

La disbiosi intestinale e il diabete

Concetta Irace

Dipartimento di Scienze della Salute, Università Magna Graecia di Catanzaro

Creator sessione "Critical Review" – 30° Congresso nazionale SID (Rimini 23-26 ottobre 2024)

Negli ultimi anni, la connessione tra microbiota intestinale e diabete è emersa come un ambito di ricerca innovativo, capace di offrire nuove chiavi di lettura nella comprensione dei meccanismi che sono alla base dell'insorgenza e della evoluzione delle diverse forme di diabete. L'equilibrio del microbiota sembrerebbe giocare un ruolo importante nella regolazione del metabolismo e del sistema immunitario, e la sua alterazione – nota come disbiosi intestinale – potrebbe influenzare non solo l'insorgenza del diabete ma anche la risposta ai trattamenti farmacologici.

Le tre Rassegne che seguono si propongono di fare il punto sulle evidenze disponibili in letteratura e stimolare, al tempo stesso, il dibattito su certezze, dubbi e prospettive future sul legame tra disbiosi e diabete di tipo 1 e 2.

Microbiota intestinale e farmaci ipoglicemizzanti: la comunicazione che cura

Gut microbiota and hypoglycaemic drugs: a “curing” dialogue

Mariangela Rubino, Velia Cassano, Marta Letizia Hribal

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università Magna Graecia di Catanzaro

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2501c>

ABSTRACT

In the world of holobionts the concept of identity has changed: the host organism and its microbiota should be seen as a single genomic, metabolic and functional unit; in this perspective, the microbiota can modulate the bioavailability and efficacy of non-antibiotic drugs, undergoing, vice versa, alterations in terms of bacterial composition. The aim of this review is to explore the intricate relationship between drugs used for the management of type 2 diabetes and the gut microbiota, and how this interaction could contribute to pharmacological efficacy.

KEYWORDS

Gut microbiota, hypoglycaemic drugs, pharmacomicrobiomics, metformin, SGLT2i, GLP-1RA.

INTRODUZIONE

Molto è cambiato da quando Paul Ehrlich, il padre fondatore della moderna farmacologia, sviluppò per la prima volta, nel 1909, un trattamento per la sifilide. I concetti da lui formulati sono ancora molto attuali: i composti farmacologici, i cosiddetti *proiettili magici*, sono progettati in maniera intelligente e sintetizzati con l'obiettivo di eliminare specifici tipi di cellule non desiderate senza determinare danno alle cellule sane del corpo umano (1). Nei successivi 100 anni questa visione semplicistica è stata superata; la genomica, la proteomica, e le tecniche di metabolomica, oltre allo sviluppo di modelli sperimentali preclinici, hanno portato ad una migliore compren-

sione dei fattori genetici ed ambientali che influenzano l'efficacia dei farmaci, ed all'identificazione di nuovi target e modulatori.

Le recenti acquisizioni sul ruolo del microbiota nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo ospite hanno permesso di sviluppare una nuova frontiera della farmacologia: la farmacomicrobiomica (2); l'obiettivo di tale disciplina è la comprensione dell'interazione tra ecosistema del microbiota intestinale, farmacologia, ambiente e genotipo dell'ospite, che determina l'eterogeneità interindividuale nella risposta ai farmaci, e che può portare allo sviluppo di una medicina ancora più personalizzata. Riemerge così il concetto di olobionte: una sovraentità di funzioni delle cellule dell'ospite e del microbiota, intesa come una singola unità genomica e metabolica, dove entrambe le entità fisiologiche sono sotto l'effetto della pressione selettiva, e possono equamente o distintamente subire o regolare gli effetti del loro ambiente circostante (3), generando un unico fenotipo funzionale (4).

Nello sviluppo dei farmaci, dovrebbe essere tenuto in conto l'effetto di questi ultimi sul microbiota e viceversa, passando così da una medicina di precisione ad una medicina basata sul microbiota, un componente chiave della farmacopea del XXI secolo, in quanto si identifica come modulatore, come target e come risorsa per i farmaci del futuro (5).

L'impatto degli antibiotici sulla composizione del microbiota è ben noto da molto tempo, ma studi su coorti di popolazioni hanno rilevato la relazione tra numerose

altre classi di farmaci e le caratteristiche del microbiota (6). La composizione del microbiota può essere modificata dall'utilizzo di farmaci non antibiotici (7) e, viceversa, il microbiota può alterare la farmacocinetica di un farmaco, producendo metaboliti che competono con il sito attivo target del farmaco (5), alterando il suo metabolismo ad opera dei citocromo P450 (8), influenzando il sistema immunitario dell'ospite e modulando la risposta di quest'ultimo a farmaci immunoterapici (9), o determinando l'insorgenza degli effetti collaterali; la farmacomicrobiomica può presentare almeno due importanti applicazioni nella pratica clinica: la combinazione dei profili microbiota e genetica per meglio predire la risposta individuale ad un trattamento, e la modulazione del microbiota intestinale per migliorare l'efficacia farmacologica a livello individuale, sviluppando trattamenti personalizzati ed individualizzati (2).

L'utilizzo di farmaci può influenzare la composizione del microbiota intestinale in differenti modi; sono stati proposti almeno due modelli: nel primo modello il farmaco può determinare la traslocazione del microbiota da altri siti corporei verso l'intestino; è il caso degli inibitori di pompa protonica, che possono ridurre la barriera acida dello stomaco, permettendo ai microbi del cavo orale di attraversare lo stomaco e raggiungere l'intestino determinando uno stato di disbiosi intestinale. Il secondo modello proposto prevede una azione diretta del farmaco sul microambiente intestinale influenzando direttamente la crescita batterica, o in alcuni casi inibendola; questo secondo modello può essere bidirezionale (9).

Alla luce delle evidenze, discusse nella Rassegna "Ruolo del microbiota intestinale nel diabete mellito di tipo 2: nuove prospettive terapeutiche" inclusa in questo numero, non stupisce che il microbiota intestinale sia influenzato dall'azione dei farmaci ipoglicemizzanti (10, 11) e che, viceversa, il microbiota intestinale possieda una azione diretta sull'azione dei farmaci attualmente utilizzati per il trattamento del Diabete Mellito di Tipo 2 (DMT2) (11, 12), e che sia in grado di modularne gli effetti collaterali (13). Nonostante il riconoscimento della interazione tra microbiota intestinale e farmaci ipoglicemizzanti sia ampiamente riconosciuto, il ruolo del microbiota sulla efficacia e sulla sicurezza farmacologica non è pienamente compreso. L'interazione tra microbiota intestinale, fisiopatologia e fenotipizzazione del soggetto diabetico, e farmaci utilizzati per il DMT2 è complessa e bidirezionale (14).

COME I FARMACI IPOGLICEMIZZANTI INFLUENZANO LA COMPOSIZIONE DEL MICROBIOTA INTESTINALE

Biguanidi

La metformina è il farmaco ipoglicemizzante più comunemente utilizzato per il trattamento del DMT2, soprattutto nelle forme associate ad obesità ed insulino resistenza, ed è il farmaco ipoglicemizzante i cui effetti sul microbiota intestinale sono i più studiati.

Già nel 1984, Bonora et al (15) dimostrarono che la somministrazione intravenosa di metformina non presentava il medesimo effetto ipoglicemizzante rispetto alla formulazione orale, suggerendo la mediazione dell'intestino nella regolazione del metabolismo glucidico ad opera della metformina; ricerche successive dimostrarono che la biodisponibilità della metformina aveva origine dall'intestino, dove agisce stimolando il metabolismo anaerobico del glucosio, incrementando i lattati (16), e che le formulazioni a lento rilascio del farmaco, che agiscono esclusivamente a livello intestinale, esibivano proprietà ipoglicemizzanti sovrapponibili alle formulazioni standard, nonostante una riduzione significativa dell'esposizione sistemica (17). La concentrazione di tale molecola è infatti quasi 300 volte maggiore a livello intestinale che a livello plasmatico (16); l'intestino pertanto è il maggiore sito di esposizione alla metformina ed è responsabile dei suoi effetti ipoglicemizzanti (17).

Recentemente la relazione tra metformina ed intestino è stata rivista (18); la metformina può influenzare il microambiente intestinale modulando l'uptake del glucosio e la sua utilizzazione, incrementando i livelli di Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) e degli acidi biliari ed alterando la composizione del microbiota intestinale, fattori che contribuiscono ai suoi effetti pleiotropici.

Non è però completamente compreso il meccanismo attraverso il quale il microbiota intestinale contribuisce alla capacità della metformina di regolare l'omeostasi glucidica. La presenza di tale molecola a livello intestinale suggerisce che la metformina sia in grado di indurre alterazioni della composizione e della funzione del microbiota, migliorando la disbiosi associata al DMT2 (10, 19, 20) ed alle condizioni di prediabete (21), oltre ad apportare modifiche nei soggetti sani (22).

Quali sono i batteri coinvolti? È impensabile poterli elencare tutti, ma cercheremo di riassumere le principali

phyla e specie coinvolte, e quali sono le implicazioni molecolari e cliniche.

