



¹ Московский
государственный
медико-
стоматологический
университет
им. А.И. Евдокимова

² Московский
клинический научно-
практический центр
им. А.С. Логинова

³ Национальный
медицинский
исследовательский
центр эндокринологии

Модуляция кишечной микробиоты метформинном

Н.Э. Хачатурян^{1, 2}, Л.В. Егшатын^{1, 3}

Адрес для переписки: Лилит Ваниковна Егшатын, lilit.egshatyan@yandex.ru

В последнее время появились многочисленные данные о роли микробиоты кишечника в патогенезе метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа. В связи с этим представляется актуальным поиск препаратов, направленных на коррекцию гипергликемии и метаболических нарушений через ее модуляцию. Их применение может оказать положительный эффект на макроорганизм за счет улучшения качественного и количественного состава микробиоты.

В статье представлен обзор современной литературы о влиянии пероральной сахароснижающей терапии, в частности метформина, на микробиоту кишечника. Метформин является препаратом первой линии и наиболее широко используется для лечения предиабета и сахарного диабета 2 типа. Он вызывает широкий спектр физиологических эффектов на метаболизм, однако механизм его действия до сих пор изучен недостаточно. Последние данные свидетельствуют о метформин-индуцированном изменении качественного состава микробиоты кишечника, в частности о повышении представленности бактерий рода *Akkermansia* spp. и уменьшении условно патогенной флоры. Препарат также влияет на синтез глюкагоноподобного пептида 1. Не исключено, что указанный эффект реализуется через модуляцию микробиоты кишечника и синтез бактериями короткоцепочечных жирных кислот. Поэтому представляется актуальным изучение влияния агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида 1 на микробиоту кишечника не только с целью коррекции метаболических нарушений, но и возможного улучшения ее качественного состава.

Ключевые слова: ожирение, сахарный диабет 2 типа, инсулинорезистентность, микробиота кишечника, метформин, глюкагоноподобный пептид 1

Введение

Учение о микроорганизмах, населяющих человеческий организм, насчитывает не одно столетие. Начало эвристического этапа ассоциируется с А. ван Левенгуком (XVIII в.), который обнаружил в организме человека и животных микроорганизмы. Следующий этап можно охарактеризовать как накопительный. Огромный вклад внесли И.И. Мечников, Л.Г. Перец, Л. Пастер, Р. Кох, Н.Ф. Гамалей и др. В этот период были обнаружены и идентифицированы микроорганизмы в разных органах человека, изучены их свойства и роль. 30–90-е гг. прошлого столетия – этап детализации. Благодаря современным микробиологическим методам исследования изучена не только роль отдельных представителей нормальной и патологической микрофлоры, но и обусловленные ими механизмы нарушения гомеостаза.

В конце XX – начале XXI в. сформировалось представление о микрофлоре как еще об одном органе человеческого организма.

Термин «микробиота» был введен Дж. Ледербергом [1].

В настоящее время под микробиотой понимают совокупность микроорганизмов, их генов и взаимоотношений внутри определенной среды с акцентом на их таксономическом составе.

Наибольшей плотностью и совокупной биомассой, а также зна-

чением для физиологии обладает микробиота кишечника (МК). Ее вес достигает 3–5 кг.

В просвете желудочно-кишечного тракта у здоровых лиц обитает более 10^{14} бактериальных клеток, что на порядок выше общего числа клеток организма [2]. Содержание симбиотических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте широко варьируется – от 10^{12} – 10^3 КОЕ/г в желудке до 10^{12} – 10^{13} КОЕ/г в дистальных отделах толстой кишки.

Для идентификации микроорганизмов как в научных исследованиях, так и в рутинной клинико-лабораторной бактериологической практике используется ген 16S рПНК. Исследования последнего десятилетия, проведенные с помощью метагеномного анализа, показали, что у здоровых взрослых в МК доминируют представители пяти филумов (отделов) бактерий: грамположительные *Firmicutes*, *Actinobacteria* и грамотрицательные *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. До 90% приходится на *Firmicutes* и *Bacteroidetes* [3]. В здоровой МК *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*, как правило, представлены в меньшем количестве. Однако именно эти микроорганизмы оказывают значительное влияние на состояние макроорганизма.

Микробиота организма в целом и кишечника в частности является своеобразным индикатором макроорганизма – в зависимости от физиологических, диетических, климатических и географических факторов изменяется ее качественный и количественный состав. Результаты многочисленных исследований продемонстрировали связь между качественными и количественными изменениями МК и синдромами, ассоциированными с неправильным питанием. Речь, в частности, идет об ожирении, метаболическом синдроме, сахарном диабете (СД) 2 типа, атеросклерозе [2, 4–6]. При ожирении и СД 2 типа отмечено уменьшение численности *Bacteroidetes* и увеличение количества *Firmicutes* [7, 8]. Приходится констатировать, что на сегодняшний день относительно хорошо изучены механизмы

морфологических и функциональных изменений при метаболическом синдроме, недостаточно – вклад в его этиологию и патогенез МК. Кроме того, нет единого мнения о том, что представляет собой «типичная» микробиота при метаболическом синдроме.

Сказанное выше обуславливает актуальность изучения препаратов, направленных на коррекцию метаболических нарушений, на предмет их воздействия через модуляцию микробиоты, что может положительно повлиять и на макроорганизм.

В статье будут подробно рассмотрены эффекты метформина.

Влияние на численность и состав микробиоты кишечника

Метформин (МЕТ) вызывает широкий спектр физиологических эффектов, однако механизм его действия до сих пор изучен недостаточно.

У человека и животных МЕТ абсорбируется и накапливается преимущественно в кишечнике. Установлено, что его содержание в тонкой кишке во много раз превышает таковое в плазме и других тканях [9]. Именно этим объясняется развитие побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта при приеме препарата. Внутривенное применение МЕТ в отличие от перорального не улучшает гликемию [10].

Метформин влияет на активность генов, регулирующих метаболизм ксенобиотиков, клеточный стресс, энергетический обмен, биосинтез, передачу сигналов и т.д. Их экспрессия меняется также при снижении энергетической ценности пищи [11]. У нематод *Caenorhabditis elegans* МЕТ воздействует на метаболизм метионина и фолата (как антифолатный препарат) бактерий-симбионтов и замедляет процесс старения в присутствии *Escherichia coli*. Фолатный цикл признан ключевым регулятором клеточного метаболизма и интегратором нутриентного статуса, поэтому назначение МЕТ имитирует эффект ограничения калорийности питания. У человека

МЕТ также приводит к дефициту фолата и витамина B_{12} и повышению уровня гомоцистеина. Кроме того, препарат действует как прямой метаболический стрессор [12]. В исследовании К. Forslund и соавт., в котором участвовали 784 пациента с СД 2 типа, в группе МЕТ по сравнению с контрольной группой отмечалось обилие бактерий *Subdoligranulum* и *Akkermansia*. Таким образом, терапия препаратом ассоциировалась с более здоровым составом микробиоты кишечника [13]. У получавших его наблюдалось более высокое содержание *Adlercreutzia* [14].

