



Gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila*, een voorbeeld van een 'postbioticum'

Prof. Amandine Everard

Walloon Excellence in Life Sciences and BIOTEchnology (WELBIO), Metabolism and Nutrition Research Group,
Louvain Drug Research Institute, UCLouvain

Bij diverse ziekten zijn veranderingen in de darmmicrobiota aangetoond. Hoewel de meeste gegevens in eerste instantie een verband aantonen, wordt er steeds meer onderzoek gedaan naar causale verbanden, met name bij stofwisselingsstoornissen die samenhangen met zwaarlijvigheid. *Akkermansia muciniphila* is een van de meest bestudeerde bacteriën van de darmmicrobiota bij verschillende pathologieën. In de context van obesitas en stofwisselingsstoornissen is de bacterie *Akkermansia muciniphila* MucT in staat om gewichtstoename en de ontwikkeling van insulineresistentie te beperken in preklinische modellen. Verrassend genoeg leverden gepasteuriseerde 'Akkermansia muciniphila MucT'-bacteriën grotere gunstige effecten op dan levende 'Akkermansia muciniphila MucT'-bacteriën. Deze gepasteuriseerde vorm kan daarom worden beschouwd als een mogelijk 'postbioticum'. Een proefstudie bij vrijwilligers met overgewicht of obesitas met het metabool syndroom en prediabetes heeft aangetoond dat dagelijkse orale suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT veilig is en goed wordt verdragen bij deze personen. Bovendien toonde deze proefstudie de effecten aan van gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT op de insulinegevoeligheid en het cholesterolgehalte in het plasma. Hoewel deze gegevens bemoedigend zijn, is het belangrijk op te merken dat suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT niet moet worden gezien als een behandeling. Het is eerder een aanvullende weg die de ontwikkeling van metabole stoornissen zou kunnen helpen te beperken, naast andere interventies op het vlak van levensstijl en voeding.



Prof. Amandine Everard

Intestinale microbiota en pathologieën

Volgens de laatste schattingen leven er evenveel micro-organismen als menselijke cellen in ons lichaam, en de meeste daarvan bevinden zich in de darmen (1). De darmmicrobiota, of het geheel van micro-organismen die de darm koloniseren, spelen een sleutelrol in de gezondheid van de gastheer. Deze interacties worden steeds vaker beschreven in de wetenschappelijke literatuur: op PubMed zijn meer dan 59.500 artikelen over de darmmicrobiota gepubliceerd. Talrijke studies hebben gewezen op veranderingen in de darmmicrobiota bij diverse pathologieën zoals obesitas, diabetes type 2, inflammatoire darmziekten en neurodegeneratieve ziekten (2). Het is belangrijk te onthouden dat in de meeste studies vaak correlaties worden waargenomen, maar het feit dat de samenstelling van de darmmicrobiota is gewijzigd betekent niet dat deze een rol speelt bij de ontwikkeling van een pathologie. Bovendien is het vaak moeilijk te bepalen of de waargenomen veranderingen in de darmmicrobiota een van de oorzaken of gevolgen van de ziekte zijn. Naast de samenstelling van de darmmicrobiota is ten slotte ook de metabolische functie ervan heel belangrijk.

Het kan echter de moeite waard zijn verbanden tussen de samenstelling van de darmmicrobiota en een pathologie te onderzoeken. Er zijn verschillende interventiestrategieën ontwikkeld die zijn gericht op de darmmicrobiota (**Tabel 1**). Bij de bacteriën van de darmmicrobiota die momenteel het vaakst worden bestudeerd bij diverse pathologieën hoort ook *Akkermansia muciniphila*. Het is belangrijk op te merken dat de term probioticum aan strenge regels is gebonden, waardoor het gebruik van gezondheidsclaims in verband met micro-organismen sterk

wordt beperkt. De term 'probioticum' kan niet worden gebruikt voor *Akkermansia muciniphila*. De term 'nuttige bacteriën' verdient de voorkeur, of zelfs de term 'postbioticum' in sommige hieronder beschreven gevallen.