I primi studi sulle alterazioni del microbiota in soggetti affetti da DMT2 ed in trattamento con metformina sono piuttosto recenti; la ricerca precedente era rivolta soprattutto allo studio di modelli murini o modelli in vitro. Napolitano et al valutarono pazienti affetti da DMT2, in monoterapia con metformina o senza trattamento, per meglio caratterizzare il coinvolgimento del microbiota nel meccanismo d'azione della metformina; la specie batterica maggiormente rappresentata nella popolazione di Napolitano in trattamento con metformina era *Adlercreutzia spp*, dei batteri noti per metabolizzare gli isoflavonoidi della soia, che presentano effetti positivi sul metabolismo glucidico (23).

Nel 2017 Wu et al riportarono delle modifiche nella composizione del microbiota intestinale in soggetti affetti da DMT2 naive al trattamento, dopo 4 mesi di assunzione di metformina, principalmente per i phyla γ -*Proteobacteria* e *Firmicutes*; la composizione si modificava con un incremento di *Escherichia spp*, ed una riduzione di *Intestinibacter spp*, e si osservava altresì un significativo incremento delle concentrazioni di propionato e butirato fecali, da parte di *Bacteroides spp*, nel gruppo di soggetti trattati con metformina. Gli stessi autori riportarono, inoltre, come il trapianto di campioni fecali di soggetti trattati con metformina in topi nutriti con dieta ad elevato contenuto di grassi fosse sufficiente per migliorare la tolleranza glucidica di questi ultimi (24).

In uno studio retrospettivo De la Cuesta-Zuluaga et al rilevarono che pazienti affetti da DMT2 in trattamento con metformina presentavano una maggiore abbondanza relativa di *Akkermansia muciniphila* degradatori di mucina, con associato incremento di cellule produttrici di mucina, e di numerosi tipi di batteri produttori di acidi grassi a catena breve (SCFA) rispetto ai soggetti non affetti da DMT2, quali *Butyrivibrio*, *Bifidobacterium bifidum*, *Megasphaera*, *Shewanella* e *Blautia*, oltre ad una riduzione di *Intestinibacter bartlettii*, *Roseburia*, *Intestinibacter*, *Ruminococcaceae*, *Subdoligranulum* ed un cluster di *Clostridium spp* produttore di butirato (10, 18, 24); nei soggetti diabetici che non assumevano metformina era riscontrata una abbondanza relativa maggiore per *Clostridiaceae o2do6* e minore per *Enterococcus casseliflavus* (25).

Numerosi trial clinici hanno confermato che i soggetti affetti da DMT2 che assumevano metformina mostrava-

no un incremento di *Enterobacteriales* e *Akkermansia muciniphila* (25, 26). L'incremento di *Akkermansia muciniphila*, e *Clostridium cocleatum* è stato dimostrato anche in campioni fecali di topi sottoposti a dieta ad elevato contenuto di grassi e trattati con metformina (27, 28).

In un trial randomizzato, disegnato al fine di valutare le alterazioni a lungo termine determinate dalla metformina sul microbiota, con follow-up a 6 e 12 mesi, è stato dimostrato che la metformina incrementava *Escherichia coli* e *Ruminococcus torques*, riducendo *Intestinibacter bartlettii* e *Roseburia intestinalis*; la popolazione arruolata in questo trial era costituita da soggetti con anamnesi positiva per neoplasia, in sovrappeso o obesa (29). L'incremento di *Escherichia coli* e la riduzione di *Intestinibacter spp* è stata confermata, su soggetti affetti da DMT2, da Forslund et al (10).

Farmaci ipoglicemizzanti come la metformina sembrano modulare inoltre il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, con un impatto sul metabolismo glucidico e sulla sensibilità insulinica (30) (Fig. 1).

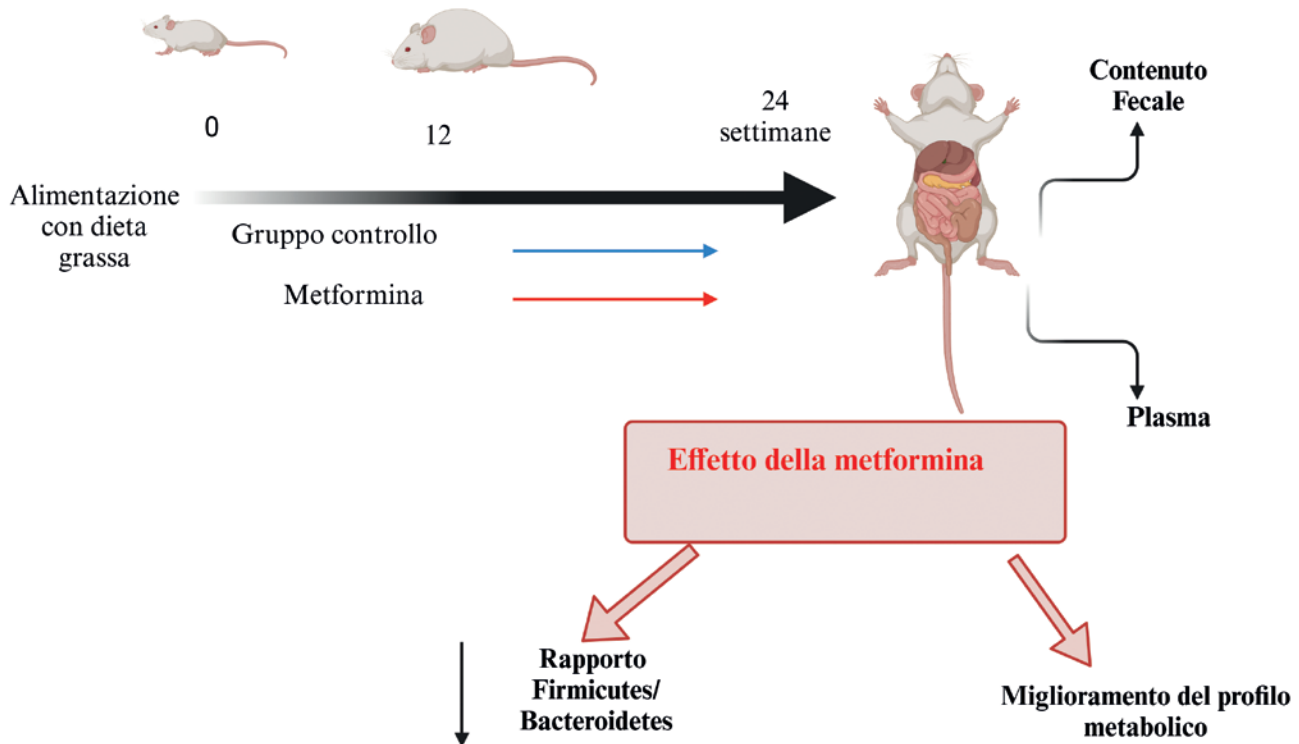
In uno studio condotto su soggetti sani la metformina ha determinato un incremento della quantità di *Escherichia/Shigella spp*, e *Bilophila wadsworthia*, ed una riduzione della quantità di *Clostridium spp*, e *Intestinibacter spp*, confermando una azione diretta della metformina sulla composizione del microbiota piuttosto che un effetto secondario al migliorato compenso glicemico (22).

La modulazione della composizione microbica e del suo metabolismo può contribuire agli effetti collaterali dei farmaci (18): i disturbi gastrointestinali associati all'utilizzo della metformina sono legati ad un incremento di *Escherichia* e *Shigella spp* (31) in aggiunta la metformina sembra interrompere il metabolismo batterico dei folati nel modello sperimentale di *Caenorhabditis elegans* (32); questo potrebbe spiegare la riduzione della concentrazione di folati associata al suo utilizzo (33).

Burton et al (13) hanno dimostrato che la combinazione di metformina con un modulatore del microbiota intestinale nei soggetti con DMT2 intolleranti al farmaco migliorava il compenso glicemico ed i livelli di glicemia, oltre ad eliminare gli effetti collaterali, che sembrano quindi dipendere dalla disbiosi legata al DMT2 piuttosto che dalla presenza a livello intestinale della metformina.

Quali sono i meccanismi mediante i quali il microbiota intestinale riesce a mediare l'effetto ipoglicemizzante della metformina?

Figura 1 ♦ Effetti della metformina sulla modulazione del microbiota intestinale in topi alimentati con dieta grassa. Mod da (30)



Una analisi metagenomica del microbiota ha suggerito che la metformina agisce modulando la produzione di SCFA, inclusi acetato, propionato, butirato e lattato, i maggiori prodotti della fermentazione del cibo non digeribile da parte dei batteri anaerobi (25), o attraverso il controllo della degradazione della mucina, nonché attraverso l'interferenza con potenziali geni microbici codificanti per metalloproteine o trasportatori di metalli (24) e con numerosi pathways, come di seguito dettagliato (10, 25, 28, 34).

L'incremento della produzione di SCFA, soprattutto butirato e propionato, attiva la gluconeogenesi intestinale, migliora il controllo glicemico e riduce la produzione epatica di glucosio, l'appetito ed il peso corporeo (35, 36); gli SCFA sono responsabili del migliorato metabolismo energetico in soggetti obesi, e della riduzione della produzione dei lipopolisaccaridi (LPS) da parte del microbiota intestinale (37).

