

# SGLT<sub>2</sub> inibitori: farmaci innovativi e promettenti per il trattamento del diabete

Anna Solini

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa

**I**l diabete è una malattia estremamente complessa, alla cui patogenesi concorrono l'alterata funzione  $\beta$ - e  $\alpha$ -cellulare pancreatica e l'insulino-resistenza periferica (1, 2). Numerose condizioni cliniche, in primo luogo l'obesità, possono favorire lo sviluppo della malattia, la cui incidenza e prevalenza sono in allarmante aumento sia nei paesi industrializzati sia in quelli in via di sviluppo (3). Questa realtà clinica così complessa ha polarizzato gli sforzi e gli interessi della ricerca farmacologica degli ultimi dieci anni, volta a sviluppare composti in grado di correggere l'iperglicemia senza determinare un incremento ponderale. Inoltre, la graduale perdita di funzione  $\beta$ -cellulare, combinata a un progressivo peggioramento della risposta all'insulina da parte dei tessuti periferici, provoca una inevitabile riduzione nel tempo dell'efficacia dei diversi farmaci orali usati nel trattamento dell'iperglicemia, rendendo sempre più impellente la necessità di sperimentare nuovi composti attivi per os che agiscono tramite meccanismi non insulino-dipendenti.

A questo proposito, tra pochi mesi una classe di farmaci con un meccanismo d'azione del tutto innovativo dovrebbe aggiungersi al nostro armamentario terapeutico: si tratta degli inibitori del trasportatore renale sodio (Na)-glucosio di tipo 2 (SGLT<sub>2</sub>) che agiscono inibendo il riassorbimento tubulare renale del glucosio, promuovendone la escrezione urinaria (4, 5). Questa breve rassegna ha lo scopo di illustrare il meccanismo d'azione, le caratteristiche cliniche, le indicazioni e i potenziali limiti all'uso di questi composti.

## Ruolo del rene nel metabolismo glucidico

Per descrivere in modo schematico il meccanismo d'azione e le principali caratteristiche degli SGLT<sub>2</sub> inibitori è utile partire dalla fisiologia dell'omeostasi del glucosio. In condizioni normali essa è garantita dalla regolazione ormonale della produzione epatica di glucosio - operata essenzialmente dall'insulina con il concorso degli ormoni controregolatori - e della utilizzazione periferica del glucosio (1). Un soggetto normale ha un contenuto corporeo totale di glucosio pari a circa 450 g. Il *turnover* giornaliero interessa poco più della metà di questo pool; circa 125 g sono consumati dal cervello, la metà rimanente da tutti gli altri organi e apparati: di questi 250 g, circa 180 g provengono dalla dieta e 70 g sono frutto di produzione endogena (gluconeogenesi e glicogenolisi). Il rene svolge un ruolo rilevante nel mantenimento dell'omeostasi del glucosio. Infatti contribuisce alla sua produzione endogena nello stato post-assorbimento, partecipando alla gluconeogenesi in ragione del 20-25%; questo processo è interamente a carico della corticale (6). Nel rene non avviene glicogenolisi. È però intuitivo come esso contribuisca al mantenimento di una glicemia stabile soprattutto filtrando e riassorbendo per intero il gluco-

### FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un **percorso di formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID (<http://sidfad.accmec.org>).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line ai quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

