

Метформин как препарат, модифицирующий кишечную микробиоту



С. М. Ткач

Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, Киев

Как известно, наиболее часто применяемым препаратом у пациентов с сахарным диабетом (СД) 2-го типа является метформин благодаря своей относительной безопасности, низкой стоимости и позитивному влиянию на гликемию и сердечно-сосудистую смертность [1, 2]. Тем не менее механизмы действия препарата до настоящего времени остаются не до конца изученными. Несмотря на то что антигипергликемические эффекты метформина ассоциируются с подавлением высвобождения глюкозы из печени путем активации АМР-активированной протеинкиназы (АМРК), накапливаются данные о том, что эти эффекты также могут реализовываться через кишечник [3—9]. В частности сахароснижающий эффект метформина значительно более выражен при пероральном приеме, чем при внутривенном введении [10]. В последнее время получены данные о том, что основной точкой приложения метформина и местом его максимального действия является толстая кишка [11]. Более того, данные недавно проведенных исследований четко указывают на то, что антидиабетические эффекты метформина могут быть связаны с его влиянием на кишечную микробиоту (КМ) [12, 13].

В частности в рандомизированном, плацебо-контролируемом двойном исследовании пациентам с впервые выявленным СД 2-го типа назначали либо метформин, либо диету с ограничением калорий. Установлено, что в группе метформина отмечено быстрое изменение состава и функций КМ параллельно со снижением уровня гликированного гемоглоби-

на (HbA1c) и гликемии. Трансплантация КМ стерильным мышам продемонстрировала, что измененная под влиянием метформина КМ способна улучшать метаболизм глюкозы. Более того, транскриптомный анализ фекалий, культивируемых *in vitro* с метформинном, показал, что он оказывает прямой эффект на КМ и регулирует экспрессию генов, кодирующих металлопротеины в кишечных бактериях [14].

При проведении полногеномного секвенирования фекальных образцов у больных с впервые выявленным СД 2-го типа было обнаружено резкое изменение состава КМ через 2 и 4 мес после начала приема метформина. В частности было значительно повышено содержание *Escherichia* и *Intestinibacter* [14]. Поскольку метформин *in vitro* не влиял на содержание *E. coli*, следует полагать, что его эффекты в отношении повышения уровня *Escherichia spp.* не прямые и, возможно, являются следствием модификации межбактериальных взаимодействий либо их физиологических изменений и/или изменений КМ под действием внешних факторов на фоне терапии метформинном. Установлено, что метформин вызывает рост *B. adolescentis* как *in vivo* (через 2 мес), так и *in vitro* в чистой культуре, а также приводит к повышению содержания *Bifidobacterium*. Ранее на экспериментальной модели метаболического синдрома было показано, что добавление *B. adolescentis* повышает чувствительность к инсулину [15]. В проведенных исследованиях обнаружена негативная корреляция между содержанием *B. adolescentis* и концентрацией HbA1c. По-видимому, это свиде-

тельствует о том, что повышение содержания данного вида бактерий потенциально связано с антидиабетическими эффектами метформина.

При изучении прямых эффектов метформина на КМ *in vitro* значительных изменений *E. coli* или *B. adolescentis* не выявлено, однако обнаружено повышение содержания *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*). Хотя ранее в эксперименте было обнаружено, что такое повышение ассоциируется с улучшением метаболизма глюкозы [11, 12, 16—18], убедительных доказательств у людей пока нет [17]. Значительное повышение содержания *A. muciniphila* у больных, принимающих метформин, было обнаружено через 4 мес от начала его приема только по результатам целенаправленного анализа. По данным недавно проведенных скрининговых исследований по определению содержания муциндеградирующих и бутират-продуцирующих бактерий обнаружено повышение содержания *A. muciniphila* у пациентов, принимающих метформин [19]. Тем не менее значительной корреляции между уровнем HbA1c и повышенным содержанием *A. muciniphila* не выявлено.

Еще в одном недавно проведенном исследовании также было подтверждено положительное влияние метформина на метаболизм глюкозы, которое, возможно, опосредованно микробами. В данном исследовании изучали связь между СД 2-го типа, приемом метформина и состоянием КМ у взрослых жителей Колумбии [20]. Обнаружена связь между СД 2-го типа и КМ, которая изменялась при приеме метформина. В сравнении со здоровыми людьми у пациентов с СД 2-го типа, принимающих метформин, отмечена более высокая относительная распространенность *A. muciniphila* — бактерии, вызывающей деградацию муцина, бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), включая *Butyrivibrio*, *Bifidobacterium bifidum*, *Megasphaera*, а также *Prevotella*. Напротив, в сравнении со здоровыми людьми у пациентов с СД 2-го типа, не принимающих метформин, выявлена более высокая относительная распространенность *Clostridiaceae* O2d06 и повышенное содержание *Enterococcus casseliflavus*. Таким образом, эти результаты подтверждают гипотезу, согласно которой метформин меняет состав КМ за счет обогащения муцинразлагающих *A. muciniphila*, а также КЦЖК-продуцирующей микробиоты. В будущем необходимы исследования, чтобы определить, опосредуют ли эти сдвиги гликемические и противовоспалительные свойства метформина.

