27 ± 9,07	96,38 ± 7,12	95,05 ± 4,13	0,561
ΣΑΠ (mmHg)	116,21 ± 9,73	119,44 ± 10,46	112,96 ± 10,43	0,128
ΔΑΠ (mmHg)	69,00 ± 10,81	73,72 ± 9,51	72,58 ± 9,42	0,237

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος, ΠΜ: Περίμετρος Μέσης, ΣΑΠ: Συστολική Αρτηριακή Πίεση, ΔΑΠ: Διαστολική αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 2. Συχνότητα προδιαβήτη πριν και μετά την παρέμβαση στις τρεις ομάδες της μελέτης.

Ομάδα μελέτης					
		Κρόκος Κοζάνης (n = 25)	Μετφορμίνη (n = 25)	Εικονικό φάρμακο (n = 24)	p-value**
Προδιαβήτη (ΥΝ και/ή ΔΑΓ) (%)	Πριν	25 (100%)	25 (100%)	24 (100%)	1
	Μετά	15 (60%)	12 (48%)	15 (62,5%)	0,546
ΥΝ (IFG) (%)	Πριν	19 (76%)	18 (72%)	20 (83,3%)	0,634
	Μετά	13 (52%)	10 (40%)	10 (41,7%)	0,653
ΔΑΓ (IGT) (%)	Πριν	7 (29,2%)	9 (36%)	8 (33,3%)	0,877
	Μετά	5 (20,8%)	4 (16%)	8 (33,3%)	0,336

ΥΝ: Υπεργλυκαιμία Νηστείας – Impaired fasting glucose (IFG), ΔΑΓ: Διαταραγμένη Ανοχή Γλυκόζης – Impaired Glucose Tolerance (IGT).

*Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράζονται ως συχνότητα (%).

**Σύγκριση p-value της κατανομής της κατηγορικής μεταβλητής μεταξύ των ομάδων με Pearson chi-square test.

δεν πληρούσε πλέον τα διαγνωστικά κριτήρια του προδιαβήτη. Ωστόσο, καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη συχνότητα διάγνωσης προδιαβήτη στο πέρας της κλινικής δοκιμής, μεταξύ των τριών παρεμβάσεων που μελετήθηκαν [συχνότητα προδιαβήτη στο πέρας της μελέτης: ομάδα κρόκου Κοζάνης: 15/25 (60%) vs ομάδα μετφορμίνης: 12/25 (48%) vs

ομάδα εικονικού φαρμάκου: 15/24 (62,5%), p: 0,546] (Πίνακας 2).

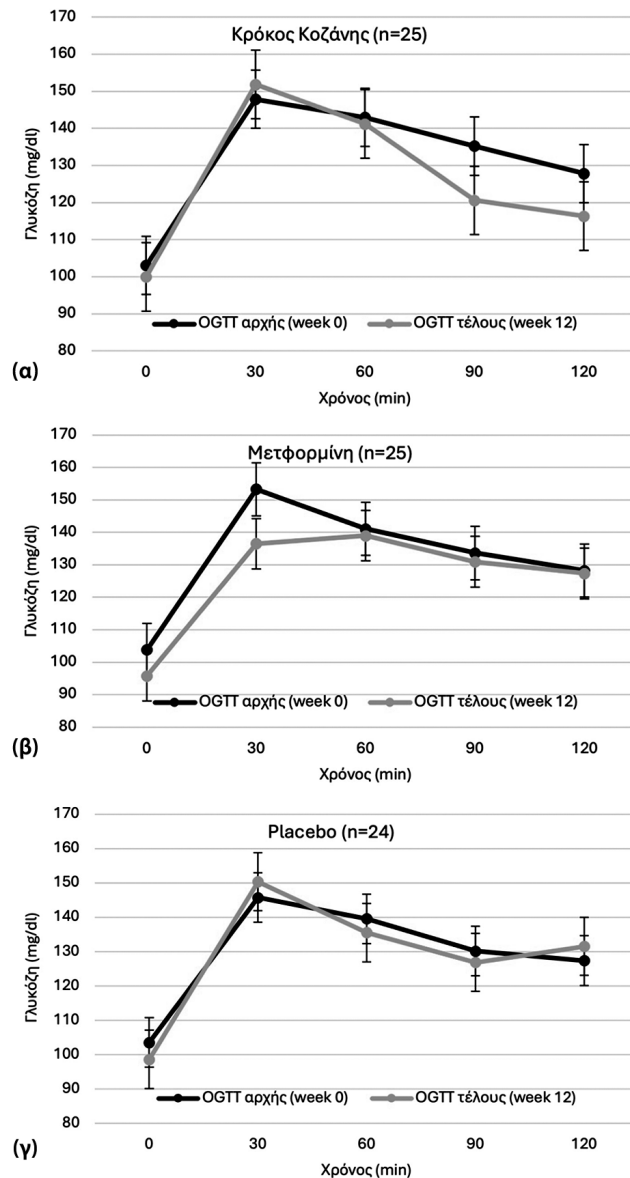
Δοκιμασία από του στόματος ανοχής γλυκόζης πριν και μετά την παρέμβαση

Στο τέλος της παρέμβασης των 12 εβδομάδων, η ομάδα των εφήβων που έλαβαν μετφορμίνη παρουσίασε

στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας ($p: 0,036$) και ινσουλίνης νηστείας ($p: 0,004$), των επιπέδων ινσουλίνης κατά τη διάρκεια της OGTT ($p\text{-value}_{30\text{min}}: 0,002$, $p\text{-value}_{60\text{min}}: 0,001$, $p\text{-value}_{90\text{min}}: 0,035$, $p\text{-value}_{120\text{min}}: 0,010$) και βελτίωση του δείκτη HOMA-IR ($p: 0,001$), συγκριτικά με την έναρξη της μελέτης (Πίνακας 3, Εικόνα 2). Η ομάδα που έλαβε ως παρέμβαση κρόκο Κοζάνης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα γλυκόζης ($p: 0,218$), ινσουλίνης νηστείας ($p: 0,192$), HbA1c ($p: 0,183$) ή στον δείκτη HOMA-IR ($p: 0,184$) στο πέρας της μελέτης συγκριτικά με την έναρξη. Ωστόσο, η χορήγηση κρόκου Κοζάνης επέφερε σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης στους χρόνους 90 min ($p < 0,001$) και 120 min ($p: 0,025$) της OGTT με συνοδό στατιστική τάση μείωσης και των επιπέδων ινσουλίνης στους ίδιους χρόνους ($p\text{-value}_{60\text{min}}: 0,085$, $p\text{-value}_{90\text{min}}: 0,049$, $p\text{-value}_{120\text{min}}: 0,067$). Τέλος, η ομάδα των εφήβων που έλαβε το εικονικό φάρμακο δεν παρουσίασε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή στη γλυκαιμική της ρύθμιση στο πέρας της μελέτης συγκριτικά με την έναρξη της, ενώ σημειώθηκε τάση μείωσης των επιπέδων γλυκόζης νηστείας ($p: 0,083$), και στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης κατά την OGTT στους χρόνους 90 min και 120 min (Πίνακας 3, Εικόνα 2).

Κατά την έναρξη της μελέτης, καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη σύγκριση των τιμών γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας ή των τιμών γλυκόζης και ινσουλίνης κατά την OGTT μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης (Πίνακας 3, Εικόνα 2). Ομοίως καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε κατά την έναρξη της μελέτης στην τιμή της HbA1c και στον δείκτη HOMA-IR, μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης.

Μετά το πέρας της μελέτης, συγκρίθηκε εκ νέου η διακύμανση των τιμών γλυκόζης και ινσουλίνης σε νηστεία και κατά την OGTT μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα γλυκόζης στον χρόνο 30 min της OGTT μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης με την υπεροχή των χαμηλότερων επιπέδων γλυκόζης στην ομάδα της μετφορμίνης (ομάδα κρόκου Κοζάνης: $151,83 \pm 24,82$ vs μετφορμίνης: $136,52 \pm 24,54$ vs εικονικού φαρμάκου: $150,38 \pm 31,12$, $p: 0,023$). Παρατηρήθηκε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα γλυκόζης στον χρόνο 120 min της OGTT μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης με υπεροχή χαμηλότερων τιμών επιπέδων γλυκόζης στην ομάδα του κρόκου Κοζάνης (ομάδα κρόκου Κοζάνης: $116,33 \pm 22,86$ vs μετφορμίνης: $127,36 \pm 19,33$ vs εικονικού φαρ-



Εικόνα 2. Διαγραμματική απεικόνιση της διακύμανσης των τιμών γλυκόζης κατά τη δοκιμασία από του στόματος ανοχής γλυκόζης στις τρεις ομάδες παρέμβασης, κατά την έναρξη (εβδομάδα 0) και στο πέρας (εβδομάδα 12) της μελέτης, (α) για την ομάδα του κρόκου Κοζάνης, (β) για την ομάδα της μετφορμίνης, (γ) για την ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

μάκου: $131,54 \pm 15,43$, $p: 0,009$).

Τέλος, μετά το πέρας της μελέτης, καταγράφηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ινσουλίνης σε όλους τους χρόνους της OGTT μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης με υπεροχή των χαμηλότερων επιπέδων γλυκόζης στην ομάδα της μετφορμίνης ($p\text{-value}_{30\text{min}} < 0,001$, $p\text{-value}_{60\text{min}}: 0,03$, $p\text{-value}_{90\text{min}}: 0,020$, $p\text{-value}_{120\text{min}} < 0,001$).

Πίνακας 3. Σύγκριση τιμών γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας κατά τη διάρκεια της OGTT στις τρεις ομάδες της μελέτης, πριν και μετά την παρέμβαση.