Akkermansia muciniphila

Onderzoekers van het Laboratorium voor Microbiologie van de Wageningen Universiteit in Nederland isoleerden *Akkermansia muciniphila* in 2004 voor het eerst uit een staal van de darmmicrobiota van een gezond individu (6). Bijzonder is dat deze bacterie zich nestelt in de slijmlaag op het oppervlak van de epitheelcellen van de darm, die ze gebruikt als haar voornaamste energiestructuur. *Akkermansia muciniphila* is ook een van de eerste bacteriën die de darmen koloniseert (7). De '*Akkermansia muciniphila* MucT'-stam was de eerste stam die bij mensen werd geïsoleerd, en is daarom de meest bestudeerde. Momenteel zijn meer dan 100 verschillende stammen geïsoleerd uit menselijke stalen van Europese, Amerikaanse en Aziatische populaties (8, 9). Verschillende factoren kunnen de overvloed aan *Akkermansia muciniphila* beïnvloeden, zoals voeding. Een dieet rijk aan polyfenolen vergroot de overvloed aan *Akkermansia muciniphila*. Ook vasten, de darmtransittijd, lichaamsbeweging of het gebruik van bepaalde geneesmiddelen zoals metformine hebben invloed hierop.

Talrijke studies hebben een verandering in de overvloed van deze commensale bacterie aangetoond bij diverse pathologieën zoals obesitas, diabetes, leversteatose, ontstekingsziekten en bepaalde neurodegeneratieve ziekten (multiple sclerose en de ziekte van Parkinson) (**Figuur 1**). Deze studies waren aanvankelijk vooral gebaseerd op correlaties, maar steeds meer studies hebben causale verbanden kunnen aantonen tussen *Akkermansia muciniphila* en de gezondheidstoestand van een individu (10). De eerste proefstudie met dagelijkse suppletie van *Akkermansia muciniphila* bij mensen werd uitgevoerd in het kader van stofwisselingsziekten (11).

Akkermansia muciniphila en stofwisselingsstoornissen

Verschillende studies bij proefdieren en mensen hebben een terugkerende afname aangetoond in de overvloed aan *Akkermansia muciniphila* in de darmen van zwaarlijvige personen in vergelijking met personen met een normaal lichaamsgewicht (12). Bovendien is de overvloed aan *Akkermansia muciniphila* in de darmmicrobiota positief geassocieerd met een betere metabole status en klinische resultaten bij een caloriearm dieet (13). Op basis van deze correlaties onderzochten wij de mogelijke

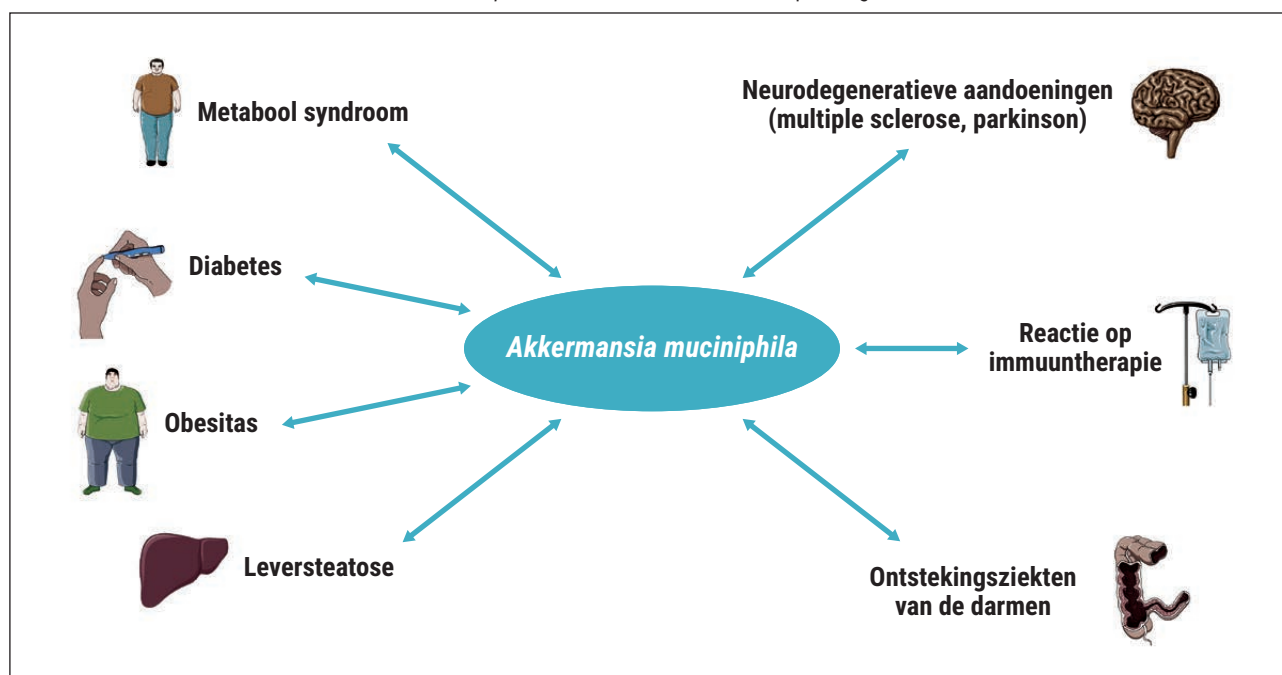
Tabel 1:

Definities.

