

Zygmunt Zdrojewicz¹, Bartosz Bugaj², Krzysztof Cabała², Damian Pypno², Mateusz Waracki²

¹Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

²Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Nowoczesne kierunki leczenia cukrzycy

Modern trends of treating diabetes

STRESZCZENIE

Cukrzyca to choroba ogólnoustrojowa prowadząca do uszkodzenia, a następnie niewydolności wielu narządów. Zachorowalność stale rośnie, a Organizacja Narodów Zjednoczonych uznała ją za „epidemię XXI wieku”. Pomimo różnych możliwości leczenia zwykle nie udaje się uniknąć powikłań choroby. Poznanie mechanizmów wywołujących cukrzycę na poziomie molekularnym może doprowadzić do opracowania nowych leków. Inżynieria genetyczna umożliwia modyfikację ekspresji genów, takich jak *PAX4*, co powoduje różnicowanie komórek β niewydolnych w cukrzycy. Odkrycie betatrofiny, stymulującej proliferację komórek β , protektyny DX, regulującej gospodarkę węglowodanową, oraz wytwarzanie i przeszczepianie komórek β to ostatnie dokonania naukowców. Do użycia dopuszczono już niektóre inhibitory SGLT2, hamujące resorpcję glukozy w kanalikach nerkowych.

Celem pracy jest przedstawienie potencjalnych metod leczenia cukrzycy. Wykorzystano artykuły oryginalne oraz poglądowe, by zaprezentować nowe osiągnięcia oraz kierunki badań. (Diabet. Klin. 2014; 3, 5: 198–205)

Słowa kluczowe: cukrzyca, komórki β trzustki, protektyna DX, betatrofina, marihuana, inhibitory SGLT2

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Zygmunt Zdrojewicz
Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami
Uniwersytetu Medycznego
ul. Pasteura 4, 50–367 Wrocław
e-mail: zygmuntd@zdrojewicz.wroc.pl
Diabetologia Kliniczna 2014, tom 3, 5, 198–205
Copyright © 2014 Via Medica
Nadesłano: 31.07.2014 Przyjęto do druku: 12.10.2014

ABSTRACT

Diabetes is a systemic disease that damages and subsequently causes failure of many organs. With morbidity constantly increasing, United Nations have declared it the “epidemic of the XXI century”. Despite many available treatment options, avoiding complications is usually not possible. Discovering the molecular mechanisms of diabetes may be essential to the development of better medications. By using genetic engineering, scientists might be able to influence the expression of various genes, such as *PAX4*, and thus improve the differentiation of deficient β cells in diabetes. Other recent discoveries include: betatrophin — a substance that stimulates the proliferation of β cells; protectin DX that regulates carbohydrate metabolism and finally β cell transplantation. Diabetes might also be treated by using SGLT2 inhibitors to decrease the resorption of glucose in kidney's tubules.

The goal of this dissertation is to showcase the potential methods of treating diabetes. Original articles and reviews have been used to present the new developments and directions of studies. (Diabet. Klin. 2014; 3, 5: 198–205)

Key words: diabetes, pancreas β cells, protectin DX, betatrophin, marijuana, SGLT2 inhibitors

Wstęp

Cukrzyca to choroba społeczna, która charakteryzuje się zaburzeniami gospodarki węglowodanowej i sprzyja powstawaniu zmian patologicznych wielu narządów, szczególnie oczu, nerek, nerwów, serca i naczyń krwionośnych [1]. Typ 2 (DM2, *diabetes mellitus type 2*) występuje najczęściej — stanowi około 90% przypadków [2]. Jako jedyna choroba niezakaźna

cukrzyca została uznana przez Organizację Narodów Zjednoczonych (ONZ) za epidemię XXI wieku [3]. Liczba zdiagnozowanych osób stale rośnie. Według szacunków Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF, *International Diabetes Federation*) w 2013 roku 382 miliony ludzi na świecie chorowało na cukrzycę, natomiast do 2035 roku, zgodnie z przewidywaniami, liczba chorych wzrośnie do 592 milionów [4]. Polska należy do krajów o najwyższej zachorowalności na cukrzycę — w 2011 roku było około 3,1 mln chorych (ok. 10,6% całej populacji), z czego nawet milion to osoby niezdiagnozowane. Co więcej, 5,2 miliona osób ma upośledzoną tolerancję glukozy, co kwalifikuje ich do grupy zwiększonego ryzyka zachorowania na DM2, na którą choruje już ponad 20% Polaków po 60. roku życia. Obok chorób sercowo-naczyniowych, nowotworów i chorób płuc także prewencja i leczenie cukrzycy zostały uznane przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) za priorytet zdrowotny na lata 2008–2013. Wynika to z tego, że wraz z powikłaniami stanowi ona 1 z 5 najczęstszych przyczyn zgonów w krajach wysokorozwiniętych, a liczba zgonów nią spowodowanych jest na świecie podobna do liczby umierających z powodu AIDS. Szacuje się, że tylko w 2011 roku z powodu cukrzycy zmarło prawie 5 milionów ludzi [3]. Dodatkowo choroba ta generuje ogromne wydatki. W Stanach Zjednoczonych koszt związany z rozpoznaną cukrzycą w 2012 roku oszacowano na 245 miliardów dolarów, w tym 176 miliardów na bezpośrednie koszty medycznych (pobyty szpitalne, leki i wizyty u lekarzy) i 69 miliardów na koszty pośrednie (bezrobocie z powodu trwałego kalectwa, przedwczesna umieralność) [5]. Pomimo różnych możliwości leczenia wielu pacjentów, nawet we wczesnym stadium choroby, nie osiąga zalecanej wartości ($< 7\%$) hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c} , *glycated hemoglobin*) [6]. Prawie 5000 lat zmagania badawczych i leczniczych z jedną z najważniejszych chorób ludzkości na całym świecie cały czas stanowi dopiero wstęp do osiągnięcia ostatecznego celu, jakim jest bez wątpienia możliwość wyleczenia cukrzycy. Postępy medycyny wskazują, że jest to możliwe i coraz bliższe [7]. Z tego powodu naukowcy poszukują nowych leków, które pozwolą lepiej kontrolować glikemię bądź zatrzymają postęp choroby. Celem pracy jest przedstawienie potencjalnych metod leczenia cukrzycy.