Per ulteriori informazioni: <http://sidfad.accmec.org>

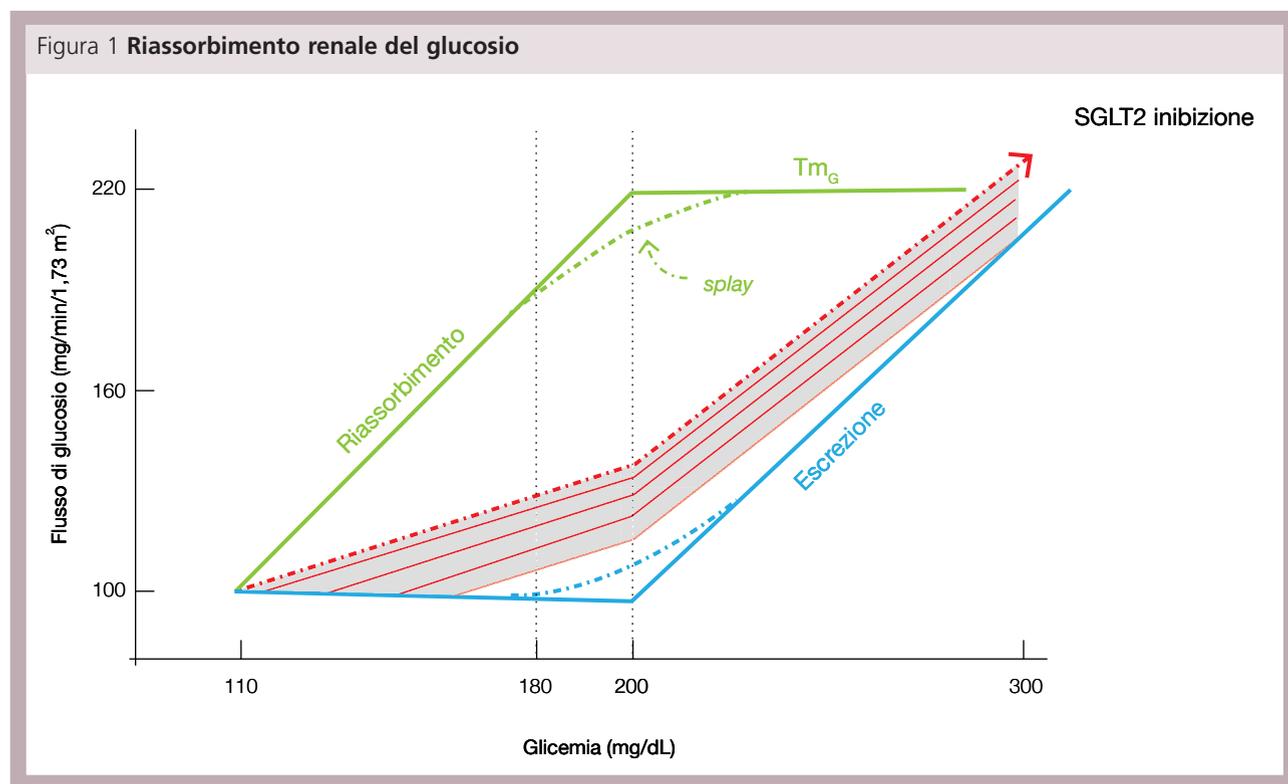
sio plasmatico. In un soggetto normoglicemico con funzione renale conservata il rene filtra circa 180 L di sangue al giorno, a cui corrispondono circa 180 g di glucosio che vengono quasi completamente riassorbiti a livello del tubulo prossimale, tanto che meno di 0,5 g/die di glucosio vengono escreti giornalmente con le urine (7).

In presenza di iperglicemia il carico di glucosio filtrato dal glomerulo aumenta in modo lineare; a ciò corrisponde un progressivo incremento del riassorbimento tubulare. Quando il glucosio che entra nel nefrone sale al di sopra dei 260–300 mg/min/1,73m<sup>2</sup> la capacità riassorbitiva massima del tubulo ( $T_{max}$ ) viene superata e compare la glicosuria, cosa che si verifica per valori glicemici mediamente superiori a 180–200 mg/dL. In questa ottica, la glicosuria può essere considerata un meccanismo di difesa che il rene cerca di fornire nei confronti degli effetti deleteri della glucotossicità. In realtà, non vi è un punto preciso e netto oltre cui questo avviene e il cosiddetto *splay* rappresenta l'escrezione urinaria di glucosio che avviene prima della saturazione (cioè

del raggiungimento del  $T_{max}$ ) ed è spiegata dal fatto che un certo numero di nefroni può rilasciare glucosio anche a una soglia un po' più bassa o altri a una soglia un po' più alta, nonché dalla relativamente bassa affinità dei cotrasportatori (8, 9). Questo meccanismo è schematicamente riportato nella Figura 1.