Функциональный анализ продемонстрировал значительное увеличение синтеза короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутират и пропионат [13]. У пациентов с СД 2 типа, не получавших МЕТ, повысилась численность *Eubacterium* и *Clostridiaceae* SMB53 [14] и сократилось количество бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты (*Roseburia*, *Subdoligranulum*), и кластера бутират-продуцирующих *Clostridiales* [13]. Это доказывает влияние микробиоты на антидиабетический эффект МЕТ через деградацию муцина и синтез короткоцепочечных жирных кислот. F.H. Karlsson и соавт. установили связь между приемом МЕТ и повышением количества энтеробактерий (*Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella* и *Salmonella*), а также снижением числа *Clostridium* и *Eubacterium* у пациентов с СД 2 типа [15].

В 2014 г. изучено влияние диетотерапии и МЕТ на метаболические показатели. Шестинедельные мыши в течение 28 недель находились на диете с повышенным содержанием жиров (ПСЖ) [16]. Их разделили на несколько групп: первая – диета с ПСЖ с переходом в дальнейшем на МЕТ (300 мг/кг) в течение десяти недель, вторая – диета с ПСЖ, третья – диета с ПСЖ с переходом на нормальное питание (НП) в течение десяти недель, четвертая – НП, пятая – НП с переходом в дальнейшем на МЕТ в течение десяти недель.

В группе диеты с ПСЖ наблюдалось увеличение массы тела, уровня глюкозы натощак и нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) при проведении перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ), а также снижение

инсулинорезистентности тканей (НОМА-IR), нарушение функции β -клеток (НОМА- β) и липидного обмена (рис. 1). В группе ПСЖ и MET масса тела после добавления препарата не увеличивалась, несмотря на продолжение диеты.

Отмечалось снижение гликемии, особенно у самок, и НОМА-IR. Однако существенного влияния метформина на НТГ и функцию β -клеток не зарегистрировано. Эффект MET на уровень общего холестерина (ХС) различался

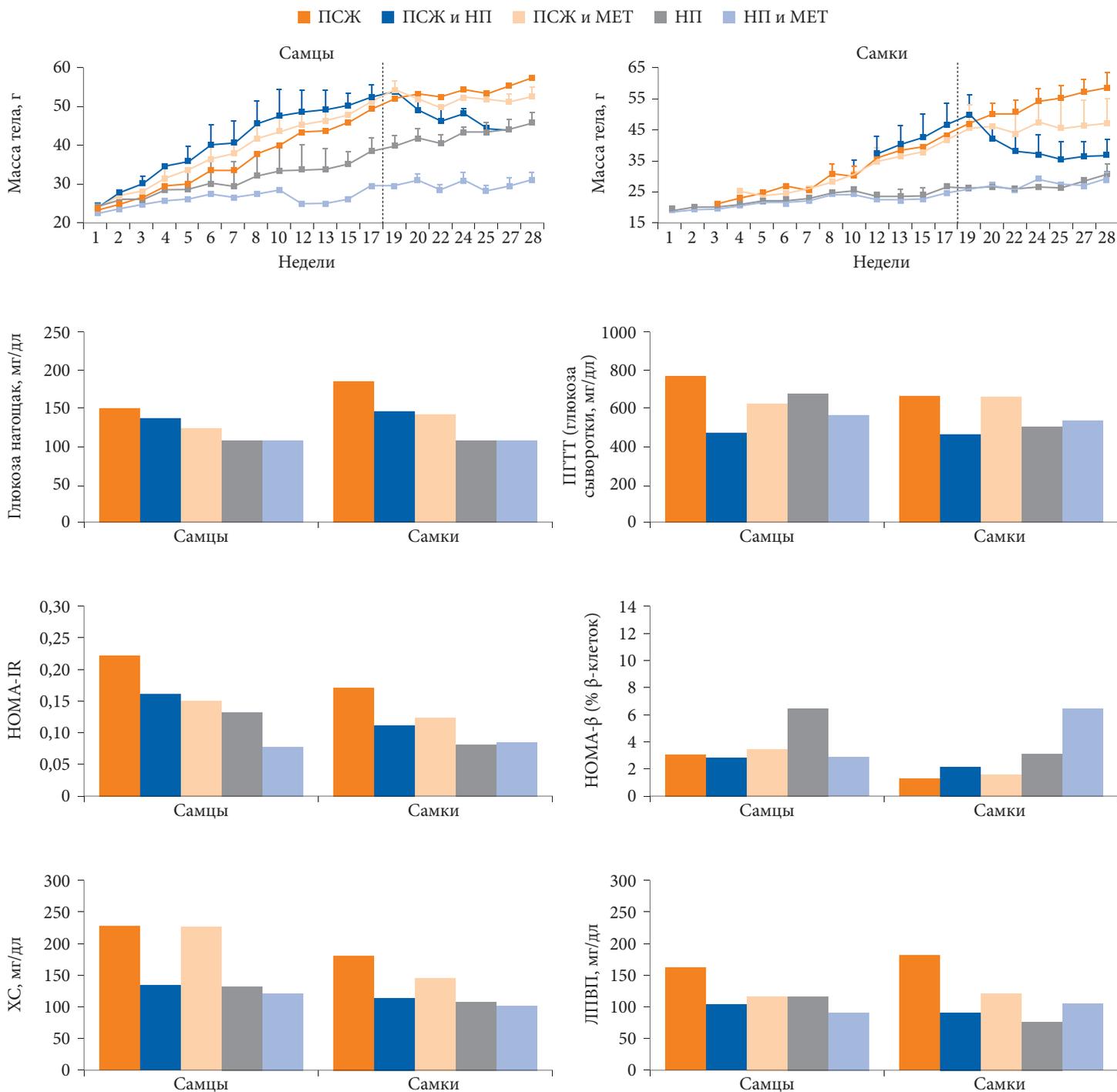


Рис. 1. Влияние диетотерапии и MET на метаболические показатели у мышей в эксперименте



в зависимости от пола – значительное снижение у самок ($p = 0,023$). Терапия МЕТ также способствовала уменьшению уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). В группе ПСЖ и НП выявлено значительное снижение массы тела, уровня глюкозы натощак, улучшение НТГ, уменьшение концентрации ХС, ЛПВП и резистентности к инсулину. Однако переход на НП, так же как терапия метформином, не оказал существенного влияния на показатели НОМА- β . В группе НП не было выявлено никаких метаболических нарушений, в группе НП и МЕТ добавление препарата не повлияло на уровень метаболических биомаркеров (см. рис. 1).