Le modifiche indotte dalla metformina a livello del microbiota intestinale che possono regolare l'omeostasi glucidica possono interessare la promozione dell'integrità della barriera intestinale. I disordini metabolici sono

correlati ad una maggiore permeabilità della barriera intestinale, che permette il passaggio di LPS inducendo una infiammazione cronica che causa insulino-resistenza (38).

La metformina incrementa l'abbondanza relativa di *Akkermansia muciniphila* sia in modelli murini (27, 28) che nell'uomo (10, 24). Una proteina di membrana isolata da *Akkermansia muciniphila* sembra attivare il Toll Like Receptor 2 (TLR2), migliorando la funzione della barriera intestinale e limitando la endotossemia associata al DMT2 (39). In aggiunta, l'espressione dei geni MUC2 e MUC5, che contribuiscono ai livelli di mucina, era incrementata in topi trattati con metformina e sottoposti a dieta ad elevato contenuto di lipidi; l'incremento di MUC2 si associa ad un ripristino delle tight junction quali zonulina-1 ed occludina, con conseguente ripristino della permeabilità intestinale (28). L'abbondanza di *Akkermansia Muciniphila* si associa agli effetti antinfiammatori forniti dal trattamento con metformina, con una significativa riduzione dei livelli di mRNA di IL-6 ed IL-1 β (27). La modulazione delle suddette citochine proinfiammatorie correla anche con l'abbondanza di *Bacteroides* e *Butyricimonas* (40).

Infine, Zhang et al hanno dimostrato che il trattamento con metformina determinava una inibizione della trasmissione del segnale mediata da TLR/NF- κ B (41).

Un ulteriore meccanismo mediante il quale il microbiota potrebbe mediare gli effetti della metformina è la secrezione degli ormoni intestinali: nei soggetti che assumono tale farmaco è stato infatti riscontrato un incremento dei livelli plasmatici di Glucagon-Like Peptide-1 (GLP)-1, e alcuni studi riportano anche un incremento del Peptide YY (PYY), coinvolto nel controllo del senso di fame (42). In particolare, è stata osservata una correlazione tra i livelli di PYY e l'abbondanza di *Bacteroidetes* e *Firmicutes spp* in campioni fecali di soggetti con DMT2 in trattamento in monoterapia con metformina (23).

La secrezione di GLP-1 e PYY da parte delle cellule enteroendocrine sembra essere mediate dagli SCFA, sia attraverso l'accoppiamento con i recettori di membrana associati a proteine G (GPR)-41 e GPR-43 espresse sulle cellule enteroendocrine L (43), sia attraverso la loro attività inibitoria sull'istone deacetilasi (44). La metformina può indirettamente stimolare il rilascio di questi ormoni attraverso la promozione della crescita di specie produttrici di SCFA.

L'espressione di SGLT1, il principale trasportatore responsabile della secrezione di GLP-1 stimolata dal glucosio, sembra essere ridotta nel piccolo intestino di topi nutriti con una dieta ad elevato contenuto di lipidi (34). La metformina ripristina l'espressione di SGLT1 e la sensibilità al glucosio incrementando l'abbondanza relativa di *Lactobacillus*, suggerendo un legame tra questo phylum e l'espressione di SGLT1; inoltre, quando cellule intestinali Caco-2 erano incubate con *Lactobacillus*, si verificava un incremento dell'espressione del gene GPR120, noto per influenzare l'espressione di GLP-1 (45). Il trapianto di microbiota di ratti trattati con metformina in topi nutriti con dieta ad elevato contenuto calorico ripristinava l'espressione di SGLT1 ed il sensing al glucosio, confermando un meccanismo mediato dal microbiota (34).

Un contributo all'azione ipoglicemizzante della metformina, mediato dal microbiota intestinale, è legato anche alla sua interazione con il pool di acidi biliari (23, 46-48); l'azione degli acidi biliari è quella di solubilizzare i lipidi per l'uptake intestinale; tuttavia, gli acidi biliari influenzano il metabolismo mediante il loro legame ai recettori Taked G Protein 5 (TGR5) e del farnesoide X (FXR). L'attività di TGR5 è legata alla produzione di GLP-1 (49),

mentre l'azione di FXR si esplica con un effetto sulla tolleranza glucidica e sulla sensibilità insulinica (50); la metformina può stimolare indirettamente la secrezione di GLP-1 inibendo FXR attraverso un meccanismo mediato dalla chinasi AMPK, che ha come risultato una riduzione del sensing e dell'assorbimento ileale degli acidi biliari; l'incremento del pool degli acidi biliari può stimolare il recettore TGR5 a livello delle cellule L intestinali, determinando un incremento della secrezione di GLP-1 attraverso la fosforilazione ossidativa mitocondriale e l'influsso di calcio (49).

La metformina riduce l'abbondanza relativa di *Bacteroides fragilis* e la sua attività di idrolasi degli acidi biliari (BSH), con conseguente incremento di acido glicoursodesossico, un acido biliare che sembra migliorare l'insulino-resistenza attraverso l'inibizione del segnale intestinale di FXR (il cosiddetto asse *B. fragilis*-GUDCA-FXR) (48).

L'utilizzo della metformina si associa a modifiche nel potenziale metabolico del microbiota, in particolare con un incremento della produzione di butanoato, della biosintesi di chinone, della degradazione dei derivati dei carboidrati, e con una resistenza alla polimixina. In particolare, *Enterobacteriaceae spp*, soprattutto *Escherichia coli*, sono i maggiori contribuenti alle modifiche funzionali associate all'utilizzo della metformina. Le modifiche fisiologiche indotte dalla metformina possono fornire un vantaggio competitivo alle specie enterobatteriche, con potenziali implicazioni sulla salute dell'organismo (6).

Inibitori delle α glucosidasi

Gli inibitori delle α glucosidasi, incluso acarbiosio, voglibosio e miglitolo, sono farmaci attivi nel rallentare la digestione dei carboidrati e nel ridurre l'iperglicemia postprandiale; tali farmaci inibiscono l'idrolisi dei carboidrati legandosi alla maltasiglucosamylasi (MGAM) intestinale umana e alla sucralasi-isomaltasi (SI), e di conseguenza ritardano e riducono l'assorbimento di glucosio. Non stupisce che tali farmaci abbiano un impatto sulla composizione del microbiota: ritardando la digestione e l'assorbimento dei carboidrati a livello del piccolo intestino, determinano modifiche qualitative e quantitative dei substrati disponibili per il microbiota intestinale, influenzando in tal modo la crescita ed il metabolismo di specifiche specie batteriche, in rapporto alla composizione del pasto introdotto (51); è interessante osservare come tali molecole abbiano origini microbiche (52), favorendo

la crescita di determinate specie batteriche rispetto ad altre (53).

In uno studio cinese condotto su 95 soggetti affetti da DMT2, randomizzati all'assunzione di acarbosio o di placebo, si è visto come la composizione del microbiota al basale dei soggetti diabetici mostrava ridotti livelli di *Bifidobacterium longum* ed elevati livelli di *Enterococcus faecalis* rispetto ai controlli sani; dopo 4 settimane di trattamento, i soggetti trattati con acarbosio mostravano un incremento di *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus* ed una riduzione di LPS e dei livelli di inibitore dell'attivatore della protrombina 1. Questi risultati suggeriscono che il trattamento con acarbosio può alterare il microbiota intestinale e ridurre i livelli di citochine infiammatorie nei pazienti diabetici (54).

In soggetti prediabetici è stata altresì osservata una riduzione di *Butyricoccus*, *Phascolarctobacterium*, e *Ruminococcus* ed un incremento di *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, e *Dialister* dopo assunzione di acarbosio, l'ultimo dei quali correlava negativamente con i livelli di glucosio plasmatico (55).

La somministrazione per 12 settimane di voglibosio in topi obesi sottoposti a dieta ad elevato contenuto di lipidi, ha determinato la riduzione del rapporto Firmicutes/Bacteroides con un miglioramento del profilo glicemico e lipidico, ed un incremento di acido taurocolico, colico e desossicolico (56). Studi su topi hanno inoltre dimostrato che il miglitolo era in grado di ridurre il tempo di transito intestinale così come di sopprimere i marker istologici e molecolari di infiammazione indotti da una dieta ad elevato contenuto di lipidi e carboidrati, così come era in grado di ripristinare l'incremento in Erysipelotrichaceae e Coriobacteriaceae indotto dalla dieta (57).

Come nel caso della metformina, Smith et al hanno osservato, oltre a specifiche alterazioni della composizione microbica con una prevalenza di Muribaculaceae, anche un incremento della concentrazione di SCFA in topi trattati con acarbosio rispetto al gruppo di controllo, per un maggiore afflusso di amidi verso il piccolo intestino; le comunità microbiche e gli SCFA fecali osservati in tale studio, in particolare acetato, butirrato e propionato, erano predittivi di longevità nei topi trattati con acarbosio (58). L'acarbosio incrementa i livelli sierici di butirrato in soggetti con intolleranza ai carboidrati ed in soggetti affetti da DMT2 (51). Tale modulazione dipende dalla maggiore quantità di fibre insolubili che raggiungono il piccolo

intestino (59); all'incremento di butirrato si associa una riduzione significativa della produzione di acetato e propionato (60).