При сравнении результатов метагеномного анализа *in vivo* и метагеномного и транскриптомного анализов *in vitro* был сделан вывод о том, что метформин улучшает функции КМ, включая биосинтез липополисахарида (ЛПС) и метаболизм КЦЖК. Увеличение синтеза ЛПС может быть результатом повышения уровня грамотрицательных бактерий, таких как *Proteobacteria*, однако это не ассоциируется с увеличением выраженности низкоинтенсивного системного воспаления, поскольку уровень С-реактивного протеина не изменяется. Ранее повышение синтеза ЛПС без усиления воспаления было продемонстрировано у пациентов после бариатрических операций [21]. По данным метагеномного анализа улучшение метаболизма КЦЖК в виде повышенной продукции бутирата и пропионата также было выявлено у пациентов, принимавших метформин [17, 22].

Еще в одном исследовании перенос фекалий пациентов, получающих метформин, мышам со стерильным кишечником способствовал повышению толерантности к глюкозе [23]. Хотя данное явление было отмечено у реципиентов при переносе измененной метформином микробиоты от двух из трех доноров, тем не менее, это указывает на то, что измененная под действием метформина КМ может вносить вклад в благоприятные эффекты препарата на гомеостаз глюкозы. Почему ответы на измененную метформином КМ от разных доноров отличались, учитывая, что у всех доноров наблюдалась повышенная толерантность к глюкозе после 2 и 4 мес лечения метформином, не установлено. Тем не менее известно, что существуют большие индивидуальные различия в составе КМ у здоровых людей, и отсутствие реакции на пересадку микробиоты от одного донора может быть связано с неполной передачей ключевых видов бактерий, как это было описано ранее [23]. Кроме того, различные рационы мышей-реципиентов и доноров-людей (соответственно диета с высоким содержанием жира и диета с ограничением калорий), вероятно, усугубляют различия в составе КМ между донорами и реципиентами. Поэтому таксоны, которые успешно переносят мышам-реципиентам, могут зависеть не только от состава донорской КМ, но и от того, насколько хорошо таксоны реагируют на различные макронутриенты.

Появляется все больше свидетельств того, что КЦЖК и желчные кислоты играют роль в регуляции гомеостаза глюкозы [24, 25]. Так, недавно было обна-

ружено, что сукцинат, продуцируемый КМ, может улучшать метаболизм глюкозы путем активации кишечного глюконеогенеза у мышей [26]. При этом были выявлены вызванные метформином изменения в микробно-регулируемых метаболитах. Это позволяет предположить, что они могут быть частично ответственны за более значительное снижение уровня глюкозы при пероральном приеме метформина в сравнении с внутривенной инъекцией [10]. Тем не менее пока нельзя утверждать, что основным механизмом действия метформина является модификация КМ. Например, результаты недавно проведенного исследования на мышах показали, что фосфорилирование ацетил-СоА-карбоксилазы (АСС) 1 и 2 с помощью АМПК необходимо для демонстрации инсулинсенситизирующих эффектов метформина и демонстрирует важность передачи сигналов АМПК/АСС. Тем не менее, возможно, КМ может также действовать через АСС, учитывая, что ранее было обнаружено, что при алиментарном ожирении существует перекрестная связь между КМ, АМПК и фосфорилированием АСС 2 [27].

Углубленный транскриптомный анализ воздействия метформина на два отдаленно связанных вида бактерий в модели, имитирующей кишечную среду, показал, что большинство регулируемых метформином генов кодируют металлопротеины или переносчики металлов. Маловероятно, что транскрипционные ответы этого подмножества генов были обусловлены увеличением общего количества транскриптов, вызванным ростом числа бактерий, потому что большинство этих генов подавлял метформин. Эти наблюдения интересны в контексте того, что некоторые металлы участвуют в патофизиологии СД 2-го типа, а сам метформин связывается с металлами. Кроме того, результаты недавно проведенного исследования подтвердили, что влияние метформина на клеточную линию печени млекопитающих зависит от металлосвязывающих свойств этого лекарственного средства [28].