Protektyna — przyszłość leczenia insulinooporności i cukrzycy typu 2?

Otyłość i związany z nią przewlekły stan zapalny odgrywają znaczącą rolę w patogenezie insulinooporności. Charakteryzuje się ona przewlekłym podwyższonym stężeniem prozapalnych cytokin, białek ostrej fazy

oraz zwiększeniem aktywacji sygnałów prozapalnych we wrażliwych na insulinę tkankach osobników otyłych. Z czasem prowadzi do rozwoju DM2 i chorób układu krążenia [8, 9]. Jak wynika z badań, protektyna D1 (PD1), związek chemiczny syntetyzowany z kwasu dokozaheksaenowego DHA, zapewnia organizmowi prawidłową odpowiedź układu immunologicznego w przebiegu chorób metabolicznych. Jej właściwości polegają głównie na ograniczaniu migracji neutrofilów do ogniska zapalnego [10–12]. Protektyna D1 w przedziałach nanogramowych sprzyja usuwaniu fagocytów podczas ostrego stanu zapalnego poprzez regulowanie infiltracji leukocytów, zwiększenie wchłaniania apoptotycznych granulocytów przez makrofagi *in vivo* oraz *in vitro*, a także pojawianie się fagocytów pochłaniających zymosan, czyli glukan indukujący reakcję zapalną, w węzłach chłonnych i śledzionie [13]. Zrozumiałe jest zatem, że nieefektywna biosynteza PD1, z uwagi na niską dostępność substratu, przyczynia się do rozwoju zapalenia związanego z otyłością [10].

Izomerem PD1 jest protektyna DX (PDX) [14]. Zmniejsza ona produkcję reaktywnych form tlenu, hamuje aktywację oksydazy NADPH i uwalnianie mieloperoksydazy z neutrofilów. Potwierdzono również, że PDX jest czynnikiem antyagregacyjnym i przeciwzapalnym poprzez hamowanie cyklooksygenazy-1 i -2 (COX-1 i COX-2). Jednakże nie ma żadnego wpływu na szlak 5-lipoksygenazy, który wytwarza czynnik chemotaktyczny — leukotrien B₄. Naukowcy zasugerowali, że PDX może być czynnikiem chroniącym przed inwazją neutrofilów w przewlekłych chorobach zapalnych [15]. White i wsp. wykazali, że PDX wywiera nieoczekiwaną aktywność w regulacji gospodarki węglowodanowej. Okazało się, że selektywnie stymuluje produkcję i uwalnianie prototypowej interleukiny 6 (IL-6) z mięśni szkieletowych. Interleukina 6 obecna we krwi kontroluje poziom glukozy poprzez sygnalizację ograniczenia produkcji glukozy przez wątrobę oraz oddziałuje w sposób bezpośredni na mięśnie, poprawiając ich wrażliwość na insulinę. By zademonstrować związek między PDX a IL-6, naukowcy posłużyli się transgenicznymi myszami, u których nie występował gen *IL-6*. Protektyna DX miała u nich znikomy wpływ na stężenie glukozy we krwi. W podobnych testach prowadzonych na otyłych szczurach PDX w bardzo dużym stopniu zwiększała insulinowrażliwość [16]. Badanie przeprowadzone na tkance mięśnia szkieletowego człowieka pobranej przez biopsję wykazało 1,5-krotne zwiększenie wychwytu glukozy przy obecności IL-6 oraz jej receptora. Zaobserwowano wzrost fosforylacji kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK), który wystąpił także w obecności insuliny. Ponadto połączenie IL-6 z jej receptorem zwiększyło

w porównaniu z insuliną fosforylację kinazy mTOR. Obecność samej, pozbawionej receptora IL-6 nie wywołała wzrostu wychwytu glukozy [17]. Potwierdzono, że uwalnianie IL-6 związane z PDX sprzyja hormonozależnemu tłumieniu produkcji glukozy w wątrobie za pośrednictwem zależnej od STAT-3 represji transkrypcji koaktywatora-1 α receptora γ aktywowanego przez proliferatory peroksosomów (PGC1 α), karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej (PEPCK) i glukozo-6-fosfatazy (G6Pazy) [18]. Wyniki badań na modelach zwierzęcych sugerują przyczynowy związek procesów zapalnych z otyłością i współistniejącymi z nią opornością na insulinę i DM2. Adipocyty są zdolne do syntezy i sekrecji wielu czynników zwanych adipokinami. Badania wykazały, że wytwarzanie adipokin, takich jak: leptyna, czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*), IL-6, adiponektyna i rezystyna zmienia się w otyłości, DM2 i zespole metabolicznym [19]. Taka sama reakcja, to jest pobudzenie produkcji i uwalnianie IL-6 w komórkach mięśniowych, występuje także podczas ćwiczeń fizycznych, jednakże PDX nie wywiera korzystnego wpływu na układ sercowo-naczyniowy [16]. Dlatego nie można uznawać jej za formę zastępczą wysiłku fizycznego.

Podsumowując, zidentyfikowano PDX jako nowy czynnik, który posiada potencjał terapeutyczny w stanie zapalnym indukowanym lipidami, hamuje wydzielanie prozapalnych chemokin i cytokin. Ponadto powstrzymuje aktywację dwóch mediatorów zapalnych insulinooporności, indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS) i kinaz serynowo-tyrozynowych (kinaz JNK) [18]. Niezbędne są dalsze badania i wykazanie przeciwcukrzycowego działania PDX u ludzi.

Betatrofina zamiast zastrzyków z insuliny?