Gli effetti dell'acarbosio sono altresì mediati dall'asse microbiota intestinale-acidi biliari: l'acarbosio incrementa l'abbondanza relativa di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, mentre riduce quella di *Bacteroides*, portando ad una alterata abbondanza relativa di geni microbici che sono responsabili del metabolismo degli acidi biliari. L'esito del trattamento con acarbosio dipende dalla composizione del microbiota prima dell'intervento, e può essere predetto sulla base della predominanza tra *Bacteroides* o *Prevotella*: differenti capacità della flora di metabolizzare gli acidi biliari hanno come esito differenti effetti terapeutici, in particolare i pazienti con una abbondanza relativa di *Bacteroides* prima del trattamento con acarbosio mostravano maggiori modifiche nei livelli di acidi biliari plasmatici e migliorati parametri metabolici (11).

Agonisti del recettore di GLP-1

Il GLP-1 è un ormone incretinico prodotto dalle cellule intestinali endocrine (cellule L) in risposta all'ingestione di cibo. L'azione ipoglicemizzante di tale ormone è mediata, tra le altre, dalla secrezione insulinica indotta dal glucosio da parte delle β cellule pancreatiche e dalla soppressione della secrezione di glucagone ad opera delle α cellule pancreatiche; tale molecola contribuisce all'inibizione dell'appetito ed al senso di ripienezza gastrica, con le ben note applicazioni per i soggetti obesi (61, 62).

Abbiamo già visto come il microbiota intestinale moduli la sazietà e l'omeostasi glucidica inducendo la secrezione di GLP-1(43). GLP-1 rallenta il transito intestinale e l'assorbimento di nutrienti, modificando il microambiente al quale è esposto il microbiota (63).

Il meccanismo attraverso il quale il microbiota intestinale può influenzare la motilità gastrica è attribuito alla soppressione dell'espressione del recettore del GLP-1 nel tratto gastrointestinale. Grasset et al hanno dimostrato che la sensibilità al GLP-1 era modulata dal microbiota intestinale attraverso un meccanismo dipendente dall'ossido nitrico a livello del sistema nervoso enterico: i topi che presentavano resistenza al GLP-1 mostravano una riduzione in *Lactobacillus*, ed un incremento nella abbondanza relativa di Porphyromonadaceae (64).

L'utilizzo di analoghi del GLP-1 (GLP-1RA) è correlato a modifiche nella composizione del microbiota intestina-

le; i dati sull'azione degli analoghi del GLP-1 sulla modulazione del microbiota intestinale provengono principalmente da studi su modelli murini.

Wang et al hanno osservato un sostanziale riarrangiamento della struttura batterica nei topi trattati con liraglutide, con una riduzione dell'abbondanza dei phyla batterici associati all'obesità ed un relativo incremento dell'abbondanza dei phyla associati alla magrezza, postulando che i livelli di GLP-1, influenzando la durata del transito intestinale, possano modificare l'ambiente all'interno del lume intestinale, in termini di pH e composizione di nutrienti, alterando così la composizione del microbiota (63, 65). Gli stessi autori hanno inoltre dimostrato che la somministrazione di liraglutide in topi diabetici con normale peso corporeo modulava il rapporto Firmicutes/Bacteroides a favore dei primi (63). Tale dato tuttavia non è stato confermato in uno studio successivo, che mostrava come il rapporto Firmicutes/Bacteroides fosse a favore dei Bacteroides (65). Questa discrepanza può essere legata al differente modello murino utilizzato, o alle condizioni pretrattamento.

Oltre alle alterazioni del rapporto Firmicutes/Bacteroides, la somministrazione di liraglutide in topi diabetici era associata all'incremento di batteri produttori di SCFA, inclusi Bacteroides, Lachnospiraceae, e Bifidobacterium (66), confermando le evidenze di Zhao sul rapporto Firmicutes/Bacteroides a favore dei Bacteroides (65).

Incrementando il rapporto Bacteroides/Firmicutes, la liraglutide è in grado di influenzare il sistema immunitario, riducendo le cellule Th1 ed incrementando le cellule Treg e le cellule linfoidi innate -1 e -3, quest'ultime legate al metabolismo del nitrogeno e delle purine, modulando la secrezione insulinica indotta dal glucosio (67).

L'azione della liraglutide è stata dimostrata anche in studi sull'uomo: il trattamento con tale molecola per 4 mesi di 40 soggetti affetti da DMT2 ha determinato sostanziali modifiche nella composizione del microbiota intestinale con un incremento del genere Bacteroidetes ed una riduzione di Ruminococcus e Actinomyces (68).

Il trattamento con liraglutide si associa altresì ad un incremento della abbondanza relativa di *Akkermansia muciniphila*, con i noti effetti protettivi a carico della barriera intestinale; l'incremento in *Akkermansia muciniphila*, in un trial condotto da Wang nel 2018 era però dipendente dalla durata del diabete (69).

Inibitori di DPP-4

Gli inibitori di DPP-4 (DPP4-i) esercitano il loro effetto ipoglicemizzante principalmente attraverso l'inibizione della degradazione del GLP-1 (61).

Nel 2006 Drucker et al (61) rilevarono una attività simil DPP4 del microbiota intestinale, destinandola ad un eventuale target farmacologico dei DPP4-i per la regolazione dell'omeostasi glucidica e della disbiosi del microbiota intestinale; Prevotella e Lactobacillus appaiono principalmente coinvolti in questa attività (70).

Come per gli agonisti recettoriali del GLP-1 anche per i DPP4-i gli studi sull'effetto di tali molecole sul microbiota intestinale sono condotti prevalentemente su modelli murini. Liao et al osservarono, su modelli murini sottoposti ad alimentazione ad elevato contenuto lipidico, come i DPP4-i fossero in grado di migliorare l'omeostasi glucidica incrementando l'abbondanza relativa di Bacteroidetes, ripristinando le modifiche indotte sul microbiota dal regime alimentare impostato, ed apportando modifiche funzionali favorevoli per l'organismo ospite, quali un incremento degli SCFA (71).

Topi sottoposti ad alimentazione ad elevato contenuto lipidico ed affetti da DMT2 mostravano una riduzione del phylum Bacteroidetes, ed un incremento di Firmicutes e Tenericutes; il trattamento con sitagliptin correggeva parzialmente la disbiosi del microbiota, ed incrementava l'abbondanza relativa di batteri produttori di SCFA (72). Gli stessi dati, su modelli murini affetti da DMT2, sono stati confermati dal trattamento con vildagliptin (73), mentre il saxagliptin riesce a modulare la produzione di SCFA (63). Il trattamento con saxagliptin sembra tuttavia avere effetti opposti sulla distribuzione del microbiota: le feci di topi sottoposti a dieta ad elevato contenuto di lipidi e trattati con saxagliptin sono ricche in Firmicutes, principalmente del genere Lactobacillus, Allobaculum e Turicibacter, mentre contengono meno Bacteroides e Prevotella, inducendo una riduzione nel phylum Bacteroidetes (63).

Il vildagliptin è associato altresì ad una ulteriore alterazione del microbiota di modelli murini sottoposti ad alimentazione occidentale, con un incremento dei *Lactobacilli spp* e della produzione di proprionato, e con una riduzione di *Oscillibacter spp* (74). Olivares et al hanno dimostrato come il vildagliptin fosse in grado di ridurre i ligandi del TLR2 e -4 a livello ciecale, e di ripristinare l'espressione di peptidi antimicrobici (AMPs) e la profon-

dità delle cripte ileali; gli stessi autori hanno dimostrato come il vildagliptin fosse inoltre in grado di ridurre l'espressione genica di citochine proinfiammatorie a livello epatico (74).

Il miglioramento della composizione del microbiota intestinale ad opera di sitagliptin può essere mediato da una riduzione dell'edema della parete intestinale, dello stato infiammatorio intestinale, e dal mantenimento dell'integrità della barriera mucosa intestinale (72).

Inibitori di SGLT2

Gli inibitori di SGLT2 (SGLT2-i), la più recente classe di farmaci ipoglicemizzanti, permettono di raggiungere il compenso glicemico attraverso l'incremento dell'escrezione urinaria di glucosio, oltre a ridurre il rischio cardiovascolare ed a svolgere azione nefroprotettiva (75).

I dati sull'impatto di tali molecole sulla composizione del microbiota intestinale sono discordanti.

Studi condotti su modelli murini affetti da DMT2 mostrano che il trattamento con dapagliflozin determina, dopo 8 settimane, una riduzione della stiffness arteriosa, e dei livelli di glicemia, oltre che una riduzione del rapporto Firmicutes/Bacteroides e di Oscillospira, ed un incremento dell'abbondanza relativa di *Akkermansia muciniphila* (76). Tale dato non è stato tuttavia confermato da un secondo studio su modello murino con DMT2, nel quale il trattamento con dapagliflozin incrementava la abbondanza relativa di Proteobacteria (in particolare Desulfovibrionaceae) e non influenzava il rapporto Firmicutes/Bacteroides (77).

In un lavoro del 2019 condotto su topi db/db, il trattamento con dapagliflozin ha determinato una riduzione nell'abbondanza di Adlercreutzia e Alistipes, così come un incremento dell'abbondanza di Streptococcus (78).