Таким образом, данные исследований свидетельствуют, что метформин взаимодействует с различными кишечными бактериями, возможно, посредством регуляции гомеостаза металлов. Тем не менее дополнительные исследования, сочетающие нецелевую метаболомику и метапротеомику, имеют важное значение для выявления дополнительных микробных метаболитов или белков, а также для определения того, как они взаимодействуют с микробиотой хозяина и улучшают его метаболизм.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов при подготовке статьи.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nathan DM et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32:193–203.
2. Pernicova I, Korbonits M. Metformin-mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:143–156.
3. Zhou G et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest*. 2001;108:1167–1174.
4. Shaw RJ et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*. 2005;310:1642–1646.
5. Fullerton MD et al. Single phosphorylation sites in Acc1 and Acc2 regulate lipid homeostasis and the insulin-sensitizing effects of metformin. *Nat. Med*. 2013;19:1649–1654.
6. Foretz M et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest*. 2010;120:2355–2369.
7. Madiraju AK et al. Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. *Nature*. 2014;510:542–546.
8. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*. 2016;59:426–435.
9. Duca FA. et al. Metformin activates a duodenal Ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats. *Nat. Med*. 2015;21:506–511.
10. Buse JB et al. The primary glucose-lowering effect of metformin resides in the gut, not the circulation. Results from short-term pharmacokinetic and 12-week dose-ranging studies. *Diabetes Care*. 2016;39:198–205.
11. Zhang X. et al. Modulation of gut microbiota by berberine and metformin during the treatment of high-fat diet-induced obesity in rats. *Sci Rep*. 2015;5:14405.
12. Lee H, Ko G. Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80:5935–5943.
13. Forslund K et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 2015;528:262–266.
14. Wu H, Esteve E, Tremaroli V et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive

- type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nature medicine*. 2017;7:850–858. doi:10.1038/nm.4345
15. Chen J, Wang R, Li XF, Wang RL. Bifidobacterium adolescents supplementation ameliorates visceral fat accumulation and insulin sensitivity in an experimental model of the metabolic syndrome. *Br J Nutr*. 2012;107:1429–1434.
 16. Shin NR et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*. 2014;63:727–735.
 17. Everard A et al. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2013;110:9066–9071.
 18. Plovier H et al. A purified membrane protein from Akkermansia muciniphila or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med*. 2017;23:107–113.
 19. Dao MC et al. Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*. 2016;65:426–436.
 20. De la Cuesta-Zuluaga J, Mueller N, Corrales-Agudelo V et al. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading Akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*. 2017;40:54–62. DOI: 10.2337/dc16-1324.
 21. Tremaroli V et al. Roux-en-Y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metab*. 2015;22:228–238.
 22. Everard A et al. Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. *ISME J*. 2014;8:2116–2130.
 23. Wahlström A et al. Induction of farnesoid X receptor signaling in germ-free mice colonized with a human microbiota. *J Lipid Res*. 2017;58:412–419.
 24. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metab*. 2016;24:41–50.
 25. Schaap F.G., Trauner M., Jansen P.L. Bile acid receptors as targets for drug development. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11:55–67.
 26. De Vadder F et al. Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis. *Cell Metab*. 2016;24:151–157.
 27. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced

obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:979–984.

28. Logie L et al. Cellular responses to the metal-binding properties of metformin. *Diabetes*. 2012;61:1423–1433.

РЕЗЮМЕ

Метформин как препарат, модифицирующий кишечную микробиоту

С. М. Ткач

Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, Киев

В настоящее время наиболее часто применяемым препаратом у больных сахарным диабетом (СД) 2-го типа является метформин благодаря своей относительной безопасности, низкой стоимости и позитивному влиянию на гликемию и кардиоваскулярную смертность. Тем не менее механизмы действия препарата до настоящего времени остаются не до конца изученными. В последние годы накапливаются данные о том, что антидиабетический и сахароснижающий эффект метформина может реализовываться через кишечник, в частности путем воздействия на кишечную микробиоту (КМ). Приведен обзор данных нескольких исследований, свидетельствующих о том, что у больных СД 2-го типа прием метформина ассоциируется с быстрым изменением состава и функций КМ параллельно со снижением уровня HbA1c и гликемии. Трансплантация КМ стерильным мышам продемонстрировала, что измененная под влиянием метформина она способна улучшать метаболизм глюкозы, а транскриптомный анализ фекалий, культивируемых *in vitro* с метформином, показал, что препарат оказывает прямой эффект на КМ и регулирует экспрессию генов, кодирующих металлопротеины в кишечных бактериях. При проведении полногеномного секвенирования фекальных образцов у больных с впервые выявленным СД 2-го типа было обнаружено резкое изменение состава КМ через 2 и 4 мес от начала приема метформина, в частности значительное повышение содержания *Escherichia* и *Intestinibacter*, а также *B. adolescenti*, *A. muciniphil*, *Butyrivibrio*, *Bifidobacterium bifidum* и *Megasphaera*. Высказано предположение, что метформин взаимодействует с различными кишечными бактериями посредством регуляции гомеостаза металлов. Тем не менее дополнительные исследования, сочетающие нецелевую метаболомику и метапротеомику, имеют важное значение для выявления дополнительных микробных метаболитов или белков,