### Trasportatori renali del glucosio: caratteristiche e meccanismo d'azione

Il glucosio filtrato dal glomerulo è riassorbito prevalentemente a livello del segmento S1 del tubulo prossimale da trasportatori Na/glucosio di tipo 2. Nel tubulo renale, a livello del segmento S3, è rappresentato anche un altro trasportatore, quello di tipo 1, complementare all'altro. Lo SGLT1 è abbondantemente espresso a livello intestinale, dove è il principale responsabile dell'assorbimento di glucosio e galattosio attraverso l'orletto a spazzola dell'enterocita. Questo trasportatore contribuisce al riassorbimento tubulare renale del glucosio in



All'aumentare della glicemia il riassorbimento tubulare del glucosio aumenta progressivamente (linea verde continua). Per valori glicemici inferiori a 180–200 mg/dL, tutto il glucosio filtrato è riassorbito e non vi è escrezione. Al di sopra di questi valori la capacità massima del tubulo renale di riassorbire glucosio ( $T_{max}$ ) è oltrepassata e il glucosio passa nelle urine (linea blu continua). Questo "valore soglia" è, in realtà, variabile e le linee curve tratteggiate rappresentano il cosiddetto *splay*, cioè la possibilità che vi sia escrezione urinaria di glucosio prima del raggiungimento del  $T_{max}$ . La linea rossa tratteggiata e la sottostante area grigia rappresentano come si dispone ipoteticamente l'escrezione di glucosio quando il riassorbimento renale del medesimo è ridotto dagli SGLT2 inibitori

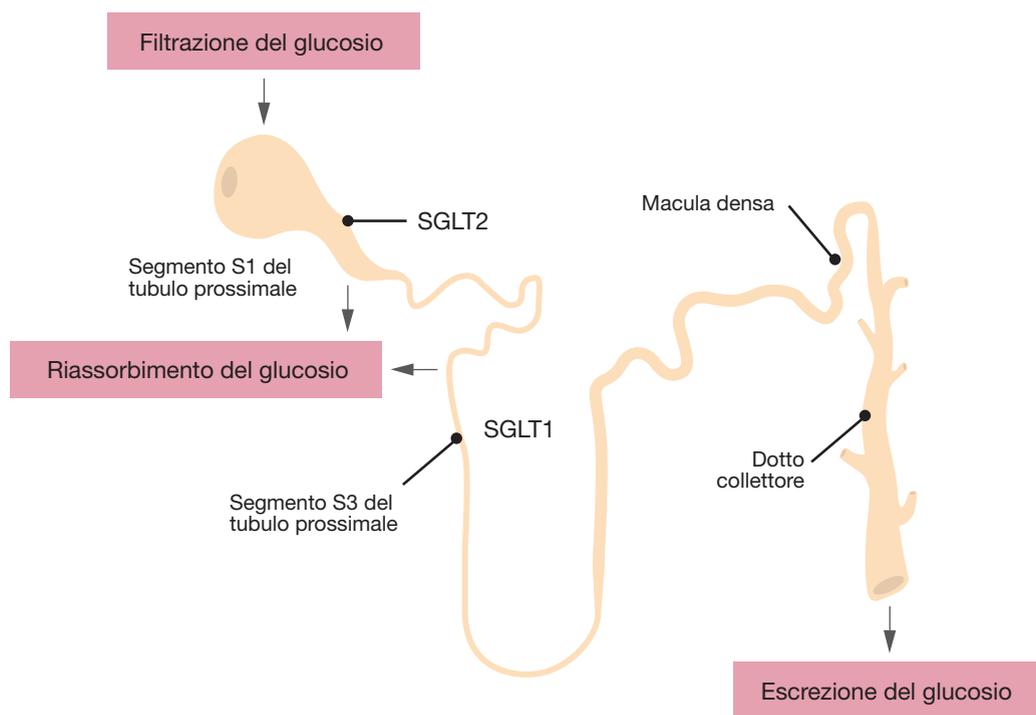
ragione di circa il 10%; si tratta di un trasportatore dotato di alta affinità e bassa capacità per il glucosio, con un rapporto stechiometrico Na/glucosio di 2. Lo SGLT2, come visibile nella Figura 2, ha invece una localizzazione pressoché esclusiva nella prima porzione del tubulo prossimale renale e media il 90% del riassorbimento renale del glucosio. È dotato di bassa affinità e alta capacità per il glucosio, con un rapporto stechiometrico Na/glucosio di 1 (10, 11).