Помимо метаболических маркеров в работе изучался состав МК. В группе ПСЖ отмечалось уменьшение количества *Bacteroidetes* до $43,79 \pm 22,35\%$ и увеличение численности *Firmicutes* до $50,73 \pm 19,2\%$. В группе НП, наоборот, количество *Bacteroidetes* увеличилось до $79,4 \pm 10,0\%$. В группе ПСЖ и МЕТ после добавления препарата численность *Bacteroidetes* повысилась до $77,45 \pm 8,73\%$. Кроме того, возросло количество *Verrucomicrobia* до $12,4 \pm 5,26\%$, *Akkermansia muciniphila* до $12,4 \pm 5,26\%$ и *Clostridium cocleatum* до $0,1 \pm 0,09\%$ в отличие от группы ПСЖ и группы ПСЖ и НП. Прием МЕТ также повлиял на состав микробиоты мышей, получавших НП. Численность семейств *Rikenellaceae*, *Ruminococcaceae* и *Verrucomicrobiaceae*, а также *Alistipes* spp., *Akkermansia* spp. и *Clostridium* spp. в группе НП и МЕТ была выше, чем в группе НП.

В исследовании выявлены особенности состава МК в зависимости от гендерной принадлежности. Так, в группе ПСЖ численность *Bacteroidetes* оказалась выше у самок, в группе ПСЖ и НП количество *Tenericutes* было больше у самцов, в группе НП – *Parabacteroides* spp. – у самок, в группе ПСЖ и МЕТ – *Coprobacillus* spp. – у самцов, а *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp., семейства *Lactobacillaceae*, класса *Bacteroidia* – у самок. Раз-

личий в составе МК между самцами и самками в группе НП и МЕТ не обнаружено (рис. 2).

В другом экспериментальном исследовании на мышах выявлено, что МЕТ влияет на представленность бактерии *A. muciniphila* и улучшает гликемический контроль. На фоне терапии также увеличилось количество бокаловидных клеток, производящих муцин. Последний является источником питания для *Akkermansia* [17].

В 2016 г. проанализированы численность и состав МК у 112 колумбийских женщин [18]. 84 из них не страдали СД 2 типа (БСД). Среди пациенток с СД 2 типа 14 принимали МЕТ (МЕТ+), 14 – нет (МЕТ-). В группе СД 2 типа и МЕТ- одна участница исследования находилась на инсулине, две – на глибенкламиде, 11 ранее не получали медикаментозного лечения.

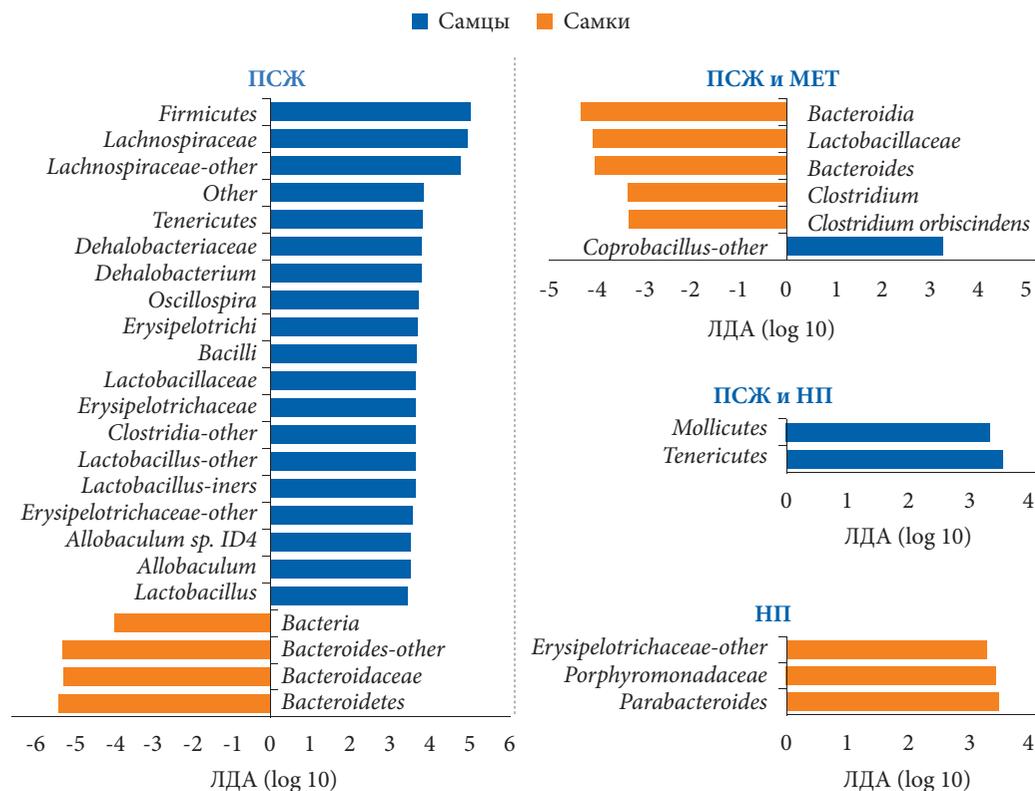
Статистически значимых различий по демографическому, антропометрическим, клиническим

параметрам между группами не выявлено.

В отличие от группы БСД группа СД 2 типа и МЕТ+ имела более высокие показатели гликемии натощак, гликированного гемоглобина (HbA1c) и НОМА-IR, а также более низкий уровень инсулин-сенситизирующего гормона адипонектина ($p < 0,05$).