Ομάδα μελέτης					
		Κρόκος Κοζάνης (n = 25)	Μετφορμίνη (n = 25)	Εικονικό φάρμακο (n = 24)	p-value ⁺
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	Πριν	103,04 ± 9,28	103,80 ± 12,41	103,58 ± 6,16	0,966
	Μετά	99,96 ± 9,48	95,80 ± 12,16	98,66 ± 10,61	0,471
	p-value^{**}	0,218	0,036	0,083	
Γλυκόζη 30 min (mg/dl)	Πριν	147,83 ± 20,73	153,28 ± 31,33	145,75 ± 18,58	0,372
	Μετά	151,83 ± 24,82	136,52 ± 24,54	150,38 ± 31,12	0,023
	p-value^{**}	0,450	0,01	0,367	
Γλυκόζη 60 min (mg/dl)	Πριν	142,96 ± 23,32	141,08 ± 27,23	139,58 ± 23,13	0,850
	Μετά	141,18 ± 22,49	139,00 ± 25,02	135,54 ± 27,25	0,764
	p-value^{**}	0,785	0,671	0,423	
Γλυκόζη 90 min (mg/dl)	Πριν	135,20 ± 13,81	133,64 ± 29,89	130,20 ± 15,20	0,438
	Μετά	120,58 ± 19,04	130,96 ± 20,53	126,87 ± 17,39	0,190
	p-value^{**}	<0,001	0,643	0,443	
Γλυκόζη 120 min (mg/dl)	Πριν	127,79 ± 13,08	128,24 ± 20,04	127,41 ± 17,57	0,615
	Μετά	116,33 ± 22,86	127,36 ± 19,33	131,54 ± 15,43	0,009
	p-value^{**}	0,025	0,860	0,197	
Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml)	Πριν	22,84 ± 8,78	22,91 ± 6,51	22,30 ± 7,24	0,955
	Μετά	19,96 ± 10,59	17,18 ± 7,83	23,35 ± 9,05	0,065
	p-value^{**}	0,192	0,004	0,440	
Ινσουλίνη 30 min (μIU/ml)	Πριν	163,05 ± 49,96	153,60 ± 71,45	153,60 ± 83,17	0,834
	Μετά	176,85 ± 57,35	106,02 ± 52,82	175,14 ± 69,21	<0,001
	p-value^{**}	0,277	0,002	0,151	
Ινσουλίνη 60 min (μIU/ml)	Πριν	203,97 ± 68,26	205,10 ± 127,03	191,20 ± 38,05	0,900
	Μετά	172,99 ± 63,09	134,38 ± 104,32	199,08 ± 41,27	0,037
	p-value^{**}	0,085	0,001	0,472	
Ινσουλίνη 90 min (μIU/ml)	Πριν	180,92 ± 61,15	172,51 ± 124,82	172,36 ± 36,70	0,949
	Μετά	151,94 ± 61,56	125,75 ± 82,56	193,70 ± 56,14	0,020
	p-value^{**}	0,049	0,035	0,043	
Ινσουλίνη 120 min (μIU/ml)	Πριν	158,86 ± 74,59	152,52 ± 78,75	159,85 ± 45,44	0,552
	Μετά	132,00 ± 52,69	101,97 ± 78,94	202,79 ± 42,88	<0,001
	p-value^{**}	0,067	0,010	<0,001	
HbA1c	Πριν	5,33 ± 0,28	5,30 ± 0,19	5,28 ± 0,26	0,738
	Μετά	5,25 ± 0,33	5,27 ± 0,19	5,19 ± 0,28	0,496
	p-value^{**}	0,183	0,513	0,100	
HOMA-IR	Πριν	5,83 ± 2,41	5,91 ± 2,02	5,71 ± 1,92	0,951
	Μετά	5,02 ± 2,85	4,07 ± 1,91	5,83 ± 2,92	0,063
	p-value^{**}	0,184	0,001	0,804	

HOMA-IR: Δείκτης αξιολόγησης της αντίστασης στην ινσουλίνη.

*Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράζονται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

**Σύγκριση p-value μεταξύ των ομάδων με ANCOVA μετά από στράθμιση για τις συχνητές μεταβλητές φύλο και ηλικία.

**p-value για σύγκριση εντός της ομάδας με paired sample t-test.

Συζήτηση

Η παρούσα κλινική δοκιμή χορήγησης πόσιμου διαλύματος κρόκου Κοζάνης για 12 εβδομάδες σε εφήβους με παχυσαρκία και προδιαβήτη, απέδειξε ότι καμία σημαντική μεταβολή δεν προκύπτει στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, ινσουλίνης νηστείας, HbA1c ή στον δείκτη HOMA-IR των συμμετεχόντων μετά την παρέμβαση. Ωστόσο, η χορήγηση πόσιμου διαλύματος κρόκου Κοζάνης επιφέρει σημαντικές μεταβολές στη διάρκεια της δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης των εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη, με σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο πέρας της OGTT (χρόνοι 90 min και 120 min) και με συνοδό στατιστική τάση μείωσης των επιπέδων ινσουλίνης την ίδια χρονική περίοδο. Αντιθέτως, σημαντικά είναι τα οφέλη που επιβεβαιώνονται στην παρούσα κλινική μελέτη για τους εφήβους με παχυσαρκία και προδιαβήτη που λαμβάνουν από του στόματος παρέμβαση με μετφορμίνη, με σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας, ινσουλίνης νηστείας, ινσουλίνης κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας OGTT και βελτίωση του HOMA-IR. Είναι, τέλος, αξιοσημείωτο ότι το 44% του συνόλου των συμμετεχόντων εφήβων, σε οποιαδήποτε παρέμβαση και αν έχει αρχικά τυχαιοποιηθεί, μετά από 12 εβδομάδες συμμετοχής στη μελέτη δεν πληροί πλέον τα διαγνωστικά κριτήρια του προδιαβήτη. Καμία διαφορά δεν διαπιστώνεται μεταξύ των τριών ομάδων της παρούσας μελέτης στη συχνότητα επαναδιάγνωσης προδιαβήτη μετά το πέρας της κλινικής δοκιμής.