Lo SGLT2 ha il compito di trasferire il Na e il glucosio dal lume all'interno del citoplasma delle cellule tubulari attraverso un meccanismo secondario di trasporto attivo. Al polo opposto della cellula, cioè a livello della membrana basolaterale, il GLUT2 trasferisce a sua volta la molecola di glucosio dallo spazio intracellulare all'interstizio e al torrente circolatorio mediante un meccanismo di trasporto facilitato, con l'intervento di una Na/K ATPasi (12).

Nell'animale da esperimento è stata dimostrata una significativa correlazione tra livelli glicemici ed espres-

sione renale di SGLT2, che viene *down*-regolata dalla correzione dell'iperglicemia con una infusione di insulina (13). Nell'uomo ci sono pochissimi dati che abbiano effettivamente documentato una aumentata espressione di questo trasportatore nel diabete. Il lavoro più significativo è probabilmente quello che ha descritto un incremento dell'espressione proteica di SGLT2 in cellule di epitelio tubulare renale raccolte dalle urine di pazienti e controlli e messe in coltura (14). In queste cellule di pazienti diabetici sembra essere aumentata anche la captazione cellulare di glucosio, misurata con l' $\alpha$ -metil-glucosio, che quantifica il trasporto operato soprattutto via SGLT2 piuttosto che via GLUT. Nel diabete tipo 2 (DMT2), oltre un certo livello di glicemia, vi è una relazione diretta tra valori glicemici ed escrezione di glucosio ed è stata documentata una persistenza della glicosuria anche quando la glicemia ritorna a livelli normali (15). Un altro contributo interessante è quello fornito da Hummel che ha documentato come in un modello sperimentale di cellule renali umane lo

Figura 2 **Rappresentazione schematica della distribuzione dei cotrasportatori sodio-glucosio lungo un nefrone idealmente "srotolato"**



La macula densa è di norma posizionata a ridosso del polo vascolare del glomerulo

SGLT2 lavori al 50% delle sue capacità e si saturi solo per glicemie superiori a 35 mM, cioè oltre 600 mg/dL (16).

Da quanto detto appare chiaro come una molecola in grado di correggere l'iperglicemia favorendo l'escrezione urinaria del glucosio attraverso l'inibizione dello SGLT2, che non interferisca con la  $\beta$ -cellula (evitando quindi di esporre il paziente al rischio di iperglicemia), né con gli effetti periferici dell'insulina appare estremamente promettente. A ciò si aggiunge il fatto che una aumentata perdita di glucosio con le urine, se quantitativamente rilevante, si traduce in una perdita cospicua di calorie e quindi, potenzialmente, in un meccanismo in grado di indurre calo ponderale nel paziente.

Il capostipite di questa classe di composti è la florizina, un derivato della corteccia del melo, le cui proprietà di ridurre i livelli glicemici attraverso un aumento dell'escrezione urinaria di glucosio furono identificate già alla fine degli anni '60 e approfondite in importanti studi condotti negli anni '80 nell'animale diabetico (17-19). Il possibile uso della florizina nell'uomo fu però successivamente limitato dalla sua tossicità, dalla scarsa selettività e dalla pressoché nulla efficacia di questo composto quando somministrato per via orale, attribuibile sia alla breve emivita sia al suo scarso assorbimento intestinale. Negli ultimi 10 anni si è poi tornati a sviluppare questo filone di ricerca, con risultati sempre più promettenti, frutto sostanzialmente della sintesi di composti in cui un gruppo lipofilo si aggiunge alla originale struttura ad anello della florizina. Questa modifica aumenta la selettività e potenza dell'effetto inibitorio sul SGLT2, con la proprietà di abbassare il  $T_{max}$  per il glucosio, permettendo quindi la comparsa di glicosuria per valori glicemici inferiori a quelli della cosiddetta soglia renale; inoltre la molecola è resa più stabile dall'aggiunta di un legame C-glucoside (20).

Vari SGLT2 inibitori sono attualmente in diverse fasi di sviluppo clinico (Tabella 1) e quattro di essi sono in fase III: canagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin, ipragliflozin. La molecola per la quale esistono la maggior quantità di dati pubblicati è dapagliflozin, che sarà verosimilmente la prima ad essere commercializzata anche in Italia.