Studi condotti su modelli umani hanno dimostrato che gli SGLT2i non esercitano effetti sul microbiota intestinale; in particolare, il trial di van Bommel, in cui i partecipanti sono stati randomizzati ad assumere gliclazide o dapagliflozin per 12 settimane, non ha mostrato alcuna azione, per entrambe le molecole, sulla composizione del microbiota; i partecipanti allo studio erano stati trattati precedentemente con metformina; questo può avere oscurato i potenziali effetti del dapagliflozin sul microbiota intestinale (79).

Deng nel suo studio (80) condotto su 76 pazienti naive da trattamento ipoglicemizzante e con fattori di rischio per

malattie cardiovascolari ha randomizzato i soggetti a ricevere trattamento con metformina o con empagliflozin per 3 mesi. Empagliflozin alterava i metaboliti plasmatici ed il microbiota intestinale attraverso un meccanismo differente da quello della metformina: è stato dimostrato un incremento dei livelli dei batteri produttori di SCFA, quali Roseburia, Eubacterium, Ruminococcaceae e Faecalibacterium, ed una riduzione di numerosi batteri gram negativi potenzialmente pericolosi inclusi Escherichia, Shigella, Bilophila, e Hungatella (Fig. 2), molti dei quali sono patogeni opportunisti che inducono infiammazione e danneggiano la funzione della barriera intestinale, contribuendo all'insulino-resistenza, all'iperglicemia ed alle malattie cardiovascolari (81).

LX4211, un doppio inibitore di SGLT1 ed SGLT2 può ridurre l'assorbimento intestinale di glucosio mediante l'inibizione di SGLT1 e può stimolare il rilascio di GLP-1 e PYY. Questi effetti possono essere mediati dagli SCFA prodotti dalla fermentazione intestinale del glucosio non assorbito (82).

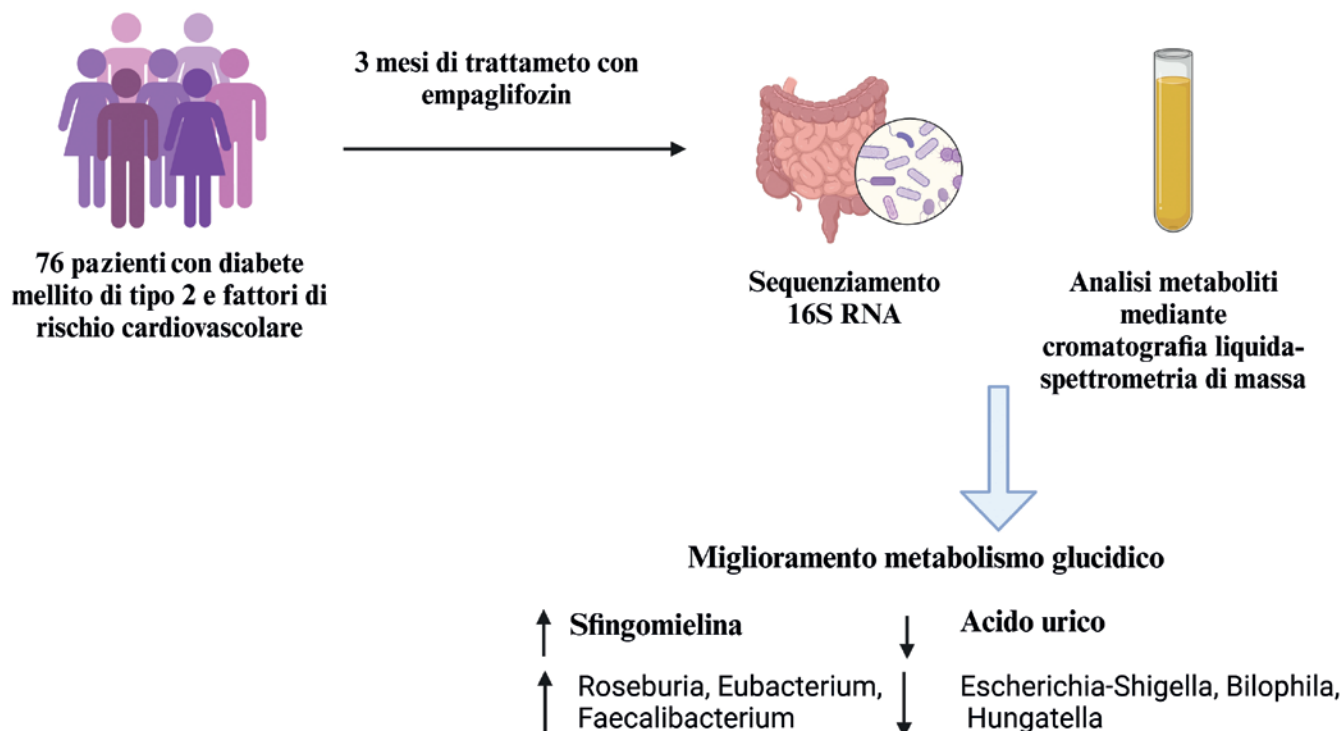
La florizina è uno dei fitonutrienti contenuti nelle mele che contribuisce alla promozione della salute; possiede attività di inibizione di SGLT2, tuttavia la sua bassa biodisponibilità non riesce a far comprendere pienamente i suoi meccanismi farmacologici. La somministrazione di florizina a topi obesi sottoposti a dieta ad elevato contenuto di lipidi ha determinato un incremento della produzione di SCFA ed una inibizione della produzione fecale di LPS, oltre che una aumentata secrezione di GLP-2 ed un ripristino del danno della barriera intestinale, suggerendo un meccanismo d'azione della florizina che è indipendente dalla scarsa biodisponibilità ematica (83).

Tiazolidinedioni

I farmaci tiazolidinedionici possono alterare il bilancio del microbiota intestinale (14). Le evidenze su tale classe di farmaci sono scarse e provengono da pochi studi condotti su modelli murini, con azione su differenti phyla batterici rispetto ai farmaci che abbiamo considerato finora.

La somministrazione di pioglitazone a topi sottoposti a dieta ad elevato contenuto di fruttosio modificava parzialmente la composizione del microbiota intestinale, con un miglioramento del quadro infiammatorio intestinale e della integrità della barriera epiteliale, e con una azione su differenti pathways metabolici (84); tra i meccanismi ipotizzati emerge l'inibizione della prevalenza

Figura 2 ♦ Effetti di empaglifozin su metaboliti plasmatici e microbiota intestinale, in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e fattori di rischio cardiovascolare (80)



di batteri patogeni come *Deferribacteraceae* (84). Un meccanismo di inibizione simile è stato osservato in modelli murini sottoposti a dieta ad elevato contenuto di lipidi; la somministrazione di pioglitazone sopprimeva l'incremento dei *Proteobacteria* derivato dalla dieta (85).

Una dieta ad elevato contenuto di lipidi è in grado di modificare la distribuzione spaziale dei batteri e di influenzare drasticamente la composizione del microbiota con un incremento di *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia*, ed una riduzione di *Bacteroidetes*; ulteriori alterazioni indotte da una dieta ad elevato contenuto di lipidi includono un incremento della permeabilità intestinale ed una riduzione della secrezione ileale di cloro, responsabile della alterazione del muco; questo fenotipo viene ripristinato dopo una settimana di dieta standard o con il trattamento con rosiglitazone (86).

Tale dato è stato confermato da Madsen et al, che hanno dimostrato che il rosiglitazone migliora l'omeostasi glucidica, senza tuttavia influenzare il microbiota intestinale in topi diabetici db/db (87).

È stato infine dimostrato che il pioglitazone è in grado di migliorare la struttura microbica dei topi KKAY, ma riduce la diversità microbica (88).