Ο κρόκος (*Crocus sativus* L.) αποτελεί άρτυμα με αναφερόμενες φαρμακευτικές ιδιότητες.¹⁰ Για την απόδοση ενός γραμμαρίου κρόκου, απαιτείται η καλλιέργεια 175 ανθέων. Ως κύριες πτητικές ενώσεις φέρει τερπένια, τερπενικές αλκοόλες και τους εστέρες τους, ενώ στα μη πτητικά χημικά συστατικά του περιλαμβάνονται κροκίνες (8-diapocarotene-8,8-dioic acid) στις οποίες οφείλει το χρώμα του, πικροκροκίνες (C₁₆H₂₆O₇) στις οποίες οφείλει την πικρή του γεύση και σαφρανάλη (2,6,6-trimethylcyclohexane-1,3-dien-1-carboxaldehyde) στην οποία αποδίδεται το άρωμά του.¹² Η κροκίνη και η πικροκροκίνη (ως πρόδρομη ουσία της σαφρανάλης) συνιστούν τις κύριες ενώσεις του κρόκου, ωστόσο η χημική σύσταση των στιγμάτων του φαρμακευτικού φυτού περιλαμβάνει επιπρόσθετα καροτενοειδή (λυκοπένιο, καροτίνες, ζεαξανθίνη, φυτοένιο και άλλα), φαινολικές ανθοκυανίνες, φλαβονοειδή, βιταμίνες (ριβοφλαβίνη και θειαμίνη), αμι-

νοξέα, πρωτεΐνες, ανόργανες ουσίες και άλλες χημικές ενώσεις.^{12,32}

Τα τελευταία δέκα έτη, έχει δημοσιευτεί μια σχετικά μεγάλη σειρά δεδομένων τόσο κλινικών όσο και προ-κλινικών, σχετικά με τις φαρμακευτικές ιδιότητες του φυτού στη νόσο της παχυσαρκίας.³² Η αρχική σύνδεση του κρόκου με τη νόσο προήλθε από τη βασική έρευνα και εδράζει σε δεδομένα επίδρασης του κρόκου σε τέσσερα διακριτά παθοφυσιολογικά μονοπάτια της μεταβολικής εκτροπής της νόσου.^{32,33} Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί δράσης περιλαμβάνουν μείωση της προσλαμβανόμενης ενέργειας μέσω αναστολής της παγκρεατικής λιπάσης,³² ανορεξιογόνο δράση και μείωση των πολλαπλών μικρών γευμάτων (snacking) μέσω προαγωγής της δράσης νευροδιαβιβαστών που προάγουν το αίσθημα του κορεσμού,³³ μείωση της οξειδωσης και καταστολή της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων³² και, τέλος, προαγωγή του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων.³³ Ως εκ τούτου, εικάζεται ότι ο κρόκος και τα ενεργά συστατικά του παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα θεραπευτικών ιδιοτήτων, το οποίο θα πρέπει να διερευνηθεί σε κλινικές συνθήκες.

Η χορήγηση κρόκου ως κλινικού θεραπευτικού εργαλείου διαχείρισης της παχυσαρκίας έχει μελετηθεί εκτενώς σε ενήλικες.^{27,34,35} Μια σημαντική σειρά ανεξάρτητων ερευνητών αναφέρει σημαντική μείωση του σωματικού βάρους ενηλίκων που έλαβαν κρόκο ως συμπλήρωμα διατροφής.^{27,34,35} Πράγματι, μεταanalύσεις όλων των διαθέσιμων ανθρωπομετρικών δεδομένων^{27,34,35} καταδεικνύουν ότι η παρέμβαση με χορήγηση από του στόματος κρόκου συνδέεται με μείωση στο σωματικό βάρος των ενηλίκων, η οποία μέχρι στιγμής αναδείχθηκε ως στατιστικώς σημαντική σε ένα μόνο μετα-αναλυτικό μοντέλο.³⁴ Πρόσφατα, διερευνήθηκε από την ομάδα μας η επίδραση της χορήγησης κρόκου Κοζάνης σε εφήβους με παχυσαρκία, παρέχοντας για πρώτη φορά τεκμήρια για μέτρια αλλά στατιστικά σημαντική μείωση του z-score του ΔΜΣ, του z-score του βάρους και μείωση της περιμέτρου μέσης μετά από 12 εβδομάδες χορήγησης, κατά την ανακοίνωση των πρόδρομων αποτελεσμάτων του παρόντος πρωτοκόλλου.²³ Είναι σαφής η ανάγκη για περισσότερα κλινικά δεδομένα σε εφήβους με παχυσαρκία, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση του κρόκου στην ανθρωπομετρία των εφήβων.

Η παρούσα μελέτη, ως συνέχεια των προαναφερθέντων δημοσιευμένων ευρημάτων της ερευνητικής

μας ομάδας, εστίασε στην ανίχνευση πιθανών μεταβολών στη γλυκαιμική ρύθμιση εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη μετά από τη χορήγηση κρόκου Κοζάνης. Η γλυκαιμική κατάσταση διερευνήθηκε μέσα από τη διενέργεια δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης προ και μετά την παρέμβαση. Παρ' ότι δεν τεκμηριώθηκε κανένα σημαντικό όφελος (πριν και μετά την παρέμβαση) σε καθεστώς νηστείας για τους εφήβους που έλαβαν κρόκο, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στα επίπεδα γλυκόζης των εφήβων κατά τους τελευταίους χρόνους της δοκιμασίας και συγκεκριμένα μετά τα 90 min αυτής. Το εύρημα αυτό συνοδεύτηκε από στατιστική τάση μείωσης και στα επίπεδα ινσουλίνης των εφήβων κατά τους τελευταίους χρόνους της δοκιμασίας και συγκεκριμένα μετά τα 90 min. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που διερεύνησε την επίδραση του κρόκου σε πληθυσμό εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη εφαρμόζοντας δοκιμασία από του στόματος ανοχής γλυκόζης προ και μετά τη χορήγηση κρόκου. Οι ανιχνευόμενες μεταβολές της γλυκαιμίας κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ανοχής γλυκόζης μεμονωμένα μετά τον χρόνο των 90 min, συνιστούν ένα πιθανό σημείο ενδιαφέροντος για την παθοφυσιολογία της δυσγλυκαιμίας, που χρήζει επιβεβαίωσης σε άλλα κλινικά δείγματα εφήβων ασθενών πριν την περαιτέρω αξιοποίησή του.