## Effetti clinici degli SGLT2 inibitori

Gli SGLT2 inibitori sono attivi anche nel soggetto normale: ad esempio, in uno studio placebo-controllato canagliflozin riduce in modo dose-dipendente la soglia

renale per il glucosio (con una riduzione massima calcolata di circa 60 mg/dL), diminuendo consensualmente le escursioni glicemiche post-prandiali e le corrispondenti concentrazioni plasmatiche di insulina (21).

Quando usati in monoterapia in pazienti con DMT2, questi composti sono in grado di ridurre in modo dose-dipendente l'emoglobina glicata ( $HbA_{1c}$ ) e il peso corporeo, con cali di  $HbA_{1c}$  medi intorno allo 0,8% e decrementi ponderali che si attestano mediamente intorno ai 2,5 kg (22, 23). Lo stesso tipo di effetto si osserva quando il farmaco viene utilizzato come *add-on* alla metformina, come mostrato in alcuni studi della durata di 6-12 mesi (24, 25). Sono disponibili anche alcuni studi di confronto tra SGLT2 inibitori e altri ipoglicemizzanti orali che documentano la non inferiorità di queste molecole nell'indurre un miglioramento del compenso metabolico a fronte, però, di una percentuale significativamente minore di pazienti che andavano incontro, nel corso di questi trial, a episodi ipoglicemici. In uno studio della durata di 52 settimane il 40% dei soggetti trattati con glipizide manifestava più di un episodio ipoglicemico, mentre tra i pazienti randomizzati a SGLT2 inibitore questa percentuale era inferiore al 5% (26).

Questi composti, usati come *add-on* alla metformina, sembrano avere un effetto ipoglicemizzante analogo a quello osservato con l'associazione metformina + dipeptidil-peptidasi (DPP)-IV inibitore (25). Inoltre,

Tabella 1 SGLT2 inibitori in diverse fasi di sviluppo

Fase di sviluppo	Composto	Azienda
Fase III	Canagliflozin	Johnson&Johnson
	Dapagliflozin	AstraZeneca/ Bristol Myers Squibb
	Empagliflozin	Boehringer Ingelheim
	Ipragliflozin	Astellas
Fase II	AVE-2268	Sanofi-Aventis
	TS-033	Taisho
	YM-543	Astellas/ Kotobuki Pharm
	CSG-452A	Chugai-Roche
Fase I	ISIS 388626	ISIS
	SAR-7226	Sanofi-Aventis
	TA-7284	Mitsubishi Tanabe/ Johnson&Johnson

sono ormai disponibili i risultati di diversi studi in cui lo SGLT2 inibitore è stato usato in combinazione con la sola insulina o con insulina + agenti orali. Anche nell'ambito di questa combinazione terapeutica gli SGLT2 inibitori si dimostrano efficaci nel migliorare il controllo metabolico, stabilizzare il fabbisogno insulinico e ridurre il peso corporeo (27–29).

A proposito dell'effetto di questi composti sulla diminuzione del peso corporeo, si riteneva inizialmente che esso fosse dovuto in modo pressoché esclusivo all'effetto diuretico del farmaco, essendo il glucosio una molecola osmoticamente attiva in grado, come è noto, di richiamare acqua. Un recente studio a 24 settimane con dapagliflozin usato come *add-on* a metformina ha però documentato, mediante l'uso della assorbimetria a raggi X a doppia energia (DEXA), che vi è una riduzione effettiva della massa grassa, quantificando una reale perdita di tessuto adiposo a carico sia del tessuto viscerale sia di quello sottocutaneo (30). Per quanto riguarda invece la durezza di questo effetto, gli studi condotti sinora non permettono di fornire certezze in merito. Va comunque sottolineato come il protrarsi della glicosuria induca, almeno nell'animale da esperimento, una iperfagia (31), suggerendo la necessità di combinare l'assunzione degli SGLT2 inibitori con un adeguato controllo dell'apporto calorico, in modo da non vanificare l'effetto benefico sul peso corporeo esercitato da questi farmaci.

Una caratteristica degli SGLT2 inibitori è, come abbiamo sottolineato, quella di agire attraverso un meccanismo che prescinde completamente dallo stato della  $\beta$ -cellula e dalla presenza o meno di insulino-resistenza. Tuttavia, in virtù della loro capacità di ridurre la glucotossicità, questi farmaci sembrano avere effetti benefici indiretti sulla funzione pancreatica endocrina. L'uso di canagliflozin si associa a un miglioramento significativo dell'indice *homeostasis model assessment* (HOMA)2-B%, calcolato utilizzando glicemia e C-peptide basali e dopo 12 settimane di trattamento (25).