Prebioticum	Substraat dat selectief door micro-organismen van de gastheer wordt gebruikt, met gunstige effecten voor de gastheer (3)
Probioticum	Een levend micro-organisme dat, wanneer het in voldoende hoeveelheden wordt toegediend, gunstige effecten heeft voor de gastheer (4)
Postbioticum	Bereiding van levenloze micro-organismen en/of bestanddelen daarvan met gunstige effecten voor de gastheer (5)

Figuur 1:

Verbanden tussen de overvloed aan *Akkermansia muciniphila* in de darmen en verschillende pathologieën.



gunstige effecten van *Akkermansia muciniphila* in diermodellen van obesitas en metabool syndroom. In samenwerking met het Laboratorium voor Microbiologie van de Wageningen Universiteit hebben wij bij proefdieren aangetoond dat dagelijkse suppletie met *Akkermansia muciniphila* MucT de metabole stoornissen beperkt die samenhangen met een hyperlipide dieet. Suppletie vermindert namelijk de toename van de vetmassa, de ontwikkeling van ontstekingen en de insulineresistentie (14). Deze resultaten zijn ook waargenomen in andere laboratoria en aangetoond in twee systematische literatuuroverzichten die in 2021 zijn gepubliceerd (15, 16).

Van preklinische studies tot klinische toepassing

De bij proefdieren verkregen preklinische resultaten leken bemoedigend, maar er doken verschillende technische obstakels op. Suppletie met *Akkermansia muciniphila* bij de mens kon dus nog niet meteen worden overwogen. Ten eerste werd voor de productie van de bacteriën voor de preklinische studies gebruikgemaakt van varkensmaagslijm als energetisch substraat in het kweekmedium, dat niet te verenigen valt met interventietests bij de mens.

Een eerste stap was daarom de ontwikkeling van een synthetisch kweekmedium waarmee de bacteriën op een efficiënte manier en in afwezigheid van varkensslijm konden worden geproduceerd (17). Vervolgens testten wij de effecten van de in een synthetisch kweekmedium gekweekte bacteriën op de metabole stoornissen die gepaard gaan met een hyperlipide dieet. Wij konden aantonen dat

wanneer de bacterie werd geproduceerd met een synthetische bron van koolstof en stikstof, de effecten ervan op de vetaccumulatie en het glucosemetabolisme werden behouden bij muizen die door een hyperlipide dieet zwaarlijvig werden gemaakt (17).

Een andere mogelijke beperking voor de klinische toepassing ervan is de relatieve gevoeligheid van *Akkermansia muciniphila* voor zuurstof, wat de productie en het gebruik ervan op grote schaal bemoeilijkt. Om dit obstakel aan te pakken, hebben wij de effecten van de gepasteuriseerde bacterie vergeleken met de effecten van de levende bacterie in onze preklinische modellen. Door pasteurisatie blijft de algemene morfologie van de bacterie bewaard, waardoor ze een deel van haar heilzame werking zou kunnen behouden. Maar dan is ze niet meer levensvatbaar, waardoor ze niet meer gevoelig is voor zuurstof. Wij vonden het heel verrassend dat de effecten van de gepasteuriseerde bacteriën groter waren dan die van de levende bacteriën. Het lichaamsgewicht nam meer af, net als het lichaamsvet en de insulineresistentie bij dieren die de gepasteuriseerde bacteriën kregen in vergelijking met dieren die de levende bacteriën kregen (17). De gepasteuriseerde bacteriën beantwoorden daarom aan de criteria van de definitie voor een 'post-bioticum' (Tabel 1).

Zodra deze technische uitdagingen naar behoren waren aangepakt – door een bacterie te gebruiken die is geproduceerd met een synthetisch en gepasteuriseerd kweekmedium, dat even doeltreffend en zelfs doeltreffender is in preklinische studies – kon in 2015 een proefstudie bij mensen (Microbes4U) worden overwogen.