Το γλυκαιμικό προφίλ των παχύσαρκων ενηλίκων πριν και μετά τη λήψη κρόκου έχει αποτελέσει πεδίο τόσο βασικής όσο και κλινικής έρευνας. Η σύνθεση αυτών των δεδομένων ενηλίκων σε μια σειρά μετα-αναλύσεων, δεν παρουσιάζει ομοφωνία. Σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο αναδεικνύεται σε μετα-αναλύσεις πρωτότυπων μελετών σε ενήλικες με παχυσαρκία, μεταβολικό σύνδρομο, στεφανιαία νόσο, προδιαβήτη και ΣΔΤ2 που έλαβαν κρόκο.^{27,35-37} Η επίδραση του κρόκου στα επίπεδα της HbA1c είναι επίσης αμφιλεγόμενη αφού έχουν αναφερθεί μη σημαντικές μεταβολές μετά τη λήψη κρόκου σε ενήλικες,^{27,34,35} ενώ μία μετα-ανάλυση αναφέρει σημαντική μείωση των επιπέδων HbA1c με σημαντική ωστόσο ετερογένεια.³⁶ Καμία μελέτη ενηλίκων δεν περιγράφει την επίδραση του κρόκου στη μεταβολή της δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης, όπως η παρούσα μελέτη. Πλείστα μέχρι στιγμής διαθέσιμα δεδομένα παρουσιάζουν τη γλυκαιμική κατάσταση των ενηλίκων ασθενών σε καθεστώς νηστείας, χωρίς να διατίθενται δεδομένα για τη γλυκαιμία των ασθενών κατά τη διάρκεια δοκιμασίας από του στόματος ανοχής γλυκόζης.

Οι παραπάνω ασυμφωνίες των διαθέσιμων ευρημάτων σχετικά με τη γλυκαιμική κατάσταση των ενηλίκων μετά τη χορήγηση κρόκου μπορούν να σχετιστούν με τον μικρό αριθμό συμμετεχόντων στις διαθέσιμες μελέτες, την ανομοιογένεια των δεδομένων που εντάσσονται στα μετα-αναλυτικά μοντέλα στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, αλλά και την ανομοιογένεια σε ό,τι αφορά τις λεπτομέρειες του σχεδιασμού της παρέμβασης κάθε πρωτοκόλλου σχετικά με την ακριβή δοσολογία, τη διάρκεια της παρέμβασης, την ακριβή χημική σύσταση του υλικού παρέμβασης και λοιπές παραμέτρους.

Περιορισμοί – Μειονεκτήματα

Η παρούσα κλινική δοκιμή παρουσιάζει περιορισμούς που είναι σημαντικό να καταγραφούν για την κριτική της αποτίμηση. Βασικό μειονέκτημα του τρέχοντος πρωτοκόλλου αποτελεί η εφαρμογή ενός σταθερού δοσολογικού σχήματος χορήγησης των παρεμβάσεων στον κάθε βραχίονα της μελέτης. Η εφαρμογή κοινής δοσολογίας και η μη στάθμισή της ανά κιλό σωματικού βάρους ή ανά τετραγωνικό μέτρο επιφάνειας σώματος κάθε συμμετέχοντα, μειώνει τη διακριτική ισχύ της ανίχνευσης πιθανών διαφορών στις μετρούμενες παραμέτρους. Δευτερευόντως, η επιλογή της δοσολογίας που εφαρμόστηκε στο παρόν πρωτόκολλο για τον κρόκο Κοζάνης, βασίστηκε σε βιβλιογραφικό προηγούμενο χορήγησης *Crocus sativus* L. σε νορμοβαρή παιδιά και εφήβους τα οποία μελετήθηκαν για νοσήματα εκτός της παχυσαρκίας.^{28,29} Η μεγάλη διαφορά της σωματοδομής των εφήβων με παχυσαρκία, σε σχέση με τους παραπάνω πληθυσμούς, αποτελεί περιορισμό για την παρούσα μελέτη και το σχήμα παρέμβασης που εφαρμόστηκε. Επιπρόσθετο περιορισμό της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η αδυναμία καταγραφής της καθημερινής διατροφικής πρόσληψης και σωματικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, μιας και θα μπορούσαν αμφότερες να επιδράσουν στα καταληκτικά σημεία αξιολόγησης της μελέτης. Ακόμη περιορισμό αποτελεί το γεγονός ότι ο πληθυσμός της παρούσας μελέτης προέκυψε από ένα μόνο κέντρο. Τέλος, η ανάλυση των δεδομένων των συμμετεχόντων βάσει του πρωτοκόλλου (per protocol analysis) και όχι βάσει της πρόθεσης για θεραπεία (intention to treat analysis) πιθανόν εισήγαγε μεροληψία στα ευρήματα της παρούσας μελέτης.