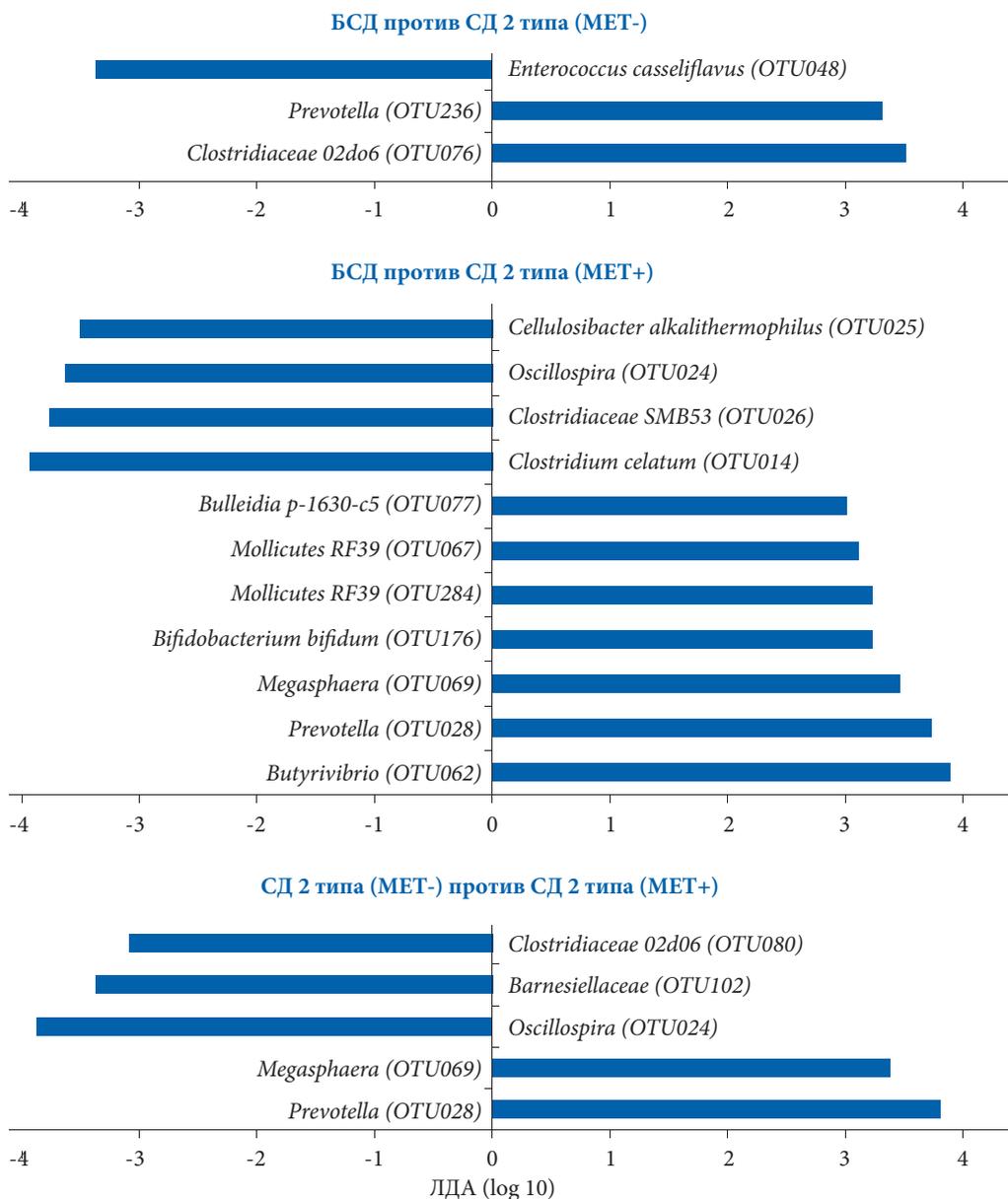
После проведения секвенирования гена 16S рРНК обнаружена связь между СД, составом и численностью МК, которая была модифицирована на фоне терапии МЕТ (рис. 3 и 4).

Сравнительный анализ между группами СД 2 типа и МЕТ- и БСД выявил, что бактерии, относящиеся к группе *Clostridiaceae* (*Firmicutes/Clostridiaceae*) и *Prevotella* (*Bacteroidetes/Prevotellaceae*), больше представлены у пациентов с СД 2 типа, не получавших МЕТ, тогда как *Enterococcus casseliflavus* (*Firmicutes/Enterococcaceae*) – у пациентов без СД. Сравнительный



Примечание. ЛДА – линейный дискриминантный анализ.

Рис. 2. Особенности МК в зависимости от гендерной принадлежности



Примечание. ЛДА – линейный дискриминантный анализ.

Рис. 3. Различия МК у пациентов разных групп

анализ групп СД 2 типа и МЕТ+ и БСД показал, что бактерии *Butyrivibrio* (*Firmicutes/Lachnospiraceae*), а также разные таксономические группы *Prevotella* (*Bacteroidetes/Prevotellaceae*), *Megasphaera* (*Firmicutes/Veillonellaceae*), *Bifidobacterium bifidum* (*Actinobacteria/Bifidobacteriaceae*), в том числе две таксономические группы *Mollicutes* (*Tenericutes*) и *Bulleidia* p-1630-c5 (*Firmicutes/Erysipelotrichaceae*), в большей степени представлены

в первой группе. В группе пациентов, не страдавших СД 2 типа, более распространенными были группы *Clostridiales*, включая *Clostridium celatum* (*Firmicutes/Clostridiaceae*), *Clostridiaceae* SMB53 (*Firmicutes/Clostridiaceae*), *Oscillospira* (*Firmicutes/Ruminococcaceae*) и *Cellulosibacter alkalithermophilus* (*Firmicutes/Ruminococcaceae*). Численность *Prevotella* (*Bacteroidetes/Prevotellaceae*) и *Megasphaera* (*Firmicutes/Veillonellaceae*) в группе СД 2 типа

и получавших МЕТ оказалась выше, чем в группе СД 2 типа и не принимавших препарат, тогда как *Oscillospira* (*Firmicutes/Ruminococcaceae*), *Barnesiellaceae* (*Bacteroidetes*), *Clostridiaceae* 02d06 (*Firmicutes/Clostridiaceae*) – в последней. После объединения муцин-деградирующих и бутират-продуцирующих бактерий обнаружено, что в группе пациентов с СД 2 типа, принимавших МЕТ, численность бактерий *A. muciniphila* и *Butyrivibrio* была выше, чем в группе, не получавшей указанный препарат, – в 3,4 и 4,4 раза соответственно. Различия были статистически значимыми для *A. muciniphila* ($F_{1,109} = 9,46$, $p = 0,003$, $q = 0,01$), но не для *Butyrivibrio* ($F_{1,109} = 3,03$, $p = 0,08$, $q = 0,21$) (см. рис. 4Ж и 3). Других существенных различий в группах бутират-синтезирующих бактерий МК больных СД 2 типа, принимавших и не принимавших МЕТ, не выявлено. Для *Roseburia* – $F_{1,109} = 1,44$ ($p = 0,23$, $q = 0,39$), *Subdoligranulum* – $F_{1,109} = 0,001$ ($p = 0,97$, $q = 0,97$), *Faecalibacterium* – $F_{1,109} = 0,53$ ($p = 0,47$, $q = 0,59$). Существенных различий в отношении этих бактерий при сравнении МК пациентов с СД 2 типа и без такового не отмечено (все значения $p > 0,1$ и $q > 0,2$).

В 2017 г. Н. Wu и соавт. [19] провели первое двойное слепое рандомизированное исследование по оценке эффектов метформина на МК у пациентов с СД 2 типа. В исследование включено 40 пациентов с впервые выявленной патологией. Участников рандомизировали на две группы: первая ($n = 22$) получала МЕТ 1700 мг/сут, вторая ($n = 18$) – плацебо. Длительность терапии – четыре месяца.

Пациенты обеих групп находились на диете с ограничением калорийности.