In relazione al loro peculiare meccanismo d'azione gli SGLT2 inibitori presentano altri effetti non trascurabili per rilevanza clinica. Ad esempio abbassano in modo rilevante la pressione arteriosa, con riduzioni medie di 4–5 mmHg per la sistolica e 1,5–2 mmHg per la diastolica descritte nei vari studi (24, 26, 28). Un altro effetto positivo, peraltro non segnalato in tutti gli studi, è una consistente diminuzione dei livelli plasmatici di acido urico (24, 32). Un pochino più dibattuti sono gli effetti sul profilo lipidico, con un incostante aumento

delle HDL e una riduzione modesta ma significativa dei trigliceridi. La prudenza mi induce ad affermare che è stata comunque attestata una sostanziale neutralità degli SGLT2 inibitori sul profilo lipidico (24, 25).

Nonostante gli studi clinici controllati condotti con SGLT2 inibitori siano in costante aumento, l'esperienza sin qui accumulata non consente di fornire alcuna indicazione su potenziali effetti protettivi di questi composti nei confronti della morbidità cardiovascolare. Gli unici dati disponibili sono quelli forniti dalla *Food and Drug Administration* (FDA, USA) per dapagliflozin, che riportano un *hazard ratio* di 0,67 (95% CI 0,42–1,08) per un *endpoint* cardiovascolare composito che comprendeva morte, *stroke* non fatale, infarto miocardico non fatale e ospedalizzazione per angina (33).

## Effetti collaterali e limitazioni all'uso

Nell'ambito delle esperienze cliniche sinora disponibili (quindi di durata medio-breve), gli SGLT2 inibitori sono generalmente molto ben tollerati. Gli effetti indesiderati più comuni sono quelli attesi in relazione al loro meccanismo d'azione che induce una glicosuria protratta, e quindi: infezioni del tratto genito-urinario, effetti legati all'azione diuretica e infine potenziali effetti indesiderati di questi composti sulla funzione renale.

Per quanto riguarda le infezioni urinarie, esse appaiono prevalentemente determinate da germi opportunistici, sono più comuni nel sesso femminile e interessano quasi esclusivamente pazienti predisposti, ad esempio donne con anamnesi positiva per infezioni del tratto genito-urinario o in epoca post-menopausa. Inoltre, l'incidenza si riduce con il protrarsi del trattamento, probabilmente per lo svilupparsi di fenomeni di adattamento (24, 32). Se si analizzano i dati disponibili sul sito dell'FDA, relativi all'intera coorte di pazienti sinora trattati con SGLT2 inibitori nel corso dei vari trial clinici, ci si rende conto che si tratta, in realtà, di percentuali molto piccole. Queste infezioni rispondono al trattamento standard e non hanno determinato significativi *dropout* nei vari studi esaminati. Non sono state osservate differenze tra farmaco e placebo nell'incidenza di infezioni del tratto urinario superiore.

L'effetto di diuresi osmotica induce un'altra conseguenza attesa, cioè un modesto aumento dell'ematokrito, con una mediana attorno ai due punti percentuali (24). Non sono mai stati pubblicati lavori che abbiano analizzato l'andamento della funzione renale in corso

di trattamento protratto con SGLT2 inibitori. Si possono trarre informazioni rassicuranti dal sito web dell'FDA (<http://www.fda.gov/>), che documentano per dapagliflozin come il filtrato glomerulare, dopo un iniziale e transitorio calo, si stabilizzi su valori che sono analoghi a quelli di partenza. Va comunque precisato come la piena efficacia terapeutica di questi farmaci sia, intuitivamente, legata alla presenza di una funzione renale conservata. Altre potenziali considerazioni da fare sulla maneggevolezza e sul sicuro impiego di questi composti riguardano il fastidio indotto da una eventuale nicturia, il sospetto di alterazioni elettrolitiche (non confermato sulle diuresi delle 24 ore) un modestissimo aumento dei fosfati e del paratormone (26, 32). Si tratta, verosimilmente, di un modesto iperparatiroidismo secondario, in apparente assenza di effetti sulla formazione e sul riassorbimento osseo (34).