Το πεδίο έρευνας για την ανίχνευση νέων θεραπευτικών παραγόντων που θα συνεπικουρήσουν στη

διαχείριση του σωματικού βάρους των εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη, αποτελεί αιχμή του δόρατος για την προαγωγή της υγείας των νεαρών ενηλίκων. Η παρούσα μελέτη σε εφήβους ανέδειξε σημαντικές διαφορές από τις μελέτες των ενηλίκων και δεν επιβεβαίωσε τα εντυπωσιακά θετικά αποτελέσματα που αναφέρεται να επιφέρει η χορήγηση κρόκου στη βελτίωση της υπεργλυκαιμίας και υπερινσουλιαιμίας νηστείας ή στη βελτίωση της HbA1c και του δείκτη HOMA-IR στην ενήλικη ζωή. Μικρό, ωστόσο, όφελος τεκμηριώνεται με την παρούσα κλινική δοκιμή στη μεταβολή της OGTT των εφήβων με παχυσαρκία και προδιαβήτη που έλαβαν κρόκο με μεμονωμένη βελτίωση της γλυκαιμίας κατά τη διάρκεια της OGTT, στους χρόνους 90-120 min. Μελλοντικές δοκιμές σε μεγαλύτερο πληθυσμό εφήβων και με πολλαπλά δοσολογικά σχήματα παρέμβασης θα φωτίσουν περισσότερο το πολλά υποσχόμενο πεδίο των φαρμακευτικών φυτών και ίσως ενισχύσουν τα θεραπευτικά εργαλεία του κλινικού ιατρού που φροντίζει τον έφηβο με παχυσαρκία και προδιαβήτη.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς ευχαριστούν τον Αναγκαστικό Συνεταιρισμό Κροκοπαραγωγών Κοζάνης για την ευγενική δωρεά των στιγμάτων βιολογικού κρόκου Κοζάνης που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα ερευνητική

παρέμβαση. Οι συγγραφείς ευχαριστούν την Uni-Pharma Kleon Tsetis Φαρμακευτικά Εργαστήρια ABEE μέλος του Ομίλου Φαρμακευτικών Επιχειρήσεων Τσέτη, για την ευγενική δωρεάν παρασκευή του πόσιμου διαλύματος κρόκου Κοζάνης από τα στιγμάτα βιολογικού κρόκου Κοζάνης και επίσης τη δωρεάν παρασκευή και προσφορά του πόσιμου διαλύματος εικονικού φαρμάκου (ΕΛΚΕ ΑΠΘ: 72663).

Σύγκρουση συμφερόντων

Όλοι οι συγγραφείς δηλώνουν ότι δεν φέρουν καμία σύγκρουση συμφερόντων. Όλοι οι συγγραφείς δηλώνουν ότι η παρούσα μελέτη διεξήχθη απουσία κάθε εμπορικών ή οικονομικών σχέσεων που θα μπορούσαν να ερμηνευθούν ως πιθανή σύγκρουση συμφερόντων. Η υποτροφία που έλαβε η πρώτη συγγραφέας ΕΠΚ από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο δεν είχε κανένα ρόλο στον σχεδιασμό της μελέτης, στη συλλογή, στις αναλύσεις ή την ερμηνεία δεδομένων, στη συγγραφή του κειμένου ή στην απόφαση δημοσίευσης των αποτελεσμάτων. Η δωρεάν παρασκευή του πόσιμου διαλύματος κρόκου Κοζάνης από τα στιγμάτα βιολογικού κρόκου Κοζάνης καθώς και η δωρεάν παρασκευή του εικονικού φαρμάκου από τη Uni-Pharma Φαρμακευτικά Εργαστήρια δεν συνοδεύτηκε από καμία οικονομική συναλλαγή ή συναλλαγή σε είδος προς τους ερευνητές.

Abstract

Changes in oral glucose tolerance test among adolescents with prediabetes after administration of crocus Kozanis: A randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial

E.P. Kotanidou, V.-R. Tsinopoulou, K. Margaritis, E. Tsotridou, S. Giza, S. Ntouma, E. Efstratiou, A. Galli-Tsinopoulou

Hellenic Diabetol Chro 2026; 37, 1: 21-34

Introduction: Crocus Kozanis (*Crocus sativus* L.) is a spice made from the stigmas of the homonymous plant of the Iridoid family with beneficial properties in animals and adults with obesity and dysglycemia. Prediabetes in adolescents is a comorbidity of obesity and a multiplicative factor of the burden of the disease. Available therapeutic tools for the management of obesity and prediabetes among adolescents are limited. The aim of this clinical trial was to investigate the effect of oral administration of crocus Kozanis on the glycemic status of adolescents with obesity and prediabetes.

Material – Methods: Seventy-four obese and prediabetic adolescents were randomized in a double-blind placebo-controlled, three arms trial, to receive per os crocus Kozanis (n = 25, 60 mg/day), metformin (n = 25, 1,000 mg/day) or placebo (n = 24) for twelve weeks combined with nutritional counseling by a clinical dietitian. The glycemic status of the participants was studied before and after intervention by determining HbA1c, performing an oral glucose tolerance test (OGTT), determining serum insulin levels during the OGTT and calculating the HOMA-IR index.