Через шесть месяцев от начала наблюдения часть пациентов группы плацебо была переведена на МЕТ. Как и ожидалось, за четыре месяца в результате снижения калорийности пищи масса тела значительно уменьшилась как в группе плацебо ($с 85,4 \pm 5,6$ до $81,5 \pm 5,4$ кг), так и в группе МЕТ ($с 96,5 \pm 4,1$ до $91,4 \pm$

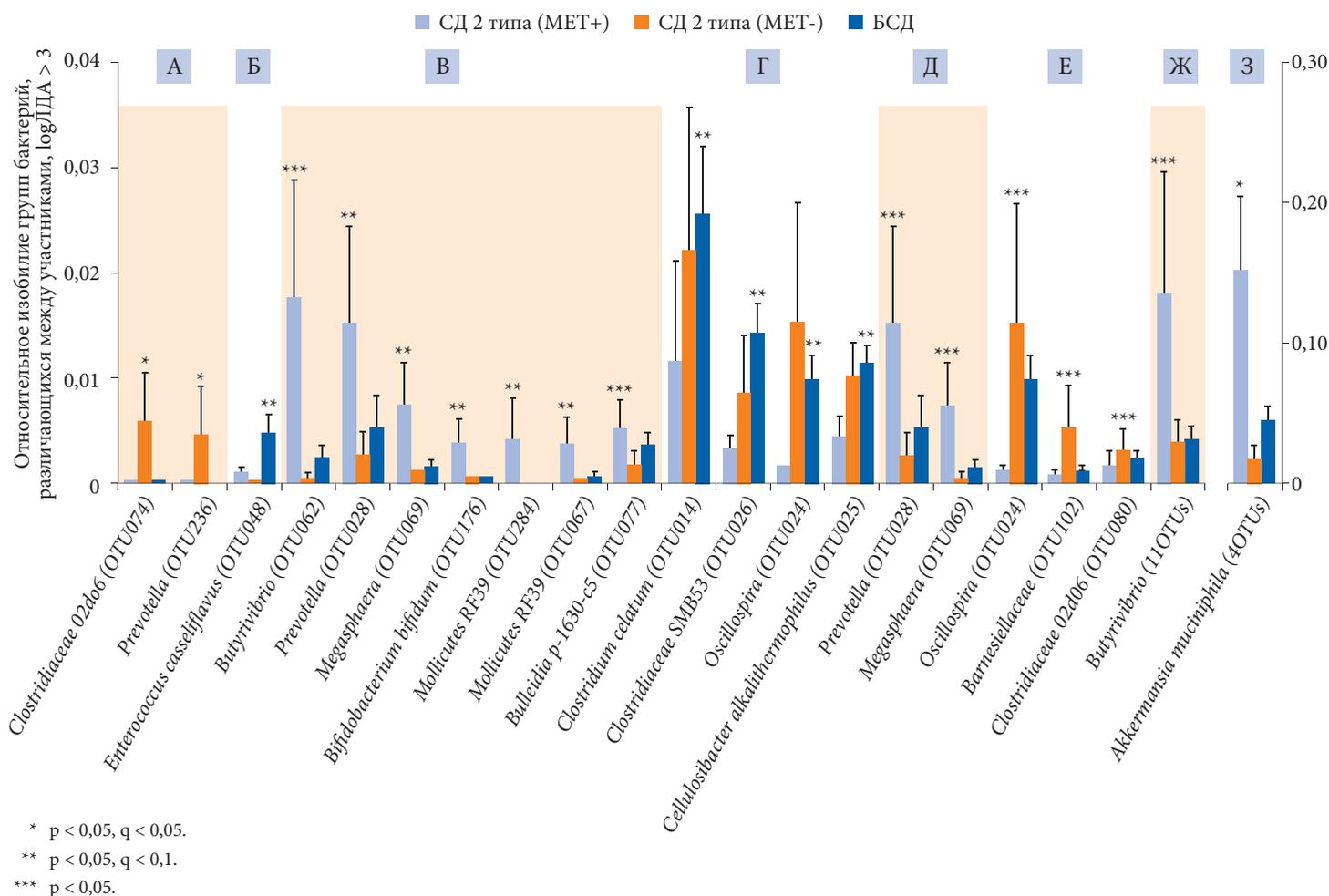


Рис. 4. Представленность бактерий у пациентов разных групп (А – СД 2 типа (МЕТ-) против БСД, Б – БСД против СД 2 типа (МЕТ-), В – СД 2 типа (МЕТ+) против БСД, Г – БСД против СД 2 типа (МЕТ+), Д – СД 2 типа (МЕТ+) против СД 2 типа (МЕТ-), Е – СД 2 типа (МЕТ-) против СД 2 типа (МЕТ+), Ж – одиннадцать объединенных групп бактерий *Butyrivibrio* в группе СД 2 типа (МЕТ+) против группы СД 2 типа (МЕТ-) и БСД, З – четыре объединенные группы бактерий *A. muciniphila* в группе СД 2 типа (МЕТ+) против группы СД 2 типа (МЕТ-) и БСД)

3,9 кг). В группе плацебо не отмечалось снижения уровня гликемии натощак и HbA1c, однако фиксировалось значительное уменьшение уровня общего ХС ($p < 0,05$), липопротеинов низкой плотности ($p < 0,05$) и гамма-глутамилтрансферазы ($p < 0,01$). В группе МЕТ наблюдалось значительное снижение уровня HbA1c, гликемии натощак, НОМА-IR ($p < 0,05$), уровня гамма-глутамилтрансферазы ($p < 0,05$) и увеличение ЛПВП ($p < 0,05$). Индекс массы тела (ИМТ) не уменьшился в подгруппе плацебо, которая через шесть месяцев была переведена на МЕТ, однако уровни HbA1c и гликемии натощак в ней достоверно снизились (рис. 5).

Метагеномный анализ с помощью секвенирования гена 16S рРНК показал, что терапия МЕТ значительно увеличивает представительство бактерий *Escherichia coli*, *Bifidobacterium adolescentis* ($p = 0,01$) и *A. muciniphila* ($p = 0,008$), при этом снижает количество *Intestinibacter* (рис. 6). Исследователи также обнаружили, что метформин *in vitro* способствует увеличению количества *B. adolescentis* и *A. muciniphila*. Достоверных корреляций между уровнем HbA1c и *A. muciniphila* выявлено не было, следовательно, нельзя сделать вывод о том, что *A. muciniphila* является основным фактором положительного влияния МЕТ.

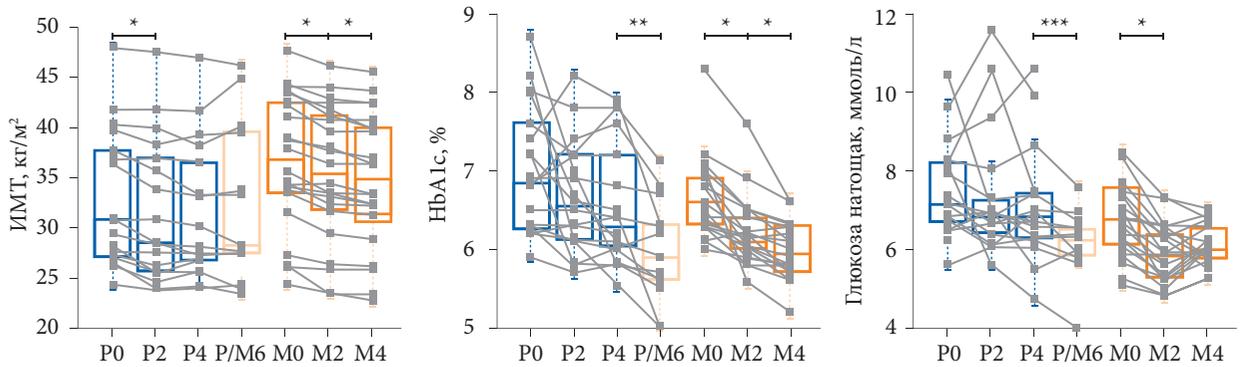
Н. Wu и соавт. также провели трансплантацию МК пациентов, получавших МЕТ, стерильным мышам. После нее у мышей улучшилась толерантность к глюкозе. Масса тела, жировые отложения и концентрация инсулина не изменились.