Jedną z wielu niedogodności leczenia cukrzycy jest konieczność stosowania przewlekłej insulinoterapii, która wiąże się z kilkukrotnymi iniekcjami insuliny każdego dnia. Jednak w przyszłości problem ten może zniknąć, a to wszystko za sprawą niedawno odkrytego hormonu o nazwie betatrofina. Według Douglasa Meltona z *Harvard Stem Cell Institute* w Cambridge Massachusetts iniekcja betatrofiny tylko raz w miesiącu, a być może nawet raz w roku, pozwoli utrzymać aktywność komórek β trzustki, która regulowałaby wartości glukozy w osoczu na poziomie odpowiadającym temu uzyskanemu przy codziennej terapii insuliną. Komórki β trzustki wraz z wiekiem tracą zdolności proliferacyjne i w okresie dorosłości szybkość ich podziałów u gryzoni [20] oraz ludzi [21] jest mniejsza niż 0,5% podziałów na dzień, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju cukrzycy. Równocześnie te same komórki zachowują swoją zdolność do szybkiej proliferacji w odpowiedzi na

stany takie jak ciąża, wysoki poziom cukru we krwi, uraz trzustki i obwodowa odporność na insulinę. Naukowcy z Meltonem na czele postanowili zbadać sygnały w komórkach β , które w okresie embrionalnym oraz noworodkowym umożliwiają ich wzmożoną proliferację. Do tego celu posłużyły im myszy. Dzięki zablokowaniu receptorów insulinowych peptydem S961 udało się uzyskać kompensacyjny wzrost poziomu proliferacji komórek β wysp trzustkowych gryzoni. Kolejne etapy badania doprowadziły do odkrycia czynnika, którego ekspresja umożliwia ten proces — okazała się nim właśnie betatrofina [22]. Również u człowieka udało się wykryć w osoczu obecność tego hormonu, co świadczy że jest wytwarzany w jego organizmie, głównie przez wątrobę oraz w niewielkiej ilości przez tkankę tłuszczową [23, 24]. U myszy z kolei powstaje w wątrobie, białej i żółtej tkance tłuszczowej oraz w niewielkich ilościach w dwunastnicy, jelicie cienkim, płucach i nadnerczach. Iniekcja plazmidów tego hormonu do wątroby 8-tygodniowych myszy spowodowała 3-krotny wzrost obszaru komórek β wysp trzustkowych oraz 2-krotny wzrost poziomu insuliny w ich organizmie, a to wszystko w zaledwie 8 dni. Warto podkreślić niezwykle działanie betatrofiny, gdyż wyłącznie komórki β ulegają proliferacji [22]. Dzięki kolejnym badaniom udało się udowodnić prawidłową funkcjonalność komórek powstałych na skutek wzmożonej proliferacji, lepszą tolerancję glukozy w teście obciążenia glukozą oraz brak związku właściwości proliferacyjnych betatrofiny z wytwarzaniem stanu insulinooporności, który również predysponuje do wzmożonej proliferacji komórek β wysp trzustkowych [22].

Betatrofina jest hormonem zbudowanym ze 198 aminokwasów. Jak się okazało, trzy różne laboratoria prowadziły nad nim badania. RIFL, lipasin, ANGTL8 — to nazwy przyjęte przez te laboratoria, jednak każda z tych substancji to produkt tego samego genu związanego z gospodarką lipidową organizmu [25]. Podwyższony poziom betatrofiny w osoczu zaobserwowano w DM2 zarówno u myszy, jak i u człowieka [23]. Cukrzyca typu 1 (DM1, *diabetes mellitus type 1*) oraz starszy wiek w populacji ludzi zdrowych również wiązały się z jej podwyższonym stężeniem, jednak tylko u człowieka [24].

Eksperyment polegający na przeszczepieniu ludzkich komórek β do organizmu myszy rzucił cień na możliwą przydatność betatrofiny w leczeniu ludzi. Okazało się bowiem, że przeszczepione komórki człowieka zupełnie nie reagują na mysi hormon, w przeciwieństwie do komórek mysich znajdujących się zarówno w ich normalnej lokalizacji, jak i przeszczepionych pod torebkę nerki [26]. Jednak, jak zauważa Stewart, wyników powyższego badania nie należy pochopnie

interpretować, gdyż nie wiadomo, czy brak odpowiedzi ludzkich komórek nie wynika choćby z powodu braku możliwości pobudzenia ludzkich receptorów betatrofiny mysim hormonem [27]. Dokładne mechanizmy kontrolujące replikację komórek β przez betatrofinę nie są jeszcze znane. Kolejnym zadaniem naukowców będzie identyfikacja receptora betatrofiny i innych potencjalnych kofaktorów lub szlaków sygnalizacyjnych, co może pomóc w wyjaśnieniu, jak wątroba i tkanka tłuszczowa współdziałają z trzustką w regulowaniu replikacji komórek β [25]. Niewątpliwie jej odkrycie zbliża naukowców do lepszego poznania mechanizmów funkcjonowania komórek β wysp trzustkowych. Jak dotąd betatrofinę testowano wyłącznie u młodych myszy. Naukowcy chcieliby dowiedzieć się, czy również korzystnie odpowiedzą na nią starsze osobniki. Aby zastosować ją u ludzi, potrzeba będzie jeszcze wielu lat badań, co nie zmienia faktu, że ich wyniki mogą okazać się przełomowe w terapii cukrzycy.

Przeszczepianie komórek sposobem na przywrócenie prawidłowej funkcji wewnątrzwydzielniczej trzustki

Przeszczepy trzustki możliwe są już od kilkadziesiąt lat. Pierwszy udany zabieg tego typu na świecie wykonano w 1966 roku, 22 lata później dokonali tego również naukowcy z Polski. Jednak procedura ta wiąże się z dużym ryzykiem. Już w trakcie zabiegu enzymy trawienne produkowane przez trzustkę mogą na skutek uszkodzenia przeszczepianego narządu doprowadzić do jego martwicy. Później, w celu niedopuszczenia do odrzucenia trzustki, należy przewlekłe stosować niezwykle obciążające dla organizmu ludzkiego leczenie immunosupresyjne. Wszystko to sprawia, że ten sposób leczenia zarezerwowany jest dla wąskiej grupy pacjentów. Badacze zaobserwowali również, że w ciągu 4 lat od zabiegu dochodzi do zmniejszenia objawów mikroangiopatycznych, poprawy przepływu naczyniowego oraz termoregulacji. Ponadto następuje stabilizacja retinopatii, a objawy nefropatii, neuropatii somatycznej oraz autonomiczne ulegają osłabieniu. Najczęstszym wskazaniem do transplantacji trzustki jest DM1 powikłana schyłkową niewydolnością nerek na tle nefropatii cukrzycowej [28]. Alternatywę dla przeszczepu całego narządu stanowi transplantacja wysp trzustkowych, która pozwala przywrócić dobrą kontrolę glikemii i obniżyć zapotrzebowanie na insulinę, nawet u pacjentów chorych na DM1 z obecnymi przeciwciałami przeciwinulinowymi [29]. Jednak ograniczona liczba dawców i ryzyko odrzucenia przeszczepu nie pozwalają stosować rutynowo takiej procedury. Badacze skupiają się na wytwarzaniu komórek produkujących insulinę z ludzkich komórek macierzystych,

lecz otrzymywane w ten sposób mogą dać początek nowotworom [30]. Jedną z możliwych przyczyn powstawania potworniaków w badaniu na myszach była utrata zróżnicowania komórek pochodzących z zarodkowych komórek macierzystych. Niektóre raporty przedstawiają potencjał odróżnicowania komórek linii płciowej. Innym powodem mógł być brak wytworzenia czystej populacji komórek [31].