Results: At the end of the intervention, adolescents randomized to metformin had reduced OGTT and fasting insulin and glucose, and improved HOMA-IR index. Administration of crocus Kozanis did not cause any significant changes in fasting glucose and insulin levels, HbA1c and HOMA-IR among participating adolescents. Administration of crocus Kozanis also caused a significant reduction in glucose levels at 90 min ($p < 0.001$) and 120 min ($p = 0.025$) of the OGTT. After 12 weeks, 44% of all participants ($n = 33/75$) no longer met diagnostic criteria for prediabetes, with no difference between the three arms of the study (groups).

Conclusions: Crocus Kozanis in combination with a healthy dietary intervention offers significant benefits in the glycaemic status of adolescents with obesity and pre-diabetes.

Keywords: adolescent, obesity, prediabetes, oral glucose tolerance test, crocus, Kozani saffron, saffron

Βιβλιογραφία

1. Arnold M, Leitzmann M, Freisling H, et al. Obesity and cancer: An update of the global impact. *Cancer Epidemiol* 2016; 41: 8-15. doi: 10.1016/j.canep.2016.01.003.
2. Banerjee S, Kumar P, Srivastava S, Banerjee A. Association of anthropometric measures of obesity and physical activity with cardio-vascular diseases among older adults: Evidence from a cross-sectional survey, 2017-18. *PLoS One* 2021; 16: e0260148. doi: 10.1371/journal.pone.0260148.
3. Wilson PWF, D'Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1867-72. doi: 10.1001/archinte.162.16.1867.
4. Khan I, Chong M, Le A, et al. Surrogate adiposity markers and mortality. *JAMA Netw Open* 2023; 6: e2334836. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.34836. Erratum in: *JAMA Netw Open* 2025 Feb 3; 8: e250472. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2025.0472.
5. Esquivel Zuniga R, DeBoer MD. Prediabetes in adolescents: prevalence, management and diabetes prevention strategies. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2021; 14: 4609-19. doi: 10.2147/DMSO.S284401.
6. Ng HY, Chan LTW. Prediabetes in children and adolescents: An updated review. *World J Clin Pediatr* 2023; 12: 263-72. doi: 10.5409/wjcp.v12.i5.263.
7. Tabrizi JS, Doshmangir L, Khoshmaram N, Shakibazadeh E, Abdolahi HM, Khabiri R. Key factors affecting health promoting behaviors among adolescents: a scoping review. *BMC Health Serv Res* 2024; 24: 58. doi: 10.1186/s12913-023-10510-x.
8. Hasani-Ranjbar S, Jouyandeh Z, Abdollahi M. A systematic review of anti-obesity medicinal plants – an update. *J Diabetes Metab Disord* 2013; 12: 28. doi: 10.1186/2251-6581-12-28.
9. José Bagur M, Alonso Salinas G, Jiménez-Monreal A, et al. Saffron: an old medicinal plant and a potential novel functional food. *Molecules* 2017; 23: 30. doi: 10.3390/molecules23010030.
10. Kakisis JD. Saffron: from Greek mythology to contemporary anti-atherosclerotic medicine. *Atherosclerosis* 2018; 268: 193-5. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.11.021.
11. European Commission. Krokos Kozanis PDO [Internet]. Brussels: European Commission 2024 [τελευταία ανανέωση]. Προσπελάστηκε στις 23 Ιανουαρίου 2024. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/geographical-indications-and-quality-schemes/geographical-indications-food-and-drink/krokos-kozanis-pdo_en.
12. Hatziagapiou K, Lambrou GI. The protective role of *Crocus sativus* L. (saffron) against ischemia-reperfusion injury, hyperlipidemia and atherosclerosis: nature opposing cardiovascular diseases. *Curr Cardiol Rev* 2018; 14: 272-89. doi: 10.2174/1573403x146666180628095918.
13. Ahmadikhatir S, Ostadrahimi A, Safaiyan A, Ahmadikhatir S, Farrin N. Saffron (*Crocus sativus* L.) supplements improve quality of life and appetite in atherosclerosis patients: A randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2022; 27: 30. doi: 10.4103/jrms.JRMS_1253_20.
14. Kermani T, Kazemi T, Molki S, Ilkhani K, Sharifzadeh G, Rajabi O. The efficacy of crocin of saffron (*Crocus sativus* L.) on the components of metabolic syndrome: A randomized controlled clinical trial. *J Res Pharm Pract* 2017; 6: 228. doi: 10.4103/jrpp.jrpp_17_26.
15. Milajerdi A, Jazayeri S, Hashemzadeh N, et al. The effect of saffron (*Crocus sativus* L.) hydroalcoholic extract on metabolic control in type 2 diabetes mellitus: A triple-blinded randomized clinical trial. *Res Med Sci* 2018; 23: 16. doi: 10.4103/jrms.JRMS_286_17.
16. Rajabi A, Khajehlandi M, Siahkuhian M, Akbarnejad A, Khoramipour K, Suzuki K. Effect of 8 weeks aerobic training and saffron supplementation on inflammation and metabolism in middle-aged obese women with type 2 diabetes mellitus. *Sports (Basel)* 2022; 10: 167. doi: 10.3390/sports10110167.
17. Karimi-Nazari E, Nadjarzadeh A, Masoumi R, et al. Effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on lipid profile, glycaemic indices and antioxidant status among overweight/obese prediabetic individuals: A double-blinded, randomized controlled trial. *Clin Nutr ESPEN* 2019; 34: 130-6. doi: 10.1016/j.clnesp.2019.07.012.
18. Tajaddini A, Roshanravan N, Mobasseri M, et al. Saffron improves life and sleep quality, glycaemic status, lipid profile and liver function in diabetic patients: A double-blind, placebo-controlled, randomised clinical trial. *Int*