Эффект на глюкагоноподобный пептид 1

Гомеостаз макроорганизма поддерживается благодаря продукции разнообразных микробных соединений, которые регулируют скорость и выраженность физиологических функций, метаболических и поведенческих реакций.



■ Медиана в группе плацебо ■ Медиана в группе плацебо и MET ■ Медиана в группе MET



* p < 0,001.
** p < 0,01.
*** p < 0,05.

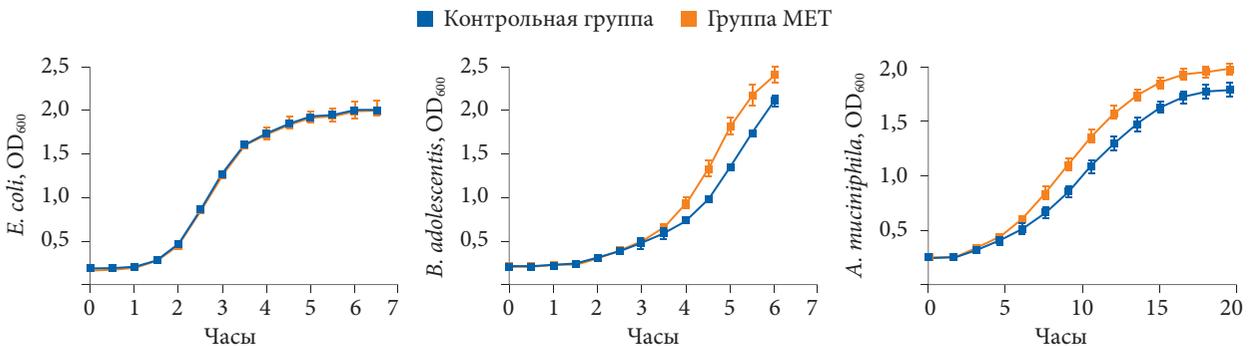
Примечание. P0 – плацебо исходно, P2 – плацебо через два месяца, P4 – плацебо через четыре месяца, M0 – MET исходно; MET2 – MET через два месяца, MET4 – MET через четыре месяца, P/MET6 – плацебо/MET через шесть месяцев. Отрезок – критерий знаковых рангов Уилкоксона.

Рис. 5. ИМТ, HbA1c и гликемия натощак в группах терапии исходно, через два и четыре месяца

Полифункциональная роль принадлежит короткоцепочечным жирным кислотам. Основную их массу составляют уксусная (ацетат), пропионовая (пропионат), изомасляная, масляная (бутират), изовалериановая, валериановая (валерат), изокапроновая и капроновая (гексанат) кислоты. Они образуются в толстой кишке путем ферментации углеводов, жиров и белков. Бутират – основной источник энергии аденозинтрифосфата. Ацетат и пропионат в гепатоцитах участвуют в глюконеогенезе и липогенезе [20].

В 2014 г. проведено исследование на крысах, подтвердившее, что бутират напрямую активирует экспрессию генов, задействованных в глюконеогенезе в клетках кишечника, посредством циклического аденозинмонофосфат-зависимого механизма, в то время как пропионат – через взаимодействие с рецепторами свободных жирных кислот 3 (FFAR3), расположенными в клетках нервной системы. Следовательно, короткоцепочечные жирные кислоты влияют на углеводный обмен через регулирование глюконеогенеза в клетках кишечника [21].

В 1987 г. был открыт человеческий глюкагоноподобный пептид 1 (ГПП-1), который состоит из 30 аминокислотных остатков, представлен двумя биологически активными формами – ГПП-1-(7-37) и ГПП-1-(7-36)NH₂ (80% всего пула ГПП-1), синтезируется L-клетками, локализованными преимущественно в слизистой оболочке дистального отдела тонкой кишки, а также толстой кишки. В норме синтез основных инкретинов – гастроингибирующего пептида и ГПП-1 происходит в ответ на поступление пищи или глюкозы в кишечник. Основ-



Примечание. OD – показатель оптической плотности.

Рис. 6. Влияние MET на численность бактерий

ными эффектами ГПП-1 считаются стимуляция глюкозозависимой секреции инсулина, увеличение массы β -клеток поджелудочной железы, ингибирование высвобождения глюкагона, опорожнение желудка и снижение аппетита. Установлено, что секреция ГПП-1 обусловлена взаимодействием короткоцепочечных жирных кислот с рецепторами, связанными с G-белками свободных жирных кислот 2 и 3 (GPR41 (FFAR3) и GPR43 (FFAR2)) [22]. FFAR2 обеспечивает сохранение энергии за счет стимуляции липогенеза, ингибирование липолиза и уменьшение расхода энергии. В толстой кишке FFAR2 и FFAR3 регулируют перистальтику кишечника и насыщение через ГПП-1.

В исследовании Н. Lin и соавт., проведенном в 2012 г. [22], установлено, что короткоцепочечные жирные кислоты, введенные мышам, влияют на синтез кишечных гормонов через рецепторы FFAR2 и FFAR3, защищая от индуцированного диетой ожирения и инсулинорезистентности. Установлено, что бутират и пропионат стимулируют выработку

кишечных гормонов и сокращают общее насыщение независимо от FFAR3. Эти данные указывают на новый механизм влияния МК на метаболизм макроорганизма.

В 2014 г. выдвинута теория о прямой связи бактерий *Bifidobacterium* с синтезом ГПП-1 [23]. Следовательно, если в кишечнике уменьшается численность *Bifidobacterium*, снижается количество ГПП-1.