Multipotentne komórki pochodzące z endometrium mają zdolność do różnicowania się w komórki linii mezo- i endodermalnej, co sugeruje istnienie mezenchymalnych komórek macierzystych w tej tkance, czyli tak zwanych macierzystych komórek podścieliska endometrium (ESSC, *endometrial stromal stem cells*). Transplantacją komórek endometrium zajęli się Santamaria i wsp. W protokole *in vitro* opracowali oni i ocenili ekspresję markerów komórek β wysp trzustkowych, jednocześnie określając wydzielanie insuliny. W zróżnicowanych komórkach w porównaniu z grupą kontrolną ekspresja PAX4, PDX1, GLUT2 i wydzielanie insuliny były zwiększone. Ponadto zróżnicowane komórki wydzielają insulinę w sposób zależny od glukozy, a produkcja tego hormonu została zwiększona około 10-krotnie w odpowiedzi na wzrost obciążenia glukozą od 5 do 25 mmol/l. Niemniej jednak całkowita ilość wydzielanej insuliny była rzędu $\mu\text{g}/\text{ml}$, co sugeruje, że prawdopodobnie tylko niewielka liczba ludzkich ESSC była całkowicie zróżnicowana w komórki wytwarzające insulinę. W modelu mysim zróżnicowane komórki wszczepiono do nerek myszy chorych na cukrzycę. W ciągu 5 tygodni poziom glukozy we krwi ustabilizował się u myszy po przeszczepie komórek zróżnicowanych, zaś u myszy z cukrzycą, u których przeszczepiono komórki niezróżnicowane, wystąpiła postępująca hiperglikemia. Ponadto u myszy leczonych przeszczepieniem komórek kontrolnych rozwinęła się zaćma i stwierdzono ubytek masy ciała w przeciwieństwie do tych, które otrzymały komórki produkujące insulinę. Endometrium zapewnia łatwo dostępne, odnawialne i immunologicznie identyczne źródło komórek macierzystych z potencjalnym zastosowaniem w terapii cukrzycy [32]. Potrzebne są dalsze badania kliniczne.

Oprócz wykorzystywania komórek macierzystych podejmuje się próby przekształcenia komórek przewodów trzustkowych. Lee i wsp. przedstawili frakcjonowanie, rozwój i konwersję komórek przewodów trzustkowych dorosłego człowieka do komórek potomnych, przypominających natywne β . Komórki przewodowe dawcy oddzielono od pozostałej tkanki i założono ich hodowlę. Za pomocą wirusów wprowadzono odpowiednie geny, by przeprogramować komórki. W rezultacie nabyły one zdolności do wytwarzania i przechowywania insuliny oraz do uwalniania jej w odpowiedzi

na glukozę. Właściwości te charakteryzują komórki β . Wyniki badań dowodzą, że przeprogramowanie genetyczne ludzkich komórek trzustki może być wykorzystane do zastąpienia wysepek Langerhansa u chorych na cukrzycę [30]. Różnicowanie komórek endokrynnych trzustki zapoczątkowuje ekspresja neurogeniny 3 (NGN3). Takie NGN3-znakowane komórki mogą przekształcić się do komórek prekursorowych α lub bipotencjalnych β/δ . Kolejny etap zależy od wzajemnego, hamującego oddziaływania dwóch genów. Przewaga ARX, a następnie represja PAX4, promuje linię α . Ekspresja PAX4 połączona z wygaszeniem ARX sprzyja powstawaniu komórek progenitorowych β/δ [33]. Celem badań jest zwiększenie aktywności genu PAX4.

Marihuana a mniejsze ryzyko cukrzycy

W ostatnim czasie powszechne stały się próby wykorzystania kannabinoidów zawartych w marihuanie w terapii różnych schorzeń. W licznych badaniach, przeprowadzonych zarówno na modelach zwierzęcych, jak i ludzkich, wykazano skuteczność leczenia nierzadko wyższą od aktualnie zalecanej terapii. W grupie chorób, w których uzyskano efekt leczniczy stosowania preparatów na bazie konopi, znajdują się między innymi stwardnienie rozsiane (SM, *sclerosis multiplex*), reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), nieswoiste zapalenie jelit, nowotwory, terapia bólu [34]. Badacze postanowili przyjrzeć się również wpływowi marihuany na cukrzycę. Główna wiedza na ten temat opiera się na porównaniu odpowiedzi na pytania postawione w kwestionariuszu z wynikami badań laboratoryjnych ankietowanych osób. Ankieta zawierała pytania dotyczące między innymi dotychczasowego stosowania marihuany. Jedną z takich analiz przeprowadził Penner i wsp., korzystając z danych *National Health and Nutrition Survey* uzyskanych od 4657 osób w wieku 20–59 lat. Wśród nich 579 paliło aktualnie marihuanę lub haszysz, 1975 paliło marihuanę, jednak nie w ciągu ostatnich 30 dni, a pozostali — 2103 osób — nie palili nigdy. Powyższe dane na temat stosowania marihuany zestawiono ze stężeniem określonych wskaźników w surowicy, na przykład insuliny, glukozy, matematycznym wskaźnikiem insulinooporności (HOMA-IR, *Homeostasis Model Assessment*) oraz obwodem pasa. Ustalono, że osoby, które paliły marihuanę w ciągu ostatniego miesiąca, miały w porównaniu z osobami jej niepalącymi niższe stężenie insuliny na czczo oraz obniżony HOMA-IR, a także mniejszy obwód pasa i wyższe stężenie cholesterolu frakcji HDL (HDL-C, *high-density lipoprotein-cholesterol*). Jednak zależności te były słabiej widoczne u osób, które nie paliły marihuany w ciągu ostatnich 30 dni, co wskazuje na to, że jej wpływ na insulinę i insulinooporność istnieje w okresach jej palenia [35].