Insulina e sulfaniluree

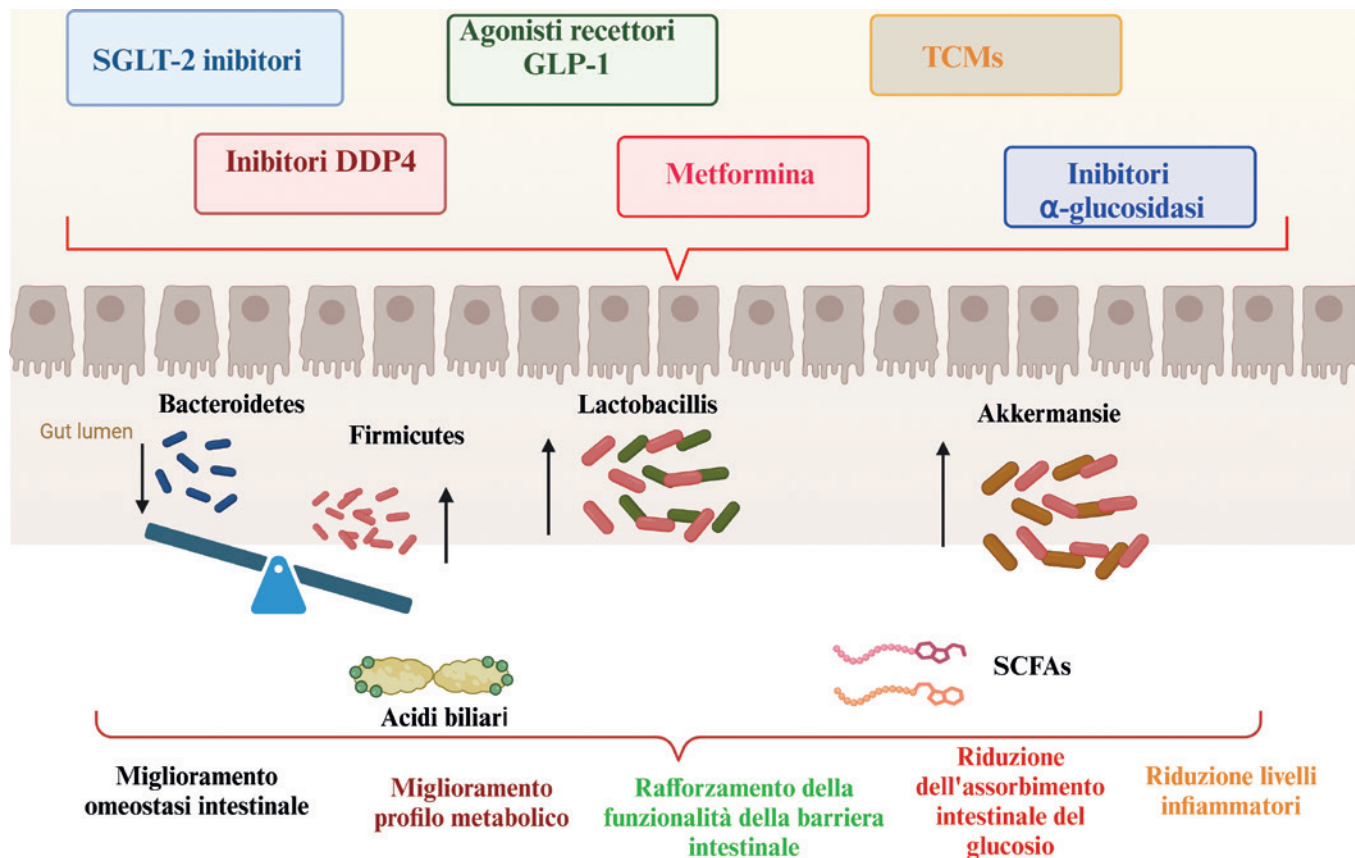
Le informazioni relative a queste ultime due classi di farmaci ipoglicemizzanti sono scarse.

L'insulina incrementa l'abbondanza di *Fusobacterium*, che induce l'espressione dei geni coinvolti nel metabolismo dei trigliceridi e dell'acido arachidonico (89).

Uno studio che indagava l'effetto della sulfanilurea glipizide sul microbiota di individui con DMT2 non ha riportato modifiche significative nell'abbondanza relativa di entrambe le specie ed a livello genico (11).

CONCLUSIONI

I farmaci ipoglicemizzanti attualmente utilizzati possiedono numerosi effetti sul microbiota intestinale, primo fra tutti una alterazione dell'abbondanza relativa di singole specie generi o phyla (Fig. 3). La metformina possiede certamente effetti maggiori sul microbiota intestinale rispetto ad altri farmaci, ma è stata sicuramente più studiata; i farmaci più moderni necessitano di ulteriori studi, soprattutto sull'uomo, per meglio comprendere i loro effetti che vanno oltre il compenso glicemico, con azioni che sono ben più complesse rispetto al motivo per il quale

Figura 3 ♦ Relazione tra microbiota intestinale e farmaci ipoglicemizzanti

tali farmaci sono stati progettati: parliamo delle nuove categorie, SGLT2-i e GLP-1RA.

Modifiche comuni a tutte le classi farmacologiche esaminate sono certamente una riduzione del rapporto Firmicutes/Bacteroidetes ed un incremento di *Akkermansia muciniphila* con le dovute eccezioni legate al singolo farmaco o alla selezione della popolazione; l'effetto globale è legato alla modulazione del sistema infiammatorio, alla secrezione di SCFA, ed al ripristino dell'integrità della barriera intestinale.

Una importante risposta all'effetto dei farmaci menzionati è la maggiore presenza di batteri produttori di SCFA, con effetti sul compenso glicemico, sullo stato di insulino-resistenza, e sull'infiammazione sistemica; a ciò si associa la modulazione del pool degli acidi biliari, in particolare l'asse *B. fragilis*-GUDCA-FXR. L'interazione tra SCFA ed acidi biliari modula la secrezione di GLP-1 e di PYY oltre che l'attività di SGLT1.

L'effetto terapeutico dei farmaci ipoglicemizzanti è influenzato dalle capacità enzimatiche dei batteri presenti nel lume intestinale: è presente una elevata omologia tra

il target degli inibitori dell' α glucosidasi umana e l' α glucosidasi microbica (appartenente a *Blaubia obeum*), così che le α glucosidasi microbiche possono processare i carboidrati introdotti con la dieta o essere inibiti dai farmaci inibitori delle α glucosidasi con una azione comparabile. Pertanto, la localizzazione e qualsiasi modifica di questi siti attivi può influenzare l'accesso e la specificità di questi α glucosidasi agli inibitori delle α glucosidasi influenzando il loro effetto terapeutico. Stessa omologia tra il DPP4 umano e quello microbico.

La resistenza ai GLP-1 sembra influenzare in maniera importante l'effetto dei GLP-1RA. Grasset et al hanno identificato uno specifico set di batteri ileali che influenzano l'asse GLP-1-attivo-intestino-encefalo per il controllo della secrezione insulinica e lo svuotamento gastrico, inducendo resistenza a GLP-1.

In aggiunta all'impatto sull'efficacia farmacologica, il microbiota intestinale può inoltre contribuire agli effetti collaterali dei farmaci ipoglicemizzanti. È ben noto che gli effetti collaterali gastrointestinali sono riportati in circa un terzo dei pazienti che assumono metformina, e

questi effetti possono essere attribuiti a geni del metabolismo batterici (principalmente derivati da un incremento della specie di *Escherichia coli*).

Rammentiamo che l'utilizzo di farmaci è indicativo di una modifica nelle condizioni di salute dell'ospite, che può essere accompagnato da modifiche nello stile di vita, e da una terapia farmacologica complessa; queste situazioni influenzano la composizione del microbiota intestinale.

Attraverso la migliore comprensione dell'interazione bidirezionale tra microbiota intestinale e farmaci ipoglicemizzanti, possiamo utilizzare come target di trattamento il microbiota intestinale, al fine di contribuire al miglioramento dell'efficacia farmacologica e della sicurezza del farmaco, potendo così personalizzare il trattamento.

BIBLIOGRAFIA

1. Tewabe A, Abate A, Tamrie M, Seyfu A, Abdela Siraj E. Targeted Drug Delivery – From Magic Bullet to Nanomedicine: Principles, Challenges, and Future Perspectives. JMDH. 2021; 7(14):1711-1724.
2. Doestzada M, Vila AV, Zhernakova A, Koonen DPY, Weersma RK, Touw DJ, et al. Pharmacomicrobiomics: a novel route towards personalized medicine? Protein Cell. 2018; 9(5):432-445.
3. Parizadeh M, Arrieta M. The global human gut microbiome: genes, lifestyles, and diet. Trends in Molecular Medicine. 2023; 29(10):789-801.
4. Kundu P, Blacher E, Elinav E, Pettersson S. Our Gut Microbiome: The Evolving Inner Self. Cell. 2017; 171(7):1481-1493.
5. Spanogiannopoulos P, Bess EN, Carmody RN, Turnbaugh PJ. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism. Nat Rev Microbiol. 2017; 14(5):273-287.
6. Vich Vila A, Collij V, Sanna S, Sinha T, Imhann F, Burgonje AR, et al. Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. Nat Commun. 2020; 11(1):362.
7. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson E, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. Nature. 2018; 555(7698):623-628.
8. Koppel N, Maini Rekdal V, Balskus EP. Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota. Science. 2017; 356(6344): eaag2770.
9. Weersma RK, Zhernakova A, Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome. Gut. 2020; 69(8):1510-1519.
10. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. Nature. 2016; 528(7581):262-266.
11. Gu Y, Wang X, Li J, Zhang Y, Zhong H, Liu R, et al. Analyses of gut microbiota and plasma bile acids enable stratification of patients for antidiabetic treatment. Nat Commun. 2017; 8(1):1785.
12. Koropatkin NM, Martens EC. Meds Modify Microbiome, Mediating Their Effects. Cell Metabolism. 2017; 26(3):456-457.
13. Burton JH, Johnson M, Johnson J, Hsia DS, Greenway FL, Heiman ML. Addition of a Gastrointestinal Microbiome Modulator to Metformin Improves Metformin Tolerance and Fasting Glucose Levels. J Diabetes Sci Technol. 2015; 9(4):808-814.
14. Mindrescu NM, Guja C, Jinga V, Ispas S, Curici A, Nelson Twakor A, et al. Interactions between Gut Microbiota and Oral Antihyperglycemic Drugs: A Systematic Review. IJMS. 2024; 25(6):3540.
15. Bonora E, Zancanaro C, Capretti L, Zavaroni I, Coscelli C, Butturini U. Lack of effect of intravenous metformin on plasma concentrations of glucose, insulin, C-peptide, glucagon and growth hormone in non-diabetic subjects. Curr Med Res Opin. 1984; 9(1):47-51.
16. Bailey CJ, Wilcock C, Scarpello JHB. Metformin and the intestine. Diabetologia. 2008; 51(8):1552-1553.
17. Buse JB, DeFronzo RA, Rosenstock J, Kim T, Burns C, Skare S, 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. 2015; 39(2):198-205.
18. McCreight LJ, Bailey CJ, Pearson ER. Metformin and the gastrointestinal tract. Diabetologia. 2016; 59(3):426-435.
19. Nakajima H, Takewaki F, Hashimoto Y, Kajiyama S, Majima S, Okada H, et al. The Effects of Metformin on the Gut Microbiota of Patients with Type 2 Diabetes: A Two-Center, Quasi-Experimental Study. Life. 2020; 10(9):195.
20. Top WMC, Kooy A, Stehouwer CDA. Metformin: A Narrative Review of Its Potential Benefits for Cardiovascular Disease, Cancer and Dementia. Pharmaceuticals. 2022; 15(3):312.