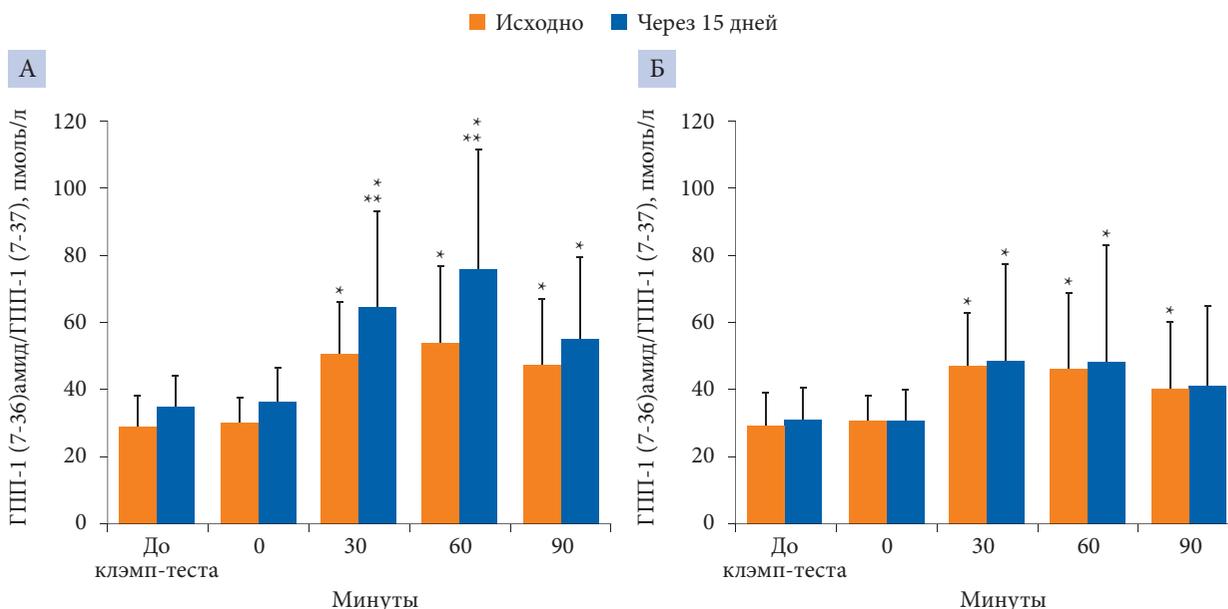
Аналогичным образом на синтез ГПП-1 влияет *Lactobacillus*. В экспериментальном исследовании F. Duan и соавт. [24] применение пробиотика типа *Lactobacillus*, штаммы которого являются существенной частью здоровой МК, у крыс с СД в течение 90 дней привело к снижению уровня гликемии на 30% больше, чем у крыс с диабетом, не получавших пробиотика.

В 1998 г., еще до открытия влияния бактерий на синтез ГПП-1, R. Ligarì и соавт. обнаружили, что у пациентов с СД 2 типа применение MET способствует повышению концентрации постпрандиального уровня ГПП-1 [25]. В дальнейшем указанный эффект был подтвержден в многочислен-

ных клинических исследованиях [26–28].

В 2001 и 2004 гг. E. Mannucci и соавт. [26, 27] изучали эффекты MET на концентрацию ГПП-1 и лептина у пациентов с ожирением. В исследование 2001 г. были включены 20 пациентов с ожирением (ИМТ > 30,0 кг/м²) без СД 2 типа. Участников рандомизировали на две группы, одна из которых принимала MET 2550 мг/сут (по 850 мг три раза в день) в течение 14 дней. Исходно и на 15-й день исследования оценивали уровень ГПП-1 и лептина до и после ПГТТ. Для исключения метформин-индуцированных изменений уровня гликемии и инсулинемии ПГТТ проводился на фоне эугликемического гиперинсулинемического клэмп-теста.

На 15-й день исследования при проведении ПГТТ в группе MET зафиксировано значительное ($p < 0,05$) увеличение концентрации циркулирующего ГПП-1 (ГПП-1 (7-36)амид и ГПП-1 (7-37)) по сравнению с исходными показателями. Сравнительный анализ групп выявил достоверное повышение уровня ГПП-1 ($p < 0,05$)



* $p < 0,05$ по сравнению с данными до проведения ПГТТ (время – 0).

** $p < 0,05$ по сравнению с данными до начала терапии (день – 0).

Рис. 7. Влияние MET на уровень ГПП-1 (7-36)амид/ГПП-1 (7-37) до проведения ПГТТ и после (А – группа MET, Б – группа без MET)



в группе терапии МЕТ по сравнению с контрольной группой через 30 ($63,8 \pm 29,0$ против $50,3 \pm 15,6$ пмоль/л) и 60 минут ($75,8 \pm 35,4$ против $46,9 \pm 20,0$ пмоль/л). Через 90 минут достоверного повышения концентрации ГПП-1 относительно исходного уровня не отмечалось. В контрольной группе через 15 дней существенных изменений уровня ГПП-1 от исходного в указанные временные промежутки не зафиксировано (рис. 7).

Уровень лептина в группе МЕТ исходно составлял $14,3 \pm 6,6$ нг/мл, в контрольной группе – $15,8 \pm 6,9$ нг/мл. Через 15 дней до и после проведения ПГТТ он значительно не отличался от исходных показателей ($14,8 \pm 6,4$ и $15,2 \pm 6,3$ нг/мл соответственно). В 2004 г. Е. Маннусси и соавт. [26] продолжили изучение эффектов МЕТ на ГПП-1 у пациентов с ожирением и СД 2 типа. 34 участника исследования были рандомизированы на две группы. В первую группу включены лица с СД 2 типа ($n = 22$), во вторую – без указанной патологии ($n = 12$). Всем пациентам назначен МЕТ в дозе 850 мг в первый день исследования и 2550 мг (по 850 мг три раза в день) в течение следующих четырех недель.

Уровень ГПП-1 в обеих группах определяли при проведении ПГТТ в первый день и через четыре недели.

Установлено, что однократный прием МЕТ не влиял на уровень ГПП-1. По окончании терапии значения ГПП-1 у пациентов с СД 2 типа увеличились с $3,8$ до $4,9$ пмоль/л ($p < 0,05$). После проведения ПГТТ уровень ГПП-1 у них был значительно ниже. В то же время инкрементная площадь под кривой (AUC) ГПП-1 значительно увеличивалась как у пациентов с СД 2 типа ($93,6$ ($45,6$ – $163,2$) до $151,2$ ($36,0$ – $300,5$) пмоль \times мин/л ($p < 0,05$)), так и у пациентов без СД 2 типа ($187,2$ ($149,4$ – $571,8$) до $324,0$ ($238,2$ – $744,0$) пмоль \times мин/л ($p < 0,05$)).

Таким образом, исследования, проведенные Е. Маннусси и соавт. [26, 27], продемонстрировали, что МЕТ увеличивает уровень ГПП-1 как у пациентов с СД 2 типа, так и у пациентов с нормальной толерантностью к глюкозе.

В настоящее время предложены две гипотезы о механизмах влияния МЕТ на уровень ГПП-1. Препарат действует как прямой и/или косвенный секретагог ГПП-1 или как ингибитор дипептидилпептидазы 4, продлевая период полувыведения активного ГПП-1 [28, 29].

Заключение

С развитием молекулярно-генетических технологий появились новые данные о связи измененной кишечной микробиоты не только с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, но и с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа. Последние данные свидетельствуют о потенциальной роли МК как патогенного фактора, ассоциированного с метаболическими нарушениями. Очевидно, что поддержание гомеостаза и нормального обмена веществ невозможно без восстановления качественного состава микроорганизмов кишечника.