## Conclusioni

Gli SGLT2 inibitori sono una classe di farmaci dall'interessante e innovativo meccanismo d'azione che si dimostrano in grado di esercitare effetti metabolici benefici nel paziente con diabete. Inducono infatti una significativa escrezione urinaria del glucosio in eccesso, con conseguente riduzione della glucotossicità, soprattutto sulla  $\beta$ -cellula, con un suo possibile recupero funzionale. Determinano inoltre un calo ponderale e contribuiscono alla riduzione dei valori di pressione sistolica e diastolica e dei livelli plasmatici di acido urico. Tra i vantaggi di questi composti vi sono la via di somministrazione, che è quella orale, la completa indipendenza della loro azione dall'insulina e il basso rischio di indurre ipoglicemie. Queste caratteristiche ne permettono l'impiego in qualunque fase della malattia diabetica e ne fanno farmaci potenzialmente utili anche nel trattamento del diabete tipo 1. Naturalmente studi di durata più protratta e condotti su ampie casistiche dovranno chiarire meglio altri aspetti legati all'utilizzo di questi farmaci, quali l'andamento nel lungo termine delle infezioni genito-urinarie a cui il loro uso predispone, la loro efficacia in pazienti con funzione renale compromessa, la presenza di possibili effetti negativi sulla funzione tubulare renale, il rischio connesso ai meccanismi attraverso cui questi composti riducono la pressione, che ne suggerirebbero una controindicazione relativa in pazienti anziani, a rischio di disidratazione o con ipotensione posturale.

## Bibliografia

1. DeFronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* 58: 773–795, 2009.
2. Meier JJ, Ueberberg S, Korbas S, et al. Diminished glucagon suppression after  $\beta$ -cell reduction is due to impaired  $\alpha$ -cell function rather than an expansion of  $\alpha$ -cell mass. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300: E717–E723, 2011.
3. Smyth S, Heron A. Diabetes and obesity: The twin epidemics. *Nat Med* 12: 75–80, 2006.
4. Ghosh RK, Ghosh SM, Chawla S, et al. SGLT2 inhibitors: A new emerging therapeutic class in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Pharmacol* 52: 457–463, 2012.
5. Ferrannini E, Solini A. SGLT2 inhibition in diabetes mellitus: Rationale and clinical prospects. *Nat Rev Endocrinol* 8: 495–502, 2012.
6. Gerich JE. Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycemia of diabetes mellitus: Therapeutic implications. *Diabet Med* 27: 136–142, 2010.
7. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 9th ed. Philadelphia (PA): WB Saunders Company 332–335, 1996.
8. Ruhnau B, Faber OK, Borch-Johnsen K, et al. Renal threshold for glucose in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 36: 27–33, 1997.
9. Wright EM, Hirayama BA, Loo DF. Active sugar transport in health and disease. *J Intern Med* 261: 32–43, 2007.
10. Kanai Y, Lee W-S, You GY, et al. The human kidney low affinity Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter SGLT2. *J Clin Invest* 93: 397–404, 1994.
11. Wright EM. Renal Na<sup>+</sup>-glucose cotransporters. *Am J Renal Physiol* 280: F10–F18, 2001.
12. Bakris GL, Fonseca VA, Sharma K, et al. Renal sodium-glucose transport: Role in diabetes mellitus and potential clinical implications. *Kidney Int* 75: 1272–1277, 2009.
13. Freitas HS, Anhê GF, Melo KF, et al. Na<sup>+</sup> -glucose transporter-2 messenger ribonucleic acid expression in kidney of diabetic rats correlates with glycemic levels: Involvement of hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  expression and activity. *Endocrinology* 149: 717–724, 2008.
14. Rahmoune H, Thompson PW, Ward JM, et al. Glucose transporters in human renal proximal tubular cells isolated from the urine of patients with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 54: 3427–3434, 2005.
15. Rave K, Nosek L, Posner J, et al. Renal glucose excretion as a function of blood glucose concentration in subjects with type 2 diabetes - results of a hyperglycaemic glucose clamp study. *Nephrol Dial Transplant* 21: 2166–2171, 2006.
16. Hummel CS, Lu C, Loo DD, et al. Glucose transport by human renal Na<sup>+</sup>/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2. *Am J Physiol Cell Physiol* 300: C14–21, 2011.
17. Kolodny EH, Kline R, Altszuler N. Effect of phlorizin on hepatic glucose output. *Am J Physiol* 202: 149–154, 1962.
18. Rossetti L, Smith D, Shulman GI, et al. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *J Clin Invest* 79: 1510–1515, 1987.
19. Kahn BB, Shulman GI, DeFronzo RA, et al. Normalization of blood glucose in diabetic rats with phlorizin treatment reverses