Krok dalej w swojej analizie poszli Rajavashisth i wsp, mianowicie wyróżnili dodatkową grupę ankietowanych, którzy palili marihuanę bardzo często, to jest co najmniej 5 razy w tygodniu. Badacze zauważyli najniższą częstość występowania cukrzycy w grupie osób aktualnie palących marihuanę, jednak rzadziej niż 5 razy w tygodniu. Ankietowani, którzy palili częściej niż 5 razy w tygodniu, mieli zbliżoną częstość występowania cukrzycy do osób, które w ostatnim czasie nie paliły. Powyższe zjawisko próbuje się wytłumaczyć podobieństwem zależności, jaka występuje pomiędzy alkoholem a cukrzycą i zespołem metabolicznym, kiedy to niewielkie jego spożycie zmniejsza prawdopodobieństwo rozwoju wymienionych chorób [36], zaś większe wiąże się z ich częstszym występowaniem [37]. Kannabinoidy obecne w marihuanie to między innymi kannabidiol i Δ^9 -tetrahydrokannabinol, homolog tetrahydrokannabinolu (THC). Wykazują one antagonistyczne właściwości wobec receptorów kannabinoidowych 1 (CB1R) i prawdopodobnie dzięki temu konopie działają przeciwzapalnie [36]. Właściwości te mogą również wynikać z hamującego działania na prostaglandyny i COX [38]. Fakt niższej częstości występowania cukrzycy u palaczy marihuany wiązany jest właśnie z działaniem przeciwzapalnym marihuany. Poza tym pacjenci z otyłością lub hiperglikemią spowodowaną DM2 cechują się wyższymi stężeniami endokannabinoidu w trzewnej tkance tłuszczowej i w surowicy niż grupa kontrolna [39]. Aby dokładniej wyjaśnić zależności między paleniem marihuany a hiperglikemią i cukrzycą, potrzebne będą dalsze badania na zwierzętach i w dalszej kolejności na ludziach. Obecnie nie zaleca się stosowania marihuany w celu prewencji cukrzycy [36].

Unikatowy, niezależny od insuliny mechanizm działania inhibitorów SGLT2

Postępy w leczeniu cukrzycy dokonują się również w farmakologii. Doskonałym przykładem nowych leków są inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 (SGLT2, *sodium-glucose transport proteins*) — substancje o wyjątkowym, niezależnym od insuliny mechanizmie działania [40]. Transportery SGLT stanowią dużą grupę białek odpowiedzialnych za transport glukozy oraz jonów sodu przez błonę komórkową. Wysoka resorpcja zwrotna tego cukru za pomocą dwóch typów SGLT w kanalikach proksymalnych nerek — SGLT2 (80–90% transportu) i SGLT1 — jest niekorzystna u pacjentów z DM2 [41]. W celu zablokowania tego mechanizmu i zwiększenia wydalania glukozy z moczem opracowano nową klasę leków — specyficzne, odwracalne inhibitory SGLT2. Substancje takie jak kanagliflozyna (CFZ), dapagliflozyna (DFZ) [42] i empagliflozyna (EFZ) zostały już zatwierdzone przez *Food*

And Drug Administration (FDA) [43], inne natomiast, jak chociażby ipragliflozyna, wciąż znajdują się w fazie zaawansowanych badań klinicznych [40].

Najnowszą substancją z opisywanej grupy jest zatwierdzona przez FDA w sierpniu 2014 roku EFZ [43]. Lek ten cechuje przede wszystkim bardzo wysoka (ponad 2500 razy wyższa w porównaniu z SGLT1) selektywność wobec transportera SGLT2 [44]. Warto jednak podkreślić, że pomimo zarejestrowania do leczenia substancja ta wciąż musi jeszcze przejść serię dodatkowych badań, głównie dotyczących wpływu na układ sercowo-naczyniowy, możliwości zastosowania w leczeniu pediatrycznym czy oddziaływania na rozwój kości i nerek w modelu zwierzęcym [43].

Przeprowadzone badania kliniczne dotyczyły możliwości zastosowania EFZ zarówno w monoterapii, jak i terapii kombinowanej z innymi lekami, na przykład metforminą, pochodnymi sulfonilomocznika czy insuliną [45]. Roden i wsp. wykazali, że u pacjentów z wartościami HbA_{1c} w przedziale 7–10% nastąpił znaczący spadek tego wskaźnika, w porównaniu z grupą przyjmującą placebo, po 24 tygodniach monoterapii EFZ. U 35% pacjentów otrzymujących dawkę 10 mg i 44% pacjentów przyjmujących 25 mg EFZ wartość HbA_{1c} spadła poniżej 7%, analogiczny spadek zaobserwowano zaledwie u 12% pacjentów przyjmujących placebo. Na uwagę zasługuje także znaczne obniżenie ciśnienia skurczowego u osób przyjmujących EFZ. Podobne wyniki stwierdzono u pacjentów z wyjściową wartością HbA_{1c} powyżej 10% [46]. Häring i wsp. przeprowadzili natomiast badania skuteczności EFZ w terapii kombinowanej z metforminą. Otrzymane wyniki nie różniły się istotnie od tych zaobserwowanych przez Rodena i wsp. — w grupie osób z wyjściową wartością HbA_{1c} w przedziale 7–10% spadek do wartości poniżej 7% stwierdzono u 13% pacjentów przyjmujących placebo, 38% leczonych dawką 10 mg i 39% przyjmujących dawkę 25 mg EFZ. Podobnie jak w przypadku opisywanego wcześniej badania, tu także odnotowano znaczne obniżenie ciśnienia skurczowego. Dodatkowo, w grupie około 20% pacjentów przyjmujących EFZ w porównaniu z 5% stosujących placebo zaobserwowano spadek masy ciała o ponad 5% [47]. Zbliżone wyniki otrzymano w badaniu skuteczności EFZ w połączeniu z pochodnymi sulfonilomocznika oraz metforminą [48], jak również w kombinacji z pioglitazonem [49].