21. Estrella MY, Daniel N, Armando ED, Cristian P, Aarón V, Paul SJ, et al. Effect of metformin and metformin/lina-
gliptin on gut microbiota in patients with prediabetes.
Sci Rep. 2024 Apr 27; 14(1):9678.
22. Bryrup T, Thomsen CW, Kern T, Allin KH, Brandslund
I, Jørgensen NR, et al. Metformin-induced changes of
the gut microbiota in healthy young men: results of a
non-blinded, one-armed intervention study. *Diabetolo-
gia.* 2019; 62(6):1024-1035.
23. Napolitano A, Miller S, Nicholls AW, Baker D, Van Horn
S, Thomas E, et al. Novel Gut-Based Pharmacology of
Metformin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.
PLoS One. 2014; 9(7): e100778.
24. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Man-
nerås-Holm L, et al. Metformin alters the gut microbio-
me of individuals with treatment-naïve type 2 diabe-
tes, contributing to the therapeutic effects of the drug.
Nat Med. 2017 Jul 1; 23(7):850-858.
25. De La Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V,
Velásquez-Mejía EP, Carmona JA, Abad JM, et al. Met-
formin Is Associated With Higher Relative Abundance
of Mucin-Degrading Akkermansia muciniphila and
Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in
the Gut. *Diabetes Care.* 2016; 40(1):54-62.
26. Cao TTB, Wu K, Hsu J, Chang C, Chou C, Lin C, et al.
Effects of Non-insulin Anti-hyperglycemic Agents on
Gut Microbiota: A Systematic Review on Human and
Animal Studies. *Frontiers in endocrinology (Lausanne).*
2020 Sep 23; 11:573891.
27. Shin N, Lee J, Lee H, Kim M, Whon TW, Lee M, et al. An
increase in the Akkermansia spp. population induced
by metformin treatment improves glucose homeosta-
sis in diet-induced obese mice. *Gut.* 2014 May; 63(5):727-
735.
28. Lee H, Ko G. Effect of Metformin on Metabolic Improve-
ment and Gut Microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 2014;
80(19):5935-5943.
29. Mueller NT, Differding MK, Zhang M, Maruthur NM,
Juraschek SP, Miller ER, et al. Metformin Affects Gut
Microbiome Composition and Function and Circulating
Short-Chain Fatty Acids: A Randomized Trial. *Diabetes
Care.* 2021; 44(7):1462-1471.
30. Ryan PM, Patterson E, Carafa I, Mandal R, Wishart DS,
Dinan TG, et al. Metformin and Dipeptidyl Peptidase-4
Inhibitor Differentially Modulate the Intestinal Micro-
biota and Plasma Metabolome of Metabolically Dys-
functional Mice. *Canadian Journal of Diabetes.* 2020;
44(2):146-155.e2.
31. Elbere I, Kalnina I, Silamikelis I, Konrade I, Zaharenko
L, Sekace K, et al. Association of metformin adminis-
tration with gut microbiome dysbiosis in healthy volun-
teers. *PLoS One.* 2018; 13(9):e0204317.
32. Cabreiro F, Au C, Leung K, Vergara-Irigaray N, Cochemé
HM, Noori T, et al. Metformin Retards Aging in C. ele-
gans by Altering Microbial Folate and Methionine Me-
tabolism. *Cell.* 2013; 153(1):228-239.
33. Sahin M, Tutuncu NB, Ertugrul D, Tanaci N, Guvener
ND. Effects of metformin or rosiglitazone on serum con-
centrations of homocysteine, folate, and vitamin B12 in
patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabe-
tes and its Complications.* 2007; 21(2):118-123.
34. Bauer PV, Duca FA, Waise TMZ, Rasmussen BA, Abra-
ham MA, Dranse HJ, et al. Metformin Alters Upper Small
Intestinal Microbiota that Impact a Glucose-SGLT1-Sens-
ing Glucoregulatory Pathway. *Cell Metabolism.* 2018;
27(1):101-117.e5.
35. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vin-
era J, Zitoun C, Duchampt A, et al. Microbiota-Generat-
ed Metabolites Promote Metabolic Benefits via Gut-Brain
Neural Circuits. *Cell.* 2014; 156(1-2):84-96.
36. Ejtahed H, Soroush A, Angoorani P, Larijani B,
Hasani-Ranjbar S. Gut Microbiota as a Target in the
Pathogenesis of Metabolic Disorders: A New Approach
to Novel Therapeutic Agents. *Horm Metab Res.* 2016;
48(6):349-358.
37. Tilves C, Yeh H, Maruthur N, Juraschek SP, Miller ER,
Appel LJ, et al. A behavioral weight-loss intervention,
but not metformin, decreases a marker of gut barrier
permeability: results from the SPIRIT randomized trial.
Int J Obes. 2022; 46(3):655-660.
38. Cani Pd, Amar J, Waget A, Delmee E, Cousin B, Sulpice
T, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and
Insulin Resistance. *Diabetes.* 2007 Jul 1; 56(7):1761-1772.
39. Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, Van Hul
M, Geurts L, et al. A purified membrane protein from
Akkermansia muciniphila or the pasteurized bacteri-
um improves metabolism in obese and diabetic mice.
Nat Med. 2017 Jan; 23(1):107-113.
40. Lee H, Lee Y, Kim J, An J, Lee S, Kong H, et al. Modula-
tion of the gut microbiota by metformin improves meta-
bolic profiles in aged obese mice. *Gut Microbes.* 2018 Mar
4; 9(2):155-165.

41. Zhang W, Xu J, Yu T, Chen Q. Effects of berberine and metformin on intestinal inflammation and gut microbiome composition in db/db mice. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2019 Oct; 118:109131.
42. Bahne E, Hansen M, Brønden A, Sonne DP, Vilsbøll T, Knop FK. Involvement of glucagon-like peptide-1 in the glucose-lowering effect of metformin. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2016 Oct; 18(10):955-961.
43. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-Chain Fatty Acids Stimulate Glucagon-Like Peptide-1 Secretion via the G-Protein-Coupled Receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012; 61(2):364-371.
44. Larraufie P, Martin-Gallausiaux C, Lapaque N, Dore J, Gribble FM, Reimann F, et al. SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. *Sci Rep*. 2018; 8(74).
45. Fredborg M, Theil PK, Jensen BB, Purup S. G protein-coupled receptor120 (GPR120) transcription in intestinal epithelial cells is significantly affected by bacteria belonging to the Bacteroides, Proteobacteria, and Firmicutes phyla. *Journal of animal science*. 2012 Dec 1; 90(Suppl 4):10-12.
46. Wahlström A, Sayin SI, Marschall H, Bäckhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metabolism*. 2016; 24(1):41-50.
47. Islam KBMS, Fukiya S, Hagio M, Fujii N, Ishizuka S, Ooka T, et al. Bile Acid Is a Host Factor That Regulates the Composition of the Cecal Microbiota in Rats. *Gastroenterology*. 2011; 141(5):1773-1781.
48. Sun L, Xie C, Wang G, Wu Y, Wu Q, Wang X, et al. Gut microbiota and intestinal FXR mediate the clinical benefits of metformin. *Nat Med*. 2019; 24(12):1919-1929.
49. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, et al. TGR5-Mediated Bile Acid Sensing Controls Glucose Homeostasis. *Cell Metab*. 2009 Sep 1; 10(3):167-177.
50. Pathak P, Xie C, Nichols RC, Ferrell JM, Boehme S, Krausz KW, et al. Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism. *Hepatology*. 2018 Oct; 68(4):1574-1588.
51. Baxter NT, Lesniak NA, Sinani H, Schloss PD, Koropatkin NM. The Glucoamylase Inhibitor Acarbose Has a Diet-Dependent and Reversible Effect on the Murine Gut Microbiome. *mSphere*. 2019; 4(1):e00528-18.
52. Ren F, Ji N, Zhu Y. Research Progress of α -Glucosidase Inhibitors Produced by Microorganisms and Their Applications. *Foods*. 2023; 12(18):3344.
53. Montandon SA, Jornayvaz FR. Effects of Antidiabetic Drugs on Gut Microbiota Composition. *Genes*. 2017; 8(10):250.
54. Su B, Liu H, Li J, Sunli Y, Liu B, Liu D, et al. Acarbose treatment affects the serum levels of inflammatory cytokines and the gut content of bifidobacteria in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of diabetes*. 2015 Sep; 7(5):729-739.
55. Zhang X, Fang Z, Zhang C, Xia H, Jie Z, Han X, et al. Effects of Acarbose on the Gut Microbiota of Prediabetic Patients: A Randomized, Double-blind, Controlled Crossover Trial. *Diabetes Ther*. 2017; 8(2):293-307.
56. Do HJ, Lee YS, Ha MJ, Cho Y, Yi H, Hwang Y, et al. Beneficial effects of voglibose administration on body weight and lipid metabolism via gastrointestinal bile acid modification. *Endocr J*. 2016 Aug 31; 63(8):691-702.
57. Kishida Y, Okubo H, Ohno H, Oki K, Yoneda M. Effect of miglitol on the suppression of nonalcoholic steatohepatitis development and improvement of the gut environment in a rodent model. *J Gastroenterol*. 2017 Nov 1; 52(11):1180-1191.
58. Smith BJ, Miller RA, Ericsson AC, Harrison DC, Strong R, Schmidt TM. Changes in the gut microbiome and fermentation products concurrent with enhanced longevity in acarbose-treated mice. *BMC Microbiol*. 2019; 19(1):130.
59. Wolever TMS, Chiasson J. Acarbose raises serum butyrate in human subjects with impaired glucose tolerance. *Br J Nutr*. 2000; 84(1):57-61.
60. Weaver GA, Tangel CT, Krause JA, Parfitt MM, Jenkins PL, Rader JM, et al. Acarbose enhances human colonic butyrate production. *The Journal of nutrition*. 1997; 127(5):717-723.
61. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet*. 2006 Nov 11; 368(9548):1696-1705.
62. Baggio LL, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptors in the brain: controlling food intake and body weight. *Journal of Clinical Investigation*. 2014 Oct 1; 124(10):4223-4226.
63. Wang L, Li P, Tang Z, Yan X, Feng B. Structural modulation of the gut microbiota and the relationship with