- J Clin Pract 2021; 75: e14334. doi: 10.1111/ijcp.14334.
19. *Mobasser M, Ostadrahimi A, Tajaddini A, et al.* Effects of saffron supplementation on glycemia and inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial study. *Diabetes Metab Syndr* 2020; 14: 527-34. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.031.
 20. *Ebrahimi F, Aryaeian N, Pahlavani N, et al.* The effect of saffron (*Crocus sativus* L.) supplementation on blood pressure, and renal and liver function in patients with type 2 diabetes mellitus: a double-blinded, randomized clinical trial. *Avicenna J Phytomed* 2019; 9: 322-33. PMID: 31309071.
 21. *Moravej Aleali A, Amani R, Shahbazian H, Namjooyan F, Latifi SM, Cheraghian B.* The effect of hydroalcoholic saffron (*Crocus sativus* L.) extract on fasting plasma glucose, HbA1c, lipid profile, liver, and renal function tests in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind clinical trial. *Phytother Res* 2019; 33: 1648-57. doi: 10.1002/ptr.6351.
 22. *Hooshmand Moghadam B, Rashidlamir A, Attarzadeh Hosseini SR, Gaeini AA, Kaviani M.* The effects of saffron (*Crocus sativus* L.) in conjunction with concurrent training on body composition, glycaemic status, and inflammatory markers in obese men with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind clinical trial. *Br J Clin Pharmacol* 2022; 88: 3256-71. doi: 10.1111/bcp.15222.
 23. *Kotaniidou EP, Tsinopoulou VR, Giza S, et al.* The effect of saffron Kozanis (*Crocus sativus* L.) supplementation on weight management, glycemic markers and lipid profile in adolescents with obesity: a double-blinded randomized placebo-controlled trial. *Children (Basel)* 2023; 10: 1814. doi: 10.3390/children10111814.
 24. *Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, et al.* Pediatric obesity-assessment, treatment, and prevention: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102: 709-57. doi: 10.1210/jc.2016-2573.
 25. *HAMPL SE, Hassink SG, Skinner AC, et al.* Clinical practice guideline for the evaluation and treatment of children and adolescents with obesity. *Pediatrics* 2023; 151: e2022060640. doi: 10.1542/peds.2022-060640. Erratum in: *Pediatrics* 2024; 153: e2023064612. doi: 10.1542/peds.2023-064612.
 26. *ELayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al.* 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes – 2023. *Diabetes Care* 2023; 46(Suppl. 1): S19-S40. doi: 10.2337/dc23-S002. Erratum in: *Diabetes Care* 2023; 46: 1106. doi: 10.2337/dc23-er05. Erratum in: *Diabetes Care* 2023; 46: 1715. doi: 10.2337/dc23-ad08.
 27. *Tahmasbi F, Araj-Khodaei M, Mahmoodpoor A, Sanaie S.* Effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on anthropometric and cardiometabolic indices in overweight and obese patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytother Res* 2022; 36: 3394-414. doi: 10.1002/ptr.7530.
 28. *Blasco-Fontecilla H, Moyano-Ramírez E, Méndez-González O, Rodrigo-Yanguas M, Martín-Moratinos M, Bella-Fernández M.* Effectivity of saffron extract (Saffr'Activ) on treatment for children and adolescents with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A clinical effectivity study. *Nutrients* 2022; 14: 4046. doi: 10.3390/nu14194046.
 29. *Baziar S, Aqamolaei A, Khadem E, et al.* *Crocus sativus* L. versus methylphenidate in treatment of children with attention-deficit/hyperactivity disorder: a randomized, double-blind pilot study. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2019; 29: 205-12. doi: 10.1089/cap.2018.0146.
 30. *Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-9. doi: 10.1007/BF00280883.
 31. *Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH.* Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000; 320: 1240-3. doi: 10.1136/BMJ.320.7244.1240.
 32. *Mashmoul M, Azlan A, Khaza'Al H, Yusof BNM, Noor SM.* Saffron: A natural potent antioxidant as a promising anti-obesity drug. *Antioxidants (Basel)* 2013; 2: 293-308. doi: 10.3390/antiox2040293.
 33. *Razavi BM, Hosseinzadeh H.* Saffron: a promising natural medicine in the treatment of metabolic syndrome. *J Sci Food Agric* 2017; 97: 1679-85. doi: 10.1002/jsfa.8134.
 34. *Pourmasoumi M, Hadi A, Najafgholizadeh A, Kafeshani M, Sahebkar A.* Clinical evidence on the effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on cardiovascular risk factors: A systematic review meta-analysis. *Pharmacol Res* 2019; 139: 348-59. doi: 10.1016/j.phrs.2018.11.038.
 35. *Rahmani J, Bazmi E, Clark C, Hashemi Nazari SS.* The effect of saffron supplementation on waist circumference, HA1C, and glucose metabolism: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Complement Ther Med* 2020; 49: 102298. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102298.
 36. *Sohaei S, Hadi A, Karimi E, Arab A.* Saffron supplementation effects on glycemic indices: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Int J Food Prop* 2020; 23: 1386-401. doi: 10.1080/10942912.2020.1807567.
 37. *Naserizadeh SK, Taherifard MH, Shekari M, et al.* The effect of crocin supplementation on lipid concentrations and fasting blood glucose: A systematic review and meta-analysis and meta-regression of randomized controlled trials. *Complement Ther Med* 2020; 52: 102500. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102500.