а также для определения того, как они взаимодействуют с мишенями хозяина и улучшают его метаболизм.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, метформин, кишечная микробиота.

РЕЗЮМЕ

**Метформін як препарат,
що модифікує кишкову мікробіоту**

С. М. Ткач

Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, Київ

На даний час найбільш часто застосованим препаратом у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу є метформін, зважаючи на його відносно безпеку, низьку вартість і позитивний вплив на глікемію і кардіоваскулярну смертність. Проте механізми дії препарату дотепер залишаються не до кінця вивченими. Останніми роками накопичуються дані про те, що антидіабетичний і цукрознижувальний ефект метформіну може реалізовуватися через кишечник, зокрема шляхом впливу на кишкову мікробіоту (КМ). Наведено огляд даних декількох досліджень, які свідчать про те, що у хворих на ЦД 2-го типу прийом метформіну асоціюється зі швидкою зміною складу і функцій КМ паралельно зі зниженням рівня HbA1c і глікемії. Трансплантація КМ стерильним мишам продемонструвала, що змінена під впливом метформіну вона здатна покращувати метаболізм глюкози, а транскриптомний аналіз фекалій, культивованих *in vitro* з метформіном, показав, що він справляє прямий ефект на КМ і регулює експресію генів, що кодують металопротеїни кишкових бактерій. При проведенні повногеномного секвенування фекальних зразків у хворих із вперше діагностованим ЦД 2-го типу було виявлено різку зміну складу КМ через 2 і 4 міс від початку прийому метформіну, зокрема значне підвищення вмісту *Escherichia* і *Intestinibacter*, а також *B. adolescenti*, *A. muciniphil*, *Butyrivibrio*, *Bifidobacterium bifidum* і *Megasphaera*. Висловлено припущення, що метформін взаємодіє з різними кишковими бактеріями за допомогою регуляції гомеостазу металів. Проте додаткові дослідження, що поєднують нецільову метаболоміку і метапротеоміку, мають важливе значення для виявлення додаткових мікробних метаболітів або білків, а також для визначення

того, як вони взаємодіють з мішенями хазяїна і покращують його метаболізм.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, метформін, кишкова мікробіота.

SUMMARY

Metformin as a drug modifying gut microbiota

S. M. Tkach

Ukrainian Research and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv

Metformin is currently the most widely used drug in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) due to its relative safety, low cost and positive effect on glycemia and cardiovascular mortality. Nevertheless, the mechanisms of its action to date remain not fully understood. In recent years, evidence has accumulated that the antidiabetic effects of metformin can be mediated through the colon, in particular, by affecting the gut microbiota (GM). A review of the data of several studies is presented, indicating that in patients with type 2 DM, metformin administration is associated with a rapid change in the composition and functions of GM in parallel with a decrease in the level of HbA1c and the level of glycemia. GM transplantation to sterile mice demonstrated that GM modified under the influence of metformin can improve glucose metabolism. Transcriptome analysis of feces cultured *in vitro* with metformin showed that it has direct effects on the microbiota and regulates the expression of genes encoding metalloproteins in gut bacteria. When conducting genome-wide sequencing of fecal samples in patients with newly diagnosed type 2 DM, a sharp change in the composition of GM was revealed after 2 and 4 months of metformin treatment, in particular, a significant increase in the contents of *Escherichia* and *Intestinibacter*, as well as *B. adolescenti*, *A. muciniphila*, *Butyrivibrio*, *Bifidobacterium bifidum* and *Megasphaera*. Metformin is thought to interact with various gut bacteria through the regulation of metal homeostasis. However, additional studies combining metabolomics and metaproteomics are needed to identify additional microbial metabolites or proteins and to determine how they interact with the host's targets and improve its metabolism.

Key words: type 2 diabetes mellitus, metformin, gut microbiota.

Дата надходження до редакції 18.01.2020 р.