- body weight: compared evaluation of liraglutide and saxagliptin treatment. *Sci Rep*. 2016 Sep 16; 6(1):33251.
64. Grasset E, Puel A, Charpentier J, Collet X, Christensen JE, Tercé F, et al. A Specific Gut Microbiota Dysbiosis of Type 2 Diabetic Mice Induces GLP-1 Resistance through an Enteric NO-Dependent and Gut-Brain Axis Mechanism. *Cell metabolism*. 2017 May 2; 25(5):1075-1090.e5.
65. Zhao L, Chen Y, Xia F, Abudukerimu B, Zhang W, Guo Y, et al. A Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Lowers Weight by Modulating the Structure of Gut Microbiota. *Frontiers in Endocrinology*. 2018 May 17; 9:233-233.
66. Zhang Q, Xiao X, Zheng J, Li M, Yu M, Ping F, et al. Featured article: Structure moderation of gut microbiota in liraglutide-treated diabetic male rats. *Experimental Biology and Medicine*. 2018 Jan 1; 243(1):34-44.
67. Charpentier J, Briand F, Lelouvier B, Servant F, Azalbert V, Puel A, et al. Liraglutide targets the gut microbiota and the intestinal immune system to regulate insulin secretion. *Acta Diabetol*. 2021 Jul 1; 58(7):881-897.
68. Shang J, Liu F, Zhang B, Dong K, Lu M, Jiang R, et al. Liraglutide-induced structural modulation of the gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *PeerJ (San Francisco, CA)*. 2021 Apr 1; 9:e11128.
69. Wang Z, Saha S, Van Horn S, Thomas E, Traini C, Sathe G, et al. Gut microbiome differences between metformin- and liraglutide-treated T2DM subjects. *Endocrinology, diabetes & metabolism*. 2018 Jan; 1(1):e00009-n/a.
70. Olivares M, Schüppel V, Hassan AM, Beaumont M, Neyrinck AM, Bindels LB, et al. The Potential Role of the Dipeptidyl Peptidase-4-Like Activity From the Gut Microbiota on the Host Health. *Frontiers in Microbiology*. 2018 Aug 22; 9:1900-1900.
71. Liao X, Song L, Zeng B, Liu B, Qiu Y, Qu H, et al. Alteration of gut microbiota induced by DPP-4i treatment improves glucose homeostasis. *EBioMedicine*. 2019 Jun 1; 44:665-674.
72. Tang Z, Li P, Feng B, Yan X, Wang L. Microflora Disturbance during Progression of Glucose Intolerance and Effect of Sitagliptin: An Animal Study. *Journal of Diabetes Research*. 2016 Jan 1; 2016(2016):1-10.
73. Zhang Q, Xiao X, Li M, Yu M, Ping F, Zheng J, et al. Vildagliptin increases butyrate-producing bacteria in the gut of diabetic rats. *PLoS ONE*. 2017 Oct 16; 12(10):e0184735.
74. Olivares M, Neyrinck AM, Pötgens SA, Beaumont M, Salazar N, Cani PD, et al. The DPP-4 inhibitor vildagliptin impacts the gut microbiota and prevents disruption of intestinal homeostasis induced by a Western diet in mice. *Diabetologia*. 2018 Aug 1; 61(8):1838-1848.
75. Shi Q, Nong K, Vandvik PO, Guyatt GH, Schnell O, Rydén L, et al. Benefits and harms of drug treatment for type 2 diabetes: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2023 Apr 6; 381:e074068.
76. Lee DM, Battson ML, Jarrell DK, Hou S, Ecton KE, Weir TL, et al. SGLT2 inhibition via dapagliflozin improves generalized vascular dysfunction and alters the gut microbiota in type 2 diabetic mice. *Cardiovascular diabetology*. 2018 Apr 27; 17(1):62.
77. Yang M, Shi F, Liu W, Zhang M, Feng R, Qian C, et al. Dapagliflozin Modulates the Fecal Microbiota in a Type 2 Diabetic Rat Model. *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. 2020 Nov 17; 11:635.
78. Oh TJ, Sul WJ, Oh HN, Lee Y, Lim HL, Choi SH, et al. Butyrate attenuated fat gain through gut microbiota modulation in db/db mice following dapagliflozin treatment. *Sci Rep*. 2019 Dec 30; 9(1):20300-11.
79. van Bommel EJM, Herrema H, Davids M, Kramer MHH, Nieuwdorp M, van Raalte DH. Effects of 12-week treatment with dapagliflozin and gliclazide on faecal microbiome: Results of a double-blind randomized trial in patients with type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*. 2020 Apr; 46(2):164-168.
80. Deng X, Zhang C, Wang P, Wei W, Shi X, Wang P, et al. Cardiovascular Benefits of Empagliflozin Are Associated With Gut Microbiota and Plasma Metabolites in Type 2 Diabetes. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2022 Jun 16; 107(7):1888-1896.
81. Pinaud L, Sansonetti PJ, Phalipon A. Host Cell Targeting by Enteropathogenic Bacteria T3SS Effectors. *Trends in Microbiology*. 2018 Apr; 26(4):266-283.
82. Powell DR, Smith M, Greer J, Harris A, Zhao S, DaCosta C, et al. LX4211 Increases Serum Glucagon-Like Peptide 1 and Peptide YY Levels by Reducing Sodium/Glucose Cotransporter 1 (SGLT1)-Mediated Absorption of Intestinal Glucose. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2013 May; 345(2):250-259.
83. Zhang X, Chen J, Yi K, Peng L, Xie J, Gou X, et al. Phlorizin ameliorates obesity-associated endotoxemia and insulin resistance in high-fat diet-fed mice by targeting the gut microbiota and intestinal barrier integrity. *Gut microbes*. 2020 Nov 9; 12(1):1-18.

84. Li J, Yu R, Zhang L, Wen S, Wang S, Zhang X, et al. Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*. 2019 Jun 29; 7(1):98-98.
85. Bai J, Zhu Y, Dong Y. Response of gut microbiota and inflammatory status to bitter melon (*Momordica charantia* L.) in high fat diet induced obese rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016 Dec 24; 194(NA):717-726.
86. Tomas J, Mulet C, Saffarian A, Cavin J, Ducroc R, Regnault B, et al. High-fat diet modifies the PPAR- γ pathway leading to disruption of microbial and physiological ecosystem in murine small intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences – PNAS*. 2016 Oct 4; 113(40):E5934-E5943.
87. Madsen MSA, Grønlund RV, Eid J, Christensen-Dalsgaard M, Sommer M, Rigbolt K, et al. Characterization of local gut microbiome and intestinal transcriptome responses to rosiglitazone treatment in diabetic db/db mice. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2021 Jan; 133:110966.
88. Li Y, Han L, Xu M, Guo J, Feng M, Wang X. Primary Research on the Gut Microbes in KKAY Mice. *Indian J Microbiol*. 2014 Mar 1; 54(1):12-19.
89. Zhang F, Wang M, Yang J, Xu Q, Liang C, Chen B, et al. Response of gut microbiota in type 2 diabetes to hypoglycemic agents. *Endocrine*. 2019; 66(3):485-493.