Istotną zaletą EFZ, jak również pozostałych leków z grupy inhibitorów SGLT2, jest ich korzystny profil farmakokinetyczny oraz farmakodynamiczny [45]. Na uwagę zasługuje także mała liczba działań niepożądanych, wśród których do najpoważniejszych i najczęściej występujących zalicza się hipotensję skutkującą zawrotami głowy, zasłabnięciami i pogorszeniem funkcji

nerek, a także zakażenia układu moczowego [43] oraz zapalenia jamy nosowo-gardłowej [45]. Głównym przeciwwskazaniem do stosowania EFZ jest niewydolność nerek, ale nie zaleca się również jej stosowania u pacjentów z podwyższonym poziomem kwasów ketonowych we krwi lub moczu. Empagliflozyna jest obecnie zarejestrowana wyłącznie do leczenia DM2 [43], choć trwają badania na temat jej potencjalnego zastosowania w terapii kombinowanej także w DM1. Dotychczasowe wyniki są obiecujące [50].

Do starszych leków z grupy inhibitorów SGLT2 należą CFZ i DFZ. W dawkach terapeutycznych substancje te powodują wydalanie z moczem do 100 g glukozy dziennie i obniżenie jej poziomu w osoczu bez ryzyka hipoglikemii [42]. Stosowanie DFZ powoduje spadek wartości HbA_{1c} o 0,82% przy dawce 5 mg i 0,72% przy dawce 2,5 mg względem wartości wyjściowej po 24 tygodniach monoterapii [51]. Podobne rezultaty obserwowano także w terapii kombinowanej z metforminą, gdzie w identycznym przedziale czasowym osiągnięto spadek wartości HbA_{1c} o 0,67% dla dawki 5 mg i 0,82% dla dawki 10 mg w porównaniu ze spadkiem o 0,31% przy zastosowaniu wyłącznie metforminy i placebo [52]. Obniżenie wartości HbA_{1c} utrzymało się także po przedłużeniu badania do 102 tygodni [53]. Skuteczność DFZ wykazano również w wielu innych badaniach, na przykład dotyczących stosowania łącznego z insuliną [54] lub pioglitazonem [55]. Zbliżone spadki wartości HbA_{1c} obserwowano także w przypadku drugiego z opisywanych leków — CFZ, zarówno w monoterapii, jak i w kombinacji z innymi lekami stosowanymi w terapii cukrzycy [40]. Innymi zaletami leczenia z zastosowaniem DFZ było zmniejszenie masy ciała, o 2,8% przy dawce 100 mg i 3,9% przy dawce 300 mg, oraz obniżenie ciśnienia skurczowego o 3,7 mm Hg przy dawce 100 mg i 5,4 mm Hg przy dawce 300 mg w porównaniu z placebo po 52 tygodniach terapii [56], a także modyfikacja insulinooporności, poprawa funkcji komórek β trzustki oraz zwiększenie poziomu HDL-C [40].

Pod względem profilu farmakokinetycznego i farmakokinetycznego CFZ i DFZ wykazują znaczne podobieństwo. Oba leki dobrze i szybko wchłaniają się po podaniu doustnym, przy czym CFZ należy podać przed pierwszym posiłkiem w ciągu dnia [40], zaś DFZ można stosować niezależnie od przyjmowanego pokarmu [57]. Pierwszy z omawianych leków wydalany jest z żółcią, co umożliwia jego stosowanie także w niewydolności nerek [40], w przeciwieństwie do DFZ, która wydalana jest przez nerki [57]. Warto jednak podkreślić, iż obie te substancje są przeciwwskazane u pacjentów z zaawansowaną niewydolnością nerek oraz osób dializowanych [40, 57]. Istotne jest dobra tolerancja CFZ przez pacjentów, w tym osoby cierpiące na łagodną

do umiarkowanej niewydolności nerek [40]. Podobne właściwości wykazuje też DFZ, choć w jej przypadku, ze względu na brak metabolizmu przez cytochromy wątrobowe, możliwe jest także zastosowanie przy niewydolności wątroby, jeżeli korzyści z takiej terapii przewyższają potencjalne ryzyko. Dapagliflozyna wykazuje mniej niekorzystnych interakcji z innymi lekami, ograniczając się głównie do możliwości wystąpienia hipotensji przy stosowaniu łącznym na przykład z diuretykami pętlowymi [57]. Najczęstsze działania niepożądane obu omawianych leków są zbliżone do obecnych przy stosowaniu opisanej wcześniej EFZ. Należą do nich przede wszystkim: częstsze infekcje układu moczowo-płciowego, nudności, zaparcia, zwiększone pragnienie, częstomocz oraz niewielka hiperkaliemia i hipermagnezemia [40, 57]. Dodatkowo, DFZ może wiązać się z większym ryzykiem rozwoju nowotworu pęcherza moczowego oraz częstszymi infekcjami jamy nosowo-gardłowej [57]. Obie substancje mogą być bezpiecznie stosowane w monoterapii jako początkowy lek u pacjentów, u których ćwiczenia oraz dieta nie pozwalają na uzyskanie satysfakcjonującej glikemii, jak również w kombinacji z innymi lekami hipoglikemizującymi [40, 57].

Wnioski

1. Cukrzyca wraz z powikłaniami upośledza jakość życia pacjentów oraz zwiększa śmiertelność, co skłania naukowców do poszukiwania nowych leków, które zatrzymałyby postęp choroby i pozwoliłyby na lepszą kontrolę glikemii.
2. Protektyna DX, poprzez selektywną produkcję i uwalnianie IL-6 z mięśni szkieletowych, ma wpływ na regulację gospodarki węglowodanowej. Posiada potencjał terapeutyczny w zapaleniu indukowanym lipidami i oporności na insulinę. Wyniki badań nad PDX są obiecujące, jednak potrzebne są dalsze badania kliniczne.
3. Betatrofina może okazać się niezwykle cenną substancją w terapii cukrzycy. Ma właściwość bardzo szybkiego pobudzania komórek β do proliferacji, wybiórczo pobudza tylko komórki β w obrębie trzustki, prawdopodobnie rzadko konieczne byłoby przeprowadzanie iniekcji w celach leczniczych.
4. Transplantacja wysp trzustkowych poprawia kontrolę glikemii, jednak nie stosuje się rutynowo takiej procedury. Trwają więc badania nad metodami pozyskiwania komórek. Wykorzystuje się komórki macierzyste, a także podejmuje się próby przekształcenia komórek przewodów trzustkowych.
5. Wstępne analizy sugerują mniejsze ryzyko rozwoju cukrzycy u osób palących marihuanę, jednak badacze nie zalecają takiej prewencji dopóki nie zostaną

wyjaśnione wszelkie zależności między marihuaną a hiperglikemią i cukrzycą.