В настоящее время в научной литературе помимо диетотерапии и применения пре- и пробиотиков активно обсуждаются эффекты МЕТ на модуляцию микробиоты и макроорганизм. Установлено, что МЕТ влияет на синтез ГПП-1, и не исключено, что указанный эффект реализуется через микробиоту и синтез короткоцепочечных жирных кислот. В этой связи представляется актуальным изучить влияние агонистов рецепторов ГПП-1 на микробиоту кишечника не только с целью коррекции метаболических нарушений, но и возможного улучшения качественного и количественного состава микробиоты. ☼

Литература

- Lederberg J., McCray A. Ome Sweet 'Omics – a genealogical treasury of words // Scientist. 2001 // www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/13313/title/-Ome-Sweet--Omics---A-Genealogical-Treasury-of-Words/.
- Ley R.E., Turnbaugh P., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity // Nature. 2006. Vol. 444. № 7122. P. 1022–1023.
- DiBaise J.K., Zhang H., Crowell M.D. et al. Gut microbiota and its possible relationship with obesity // Mayo Clin. Proc. 2008. Vol. 83. № 4. P. 460–469.
- Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins // Nature. 2009. Vol. 457. № 7228. P. 480–484.
- Wu X., Ma C., Han L. et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes // Curr. Microbiol. 2010. Vol. 61. № 1. P. 69–78.
- Egshatyan L., Kashtanova D., Popenko A. et al. Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance // Endocr. Connect. 2016. Vol. 5. № 1. P. 1–9.
- Ley R.E., Backhed F., Turnbaugh P. et al. Obesity alters gut microbial ecology // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. № 31. P. 11070–11075.
- Armougom F., Henry M., Valette B. et al. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in Lactobacillus in obese patients and methanogens in anorexic patients // PLoS One. 2009. Vol. 4. № 9. ID e7125.
- Bailey C.J., Wilcock C., Scarpello J.H. Metformin and the intestine // Diabetologia. 2008. Vol. 51. № 8. P. 1552–1553.
- Sum C.F., Webster J.M., Johnson A.B. et al. The effect of intravenous metformin on glucose metabolism during hyperglycaemia in type 2 diabetes // Diabet. Med. 1992. Vol. 9. № 1. P. 61–65.
- Spindler S.R. Use of microarray biomarkers to identify longevity therapeutics // Aging Cell. 2006. Vol. 5. № 1. P. 39–50.
- Pryor R., Cabreiro F. Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets // Biochem. J. 2015. Vol. 471. № 3. P. 307–322.
- Forslund K., Hildebrand F., Nielsen T. et al. Disentangling the effects of type 2 diabetes and metformin on the

- human gut microbiota // *Nature*. 2015. Vol. 528. № 7581. P. 262–266.
14. Napolitano A., Miller S., Nicholls A.W. et al. Novel gut-based pharmacology of metformin in patients with type 2 diabetes mellitus // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. № 7. ID e100778.
 15. Karlsson F.H., Tremaroli V., Nookaew I. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control // *Nature*. 2013. Vol. 498. № 7452. P. 99–103.
 16. Lee H., Ko G. Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. Vol. 80. № 19. P. 5935–5943.
 17. Shin N.R., Lee J.C., Lee H.Y. et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice // *Gut*. 2014. Vol. 63. № 5. P. 727–735.
 18. De la Cuesta-Zuluaga J., Mueller N.T., 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. Vol. 40. № 1. P. 54–62.
 19. 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 // *Nat. Med.* 2017. Vol. 23. № 7. P. 850–858.
 20. Машикова М.А., Мохорт Т.В. Роль кишечной микрофлоры в развитии ожирения и сахарного диабета 2 типа // *Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал*. 2016. № 5. С. 64–70.
 21. De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Goncalves D. et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits // *Cell*. 2014. Vol. 156. № 1–2. P. 84–96.
 22. Lin H.V., Frassetto A., Kowalik E.J.Jr. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms // *PLoS One*. 2012. Vol. 7. № 4. ID e35240.
 23. Wei P., Yang Y., Li T. et al. A engineered Bifidobacterium longum secreting a bioactive penetratin-Glucagon-like peptide 1 fusion protein enhances Glucagon-like peptide 1 absorption in the intestine // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2015 [Epub ahead of print].
 24. Duan F.F., Liu J.H., March J.C. Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes // *Diabetes*. 2015. Vol. 64. № 5. P. 1794–1803.
 25. Lugari R., Dell'Anna C., Sarti L., Gnudi A. Effects of metformin on intestinal and pancreatic endocrine secretion in type 2 (non-insulindependent) diabetes // *Molecular and Cell Biology of Type 2 Diabetes and its Complications*. Switzerland: Karger, 1998. P. 161–163.
 26. Mannucci E., Tesi F., Bardini G. et al. Effects of metformin on glucagon-like peptide-1 levels in obese patients with and without type 2 diabetes // *Diabetes Nutr. Metab.* 2004. Vol. 17. № 6. P. 336–342.
 27. Mannucci E., Ognibene A., Cremasco F. et al. Effect of metformin on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and leptin levels in obese nondiabetic subjects // *Diabetes Care*. 2001. Vol. 24. № 3. P. 489–494.
 28. Mulherin A.J., Oh A.H., Kim H. et al. Mechanisms underlying metformin-induced secretion of glucagon-like peptide-1 from the intestinal L cell // *Endocrinology*. 2011. Vol. 152. № 12. P. 4610–4619.
 29. Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine // *Cell*. 2006. Vol. 124. № 4. P. 837–848.

Intestinal Microbiota Modulation by Metformin

N.E. Khachatryan^{1,2}, L.V. Egshatyan^{1,3}

¹ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

² A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Practical Center

³ National Medical Research Center of Endocrinology

Contact person: Lilit Vanikovna Egshatyan, lilit.egshatyan@yandex.ru

Recently data appeared on the role of the gut microbiota in obesity-related metabolic disorders and diabetes mellitus type 2 pathogenesis. Therefore, it is relevant to identify drugs aimed at hyperglycemia and metabolic disorders correction and influencing by the way of gut microbiota modulation. Their use can have positive effect on the macroorganism.

The article presents the literature review on the impact of oral antihyperglycemic therapy, particularly metformin, on gut microbiota. Metformin is commonly used as the first line of medication for the treatment of prediabetes and type 2 diabetes. The effect of metformin on the gut microbiota has been reported; however, the relationship between the gut microbiota and the mechanism of action of metformin in elderly individuals is unclear. Recently, metformin-induced changes in the abundance of Akkermansia muciniphila were shown to be associated with metabolic improvement. Metformin has also been reported to increase levels of glucagon-like peptide 1 in humans and it is possible that this effect is also realized through the modulation of gut microbiota. Metformin increase synthesis of short chain fatty acids by bacteria. It becomes relevant to study the influence of glucagon-like peptide 1 receptor agonists on gut microbiota and improvement of the qualitative composition of the microbiota.

Key words: obesity, diabetes type 2, insulin resistance, intestinal microbiota, metformin, glucagon-like peptide 1