- insulin-resistant glucose transport in adipose cells without restoring glucose transporter gene expression. *J Clin Invest* 87: 561–570, 1991.
20. Ellsworth BA, Meng W, Patel M, et al. Aglycone exploration of C-arylglucoside inhibitors of renal sodium-dependent glucose transporter SGLT2. *Bioorg Med Chem Lett* 18: 4770–4773, 2008.
  21. Sha S, Devineni D, Ghosh A, et al. Canagliflozin, a novel inhibitor of sodium glucose co-transporter 2, dose dependently reduces calculated renal threshold for glucose excretion and increases urinary glucose excretion in healthy subjects. *Diabetes Obes Metab* 13: 669–672, 2011.
  22. Zhang L, Feng Y, List J, et al. Dapagliflozin treatment in patients with different stages of type 2 diabetes mellitus: Effects on glycaemic control and body weight. *Diabetes Obes Metab* 12: 510–516, 2010.
  23. Ferrannini E, Ramos SJ, Salsali A, et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycaemic control by diet and exercise: A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes Care* 33: 2217–2224, 2010.
  24. Bailey CJ, Gross JL, Pieters A, et al. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 375: 2223–2233, 2010.
  25. Rosenstock J, Aggarwal N, Polidori D, et al; Canagliflozin DIA 2001 Study Group. Dose-ranging effects of canagliflozin, a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, as add-on to metformin in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 35: 1232–1238, 2012.
  26. Nauck MA, Del Prato S, Meier JJ, et al. Dapagliflozin versus glipizide as add-on therapy in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with metformin: A randomized, 52-week, double-blind, active-controlled noninferiority trial. *Diabetes Care* 34: 2015–2022, 2011.
  27. Devineni D, Morrow L, Hompesch M, et al. Canagliflozin improves glycaemic control over 28 days in subjects with type 2 diabetes not optimally controlled on insulin. *Diabetes Obes Metab* 14: 539–545, 2012.
  28. Wilding JP, Norwood P, T'joen C, et al. A study of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes receiving high doses of insulin plus insulin sensitizers: Applicability of a novel insulin-independent treatment. *Diabetes Care* 32: 1656–1662, 2009.
  29. Wilding JP, Woo V, Soler NG, et al; Dapagliflozin 006 Study Group. Long-term efficacy of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus receiving high doses of insulin: A randomized trial. *Ann Intern Med* 156: 405–415, 2012.
  30. Bolinder J, Ljunggren Ö, Kullberg J, et al. Effects of dapagliflozin on body weight, total fat mass, and regional adipose tissue distribution in patients with type 2 diabetes mellitus with inadequate glycaemic control on metformin. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 1020–1031, 2012.
  31. Devenny JJ, Godonis HE, Harvey SJ, et al. Weight loss induced by chronic dapagliflozin treatment is attenuated by compensatory hyperphagia in diet-induced obese (DIO) rats. *Obesity (Silver Spring)* 20: 1645–1652, 2012.
  32. List JF, Woo V, Morales E, et al. Sodium-glucose cotransport inhibition with dapagliflozin in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 32: 650–657, 2009.
  33. Food and Drug Administration. FDA Briefing Document NDA 202293. Dapagliflozin tablets 5 and 10mg. In: DoMaeProducts (ed). Silver Spring: Food and Drug Administration, 2011.
  34. Ljunggren O, Bolinder J, Johansson L, et al. Dapagliflozin has no effect on markers of bone formation and resorption or bone mineral density in patients with inadequately controlled type 2 diabetes mellitus on metformin. *Diabetes Obes Metab* 2012 May 31;9999(9999). doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01630.x. (Epub ahead of print).