6. Inhibitory SGLT2, takie jak CFZ, DFZ i EFZ, stanowią bardzo obiecujące uzupełnienie, a może nawet alternatywę dla leków hipoglikemizujących w terapii DM2 z uwagi na ich unikatowy, niezależny od insuliny mechanizm działania oraz dobrą tolerancję przez pacjentów.

Oświadczenie o konflikcie interesów

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

PIŚMIENICTWO

1. Sieradzki J. Cukrzyca i zespół metaboliczny. W: Gajewski P. (red.). Interna Szczeklika 2012. Medycyna Praktyczna, Kraków 2012: 1322–1330.
2. Chojnowski P., Wasyluk J., Grabska-Liberek I. Cukrzyca — epidemiologia i patogeneza. Postępy Nauk Medycznych 2009; 6: 420–428.
3. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Cukrzyca. Ukryta pandemia. Sytuacja w Polsce. http://pfed.home.pl/files/raport_ukryta_pandemia_2012.pdf (dostęp 08.07.2014).
4. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 6th edition. http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf (dostęp 08.07.2014).
5. American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. Diabetes Care 2013; 36: 1033–1046.
6. Depablos-Velasco P., Salguero-Chaves E., Mata-Poyo J., Derivas-Otero B., García-Sánchez R., Viguera-Ester P. Quality of life and satisfaction with treatment in subjects with type 2 diabetes: results in Spain of the PANORAMA study. Endocrinol Nutr. 2014; 61: 18–26.
7. Tatoń J., Czech A., Bernas M. Diabetologia kliniczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008: 33.
8. White P.J., Marette A. Is omega-3 key to unlocking inflammation in obesity? Diabetologia 2006; 49: 1999–2001.
9. Hotamisligil G.S. Inflammation and metabolic disorders. Nature 2006; 444: 860–867.
10. White P.J., Arita M., Taguchi R., Kang J.X., Marette A. Transgenic restoration of long-chain n-3 fatty acids in insulin target tissues improves resolution capacity and alleviates obesity-linked inflammation and insulin resistance in high-fat-fed mice. Diabetes 2010; 59: 3066–3073.
11. Li X., Li C., Liang W., Bi Y., Chen M., Dong S. Protectin D1 promotes resolution of inflammation in a murine model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury via enhancing neutrophil apoptosis. Chin. Med. J. (Engl.). 2014; 127: 810–814.
12. Filipczyk L., Wystrychowski A. Wygaszanie reakcji zapalnej przez pochodne ω -3 i ω -6 wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Nephrol. Dial. Pol. 2011; 15: 43–52.
13. Schwab J.M., Chiang N., Arita M., Serhan C.N. Resolvin E1 and Protectin D1 Activate Inflammation-Resolution Programs. Nature 2007; 447: 869–874.
14. Balas L., Guichardant M., Durand T., Lagarde M. Confusion between protectin D1 (PD1) and its isomer protectin DX (PDX). An overview on the dihydroxy-docosatrienes described to date. Biochimie 2014; 99: 1–7.
15. Liu M., Boussetta T., Makni-Maalej K. i wsp. Protectin DX, a double lipoygenase product of DHA, inhibits both ROS production in human neutrophils and cyclooxygenase activities. Lipids 2014; 49: 49–57.
16. White P.J., St-Pierre P., Charbonneau A. i wsp. Protectin DX alleviates insulin resistance by activating a myokine-liver glucoregulatory axis. Nature Medicine 2014; 20: 664–669.