Proefstudie met menselijke interventie

Het hoofddoel van de proefstudie was de veiligheid en verdraagbaarheid van dagelijkse suppletie met *Akkermansia muciniphila* bij vrijwilligers met overgewicht en obesitas in combinatie met het metabool syndroom evalueren. In deze proefstudie kregen vrijwilligers met overgewicht of obesitas, met metabool syndroom en een prediabetische status en zonder medicatie, ofwel dagelijkse orale suppletie met levende *Akkermansia muciniphila* MucT in een dosis van 10^{10} CFU/dag, ofwel dagelijkse suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT of een placebo gedurende een periode van 3 maanden. Deze proefstudie toonde aan dat dagelijkse suppletie met levende of gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT veilig was en goed werd verdragen bij personen met het metabool syndroom. Er werden namelijk geen veranderingen in markers op het vlak van ontsteking, hematologie, lever, nieren of spierfunctie waargenomen na suppletie, ongeacht de formulering van *Akkermansia muciniphila* MucT (levend of gepasteuriseerd) (11, 17). Ter bevestiging van deze aspecten werd ook een robuustere preklinische toxicologische studie uitgevoerd. Deze bevestigde de afwezigheid van toxiciteit, zelfs bij hoge doses tot $9,6 \times 10^{10}$ 'Akkermansia muciniphila MucT'-cellen per kilo lichaamsgewicht. Er zijn ook genetische toxiciteitstests uitgevoerd (18).

Hoewel de studie niet was opgezet om de doeltreffendheid van suppletie met *Akkermansia muciniphila* MucT (levend of gepasteuriseerd) op parameters van het

metabool syndroom te onderzoeken, leverde ze bemoedigende voorlopige gegevens op. Suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT beperkte inderdaad bepaalde metabole verslechtingen die werden waargenomen in de groep vrijwilligers die placebo kregen. Suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT verbetert de insulinegevoeligheid en verlaagt de insuline- en totale plasmacholesterolspiegel in vergelijking met de groep vrijwilligers die een placebo kreeg (11).

Deze studie levert bemoedigende voorlopige resultaten op over het gebruik van gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT als preventieve en/of therapeutische interventie bij personen met overgewicht of obesitas met ontwikkelende insulineresistentie.

Dankzij al deze studies kon het Europees Agentschap voor voedselveiligheid in september 2021 gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT de erkenning geven als *novel food*. Het is echter belangrijk te verduidelijken dat suppletie met gepasteuriseerde *Akkermansia muciniphila* MucT niet moet worden gezien als een behandeling als zodanig, maar eerder als een natuurlijk en aanvullend hulpmiddel dat de ontwikkeling van stofwisselingsstoornissen kan helpen te beperken, parallel met andere interventies op het vlak van levenshygiëne en voeding. ■

Belangenconflicten:

Amandine Everard heeft verschillende octrooien uitgewerkt. De toepassingen daarvan zijn gericht op het gebruik van *Akkermansia muciniphila* en de bestanddelen ervan bij de behandeling van stofwisselingsstoornissen.

Referenties

- Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell* 2016;164:337-40.
- Cani PD. Gut microbiota - at the intersection of everything? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:321-2.
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:491-502.
- Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506-14.
- Salminen S, Collado MC, Endo A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18:649-67.
- Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54:1469-76.
- Kostopoulos I, Elzinga J, Ottman N, et al. *Akkermansia muciniphila* uses human milk oligosaccharides to thrive in the early life conditions in vitro. *Sci Rep* 2020;10:14330.
- Becken B, Davey L, Middleton DR, et al. Genotypic and Phenotypic Diversity among Human Isolates of *Akkermansia muciniphila*. *mBio* 2021;12.
- Guo X, Li S, Zhang J, et al. Genome sequencing of 39 *Akkermansia muciniphila* isolates reveals its population structure, genomic and functional diversity, and global distribution in mammalian gut microbiotas. *BMC Genomics* 2017;18:800.
- Cani PD, Depommier C, Derrien M, Everard A, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila*: paradigm for next-generation beneficial microorganisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022;19:625-37.
- Depommier C, Everard A, Druart C, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med* 2019.
- Macchione IG, Lopetuso LR, Ianaro G, et al. *Akkermansia muciniphila*: key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019;23:8075-83.
- Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 2016;65:426-36.
- Everard A, Belzer C, Geurts L, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:9066-71.
- Roshanravan N, Bastani S, Tutunchi H, et al. A comprehensive systematic review of the effectiveness of *Akkermansia muciniphila*, a member of the gut microbiome, for the management of obesity and associated metabolic disorders. *Arch Physiol Biochem* 2021;1-11.
- Abuqwider JN, Mauriello G, Altamimi M. *Akkermansia muciniphila*, a New Generation of Beneficial Microbiota in Modulating Obesity: A Systematic Review. *Microorganisms* 2021;9.
- Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med* 2017;23:107-13.
- Druart C, Plovier H, Van Hul M, et al. Toxicological safety evaluation of pasteurized *Akkermansia muciniphila*. *J Appl Toxicol* 2021;41:276-90.