17. Saini A., Faulkner S. H., Moir H., Warwick P., King J.A., Nimmo M.A. Interleukin-6 in combination with the interleukin-6 receptor stimulates glucose uptake in resting human skeletal muscle independently of insulin action. *Diabetes Obes. Metab.* 2014; 16: 931–936.
18. White P.J. Obesity-linked insulin resistance, inflammation, and omega-3 fatty acids: exploring the anti-diabetic potential of novel omega-3 derived pro-resolution mediators. *Faculté de Médecine, Université Laval, Québec* 2012: 130–132.
19. Bastard J.P., Maachi M., Lagathu C. i wsp. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur. Cytokine Netw.* 2006; 17: 4–12.
20. Teta M., Long S.Y., Wartschow L.M., Rankin M.M., Kushner J.A. Very slow turnover of beta-cells in aged adult mice. *Diabetes* 2005; 54: 2557–2567.
21. Meier J.J., Butler A.E., Saisho Y. i wsp. Beta-cell replication is the primary mechanism subserving the postnatal expansion of beta-cell mass in humans. *Diabetes* 2008; 57: 1584–1594.
22. Yi P., Park J.S., Melton D.A. Betatrophin: a hormone that controls pancreatic beta cell proliferation. *Cell* 2013; 153: 747–758.
23. Espes D., Lau J., Carlsson P.O. Increased circulating levels of betatrophin in individuals with long-standing type 1 diabetes. *Diabetologia* 2014; 57: 50–53.
24. Espes D., Martinell M., Carlsson P.O. Increased circulating betatrophin concentrations in patients with type 2 diabetes. *Int. J. Endocrinol.* 2014: 323407.
25. Raghov R. Betatrophin: a liver-derived hormone for the pancreatic β -cell proliferation. *World J. Diabetes.* 2013; 4: 234–237.
26. Jiao Y., Le Lay J., Yu M., Naji A., Kaestner K.H. Elevated mouse hepatic betatrophin expression does not increase human β -cell replication in the transplant setting. *Diabetologia* 2014; 63: 1283–1288.
27. Stewart A.F. Betatrophin Versus bitter-trophin and the elephant in the room: Time for a new normal in β -cell regeneration research. *Diabetes* 2014; 63: 1198–1199.
28. Rowiński W., Durlik M. Przeszczepianie trzustki. W: Rowiński W., Wałaszewski J., Pęczak L. red. *Transplantologia kliniczna. PZWL, Warszawa* 2004: 385–393.
29. Lablanche S., Borot S., Thauan O. i wsp. Impact of anti-insulin antibodies on islet transplantation outcome: Data from the GRAGIL Network. *Transplantation* 2014; 98: 475–482.
30. Lee J., Sugiyama T., Liu Y. i wsp. Expansion and conversion of human pancreatic ductal cells into insulin-secreting endocrine cells. *Elife* 2013; 2: e00940.
31. Fujikawa T., Oh S.H., Pi L., Hatch H.M., Shupe T., Petersen B.E. Teratoma formation leads to failure of treatment for type 1 diabetes using embryonic stem cell-derived insulin-producing cells. *Am. J. Pathol.* 2005; 166: 1781–1791.
32. Santamaria X., E Massasa E., Feng Y., Wolff E., S Taylor H. derivation of insulin producing cells from human endometrial stromal stem cells and use in the treatment of murine diabetes. *Moll. Ther.* 2011; 19: 2065–2071.
33. Courtney M., Pfeifer A., Al-Hasani K. i wsp. In vivo conversion of adult α -cells into β -like cells: a new research avenue in the context of type 1 diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 2011; 13: 47–52.
34. Tkaczyk M., Florek E., Piekoszewski W. Marihuana i kanabinoidy jako leki. *Przegląd Lekarski* 2012; 69: 1095–1097.
35. Penner A., Buettner H., Mittleman M.A. The impact of marijuana use on glucose, insulin, and insulin resistance among US adults. *Am. J. Med.* 2013; 126: 583–589.
36. Rajavashisth T.B., Shaheen M., Norris K.C. i wsp. Decreased prevalence of diabetes in marijuana users: cross-sectional data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III. *BMJ Open* 2012; 2: 1–11.
37. Fan A.Z., Russell M., Naimi T. i wsp. Patterns of alcohol consumption and the metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: 3833–3838.
38. Patrignani P., Tacconelli S., Ciulli M.G. i wsp. New insights into COX-2 biology and inhibition. *Brain Research Review.* 2005; 48: 352–359.
39. Matias I., Gonthier M.P., Orlando P. i wsp. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and β -pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91: 3171–3180.
40. Bhatia J., Gamad N., Bharti S., Arya D.S. Canagliflozin — current status in the treatment of type 2 diabetes mellitus with focus on clinical trial data. *World J. Diabetes* 2014; 5: 399–406.
41. Wright E.M., Loo D.D., Hirayama B.A. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev.* 2011; 91: 733–794.
42. Ghezzi C., Hirayama B.A., Gorraitz E., Loo D.D., Liang Y., Wright E.M. SGLT2 inhibitors act from the extracellular surface of the cell membrane. *Physiol Rep.* 2014; 2: e12058.
43. U.S. Food and Drug Administration. FDA approves Jardiance to treat type 2 diabetes [online]. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm407637.html> (dostęp 29.09.2014).
44. Grempler R., Thomas L., Eckhardt M., Himmelsbach F., Sauer A., Sharp D.E. i wsp. Empagliflozin, a novel selective sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor: characterisation and comparison with other SGLT-2 inhibitors. *Diabetes Obes. Metab.* 2012; 14: 83–90.
45. McGill J.B. The SGLT2 inhibitor empagliflozin for the treatment of type 2 diabetes mellitus: a bench to bedside review. *Diabetes Ther.* 2014; 5: 43–63.
46. Roden M., Weng J., Eilbracht J. i wsp. Empagliflozin monotherapy with sitagliptin as an active comparator in patients with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1: 208–219.
47. Häring H.U., Merker L., Seewaldt-Becker E. i wsp. Empagliflozin as add-on to metformin for 24 weeks improves glycemic control in patients with type 2 diabetes (T2DM). *Diabetes* 2013; 62: A282.
48. Häring H.U., Merker L., Seewaldt-Becker E. i wsp. Empagliflozin as add-on to metformin plus sulfonyleurea in patients with type 2 diabetes: a 24-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Care* 2013; 36: 3396–3404.
49. Kovacs C.S., Seshiah V., Swallow R. i wsp. Empagliflozin improves glycaemic and weight control as add-on therapy to pioglitazone or pioglitazone plus metformin in patients with type 2 diabetes: a 24-week, randomized, placebo-controlled trial. *Diabetes Obes. Metab.* 2014; 16: 147–158.
50. Lamos E.M., Davis S.N. Empagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, in the treatment of type 1 diabetes. *Expert Opin. Invest. Drugs* 2014; 23: 875–882.
51. Bailey C.J., Iqbal N., T'joen C., List J.F. Dapagliflozin monotherapy in drug-naive patients with diabetes: a randomized-controlled trial of low-dose range. *Diabetes Obes. Metab.* 2012; 14: 951–959.
52. Bailey C.J., Gross J.L., Pieters A., Bastien A., List J.F. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 2223–2233.
53. Bailey C.J., Gross J.L., Hennicken D. i wsp. Dapagliflozin add-on to metformin in type 2 diabetes inadequately controlled with metformin: a randomized, double-blind, placebo-controlled 102-week trial. *BMC Med.* 2013; 11: 43.
54. Wilding J.P., Woo V., Soler N.G. i wsp. Long-term efficacy of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus receiving high doses of insulin. *Ann. Intern. Med.* 2012; 156: 405–415.
55. Rosenstock J., Vico M., Wei L., Salsali A., List J.F. Effects of dapagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on HbA(1c), body weight, and hypoglycemia risk in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on pioglitazone monotherapy. *Diabetes Care* 2012; 35: 1473–1478.
56. Yale J.F., Bakris G., Cariou B. i wsp. Efficacy and safety of canagliflozin over 52 weeks in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease. *Diabetes Obes. Metab.* 2014; 16: 1016–1027.
57. Salvo M.C., Brooks A.D., Thacker S.M. Patient considerations in the management of type 2 diabetes — critical appraisal of dapagliflozin. *Patient Prefer. Adherence* 2014; 8: 493–502.