

Comparing the Effects of Live and Pasteurized *Akkermansia muciniphila* on Management of Obesity and Diabetes

Arefeh Shahriary^{1,2},
Zahra Hoseini-Tavassol^{3,2},
Ahmad-Reza Soroush⁴,
Hanieh-Sadat Ejtahed^{5,6},
Bagher Larijani⁷

¹ Msc in Microbiology, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

³ PhD candidate in Medical Biotechnology, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Professor, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵ Assistant Professor, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁶ Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁷ Professor, Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received October 7, 2020 ; Accepted December 19, 2020)

Abstract

Diabetes and obesity are among the most important metabolic disorders which are of worldwide concern. Today, it has been proven that the diversity and composition of the intestinal microbiota play a key role in the incidence and control of metabolic diseases via regulating the metabolism and immune responses of the host. Previous studies reported links between *Akkermansia muciniphila*, a commensal bacterium in the gut microbiota, and obesity and diabetes. Human and animal studies have shown that this mucin-degrading bacterium is effective in preventing obesity and diabetes by reducing intestinal wall permeability and preventing metabolic endotoxemia and inflammation, as well as modulating energy and fat metabolism. New evidence shows that both forms of the *A. muciniphila* (live bacterium or its pasteurized form) can control the disease. Considering the difficulties of the survival and cultivation of this anaerobic bacterium and in order to help optimal use of *A. muciniphila* in clinical treatments of metabolic diseases, in this study we compared the effect of live and pasteurized *A. muciniphila*. Besides, we investigated the effects of this bacterium as the next generation of probiotics on obesity and management of diabetes.

Keywords: *Akkermansia muciniphila*, obesity, diabetes, microbiota, pasteurization, probiotics

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (193): 71-83 (Persian).

* Corresponding Author: Hanieh-Sadat Ejtahed - Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: haniejtahed@yahoo.com)

مقایسه ی اثر *Akkermansia muciniphila* زنده و پاستوریزه در کنترل چاقی و دیابت

عارفه شهریاری^{2,1}زهره حسینی توسل^{2,3}احمد رضا سروش⁴هانیه السادات اجتهد^{6,5}باقر لاریجانی⁷

چکیده

سابقه و هدف: دیابت و چاقی از جمله مهم ترین بیماری های متابولیک است که همواره نگرانی هایی را در سطح جهانی به همراه دارد. امروزه نقش کلیدی تنوع و ترکیب میکروبیوتای روده در بروز و کنترل بیماری های متابولیک از طریق تنظیم متابولیسم و پاسخ های ایمنی میزبان، به اثبات رسیده است. در مطالعات پیشین ارتباط میان باکتری *Akkermansia muciniphila* باکتری موجود در میکروبیوتای روده با چاقی و دیابت مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده اند که این باکتری تجزیه کننده موسین از طریق کاهش نفوذپذیری دیواره روده و پیشگیری از بروز اندوتوکسمی متابولیک و التهاب، همچنین تعدیل متابولیسم انرژی و چربی، در پیشگیری از چاقی و دیابت موثر است. شواهد جدید نشان داده اند علاوه بر باکتری زنده *Akkermansia muciniphila*، فرم پاستوریزه آن نیز قابلیت کنترل بیماری را دارد. با توجه به دشواری های زنده ماننی و کشت این باکتری غیرهوازی و در راستای کمک به استفاده ی بهینه از باکتری *Akkermansia muciniphila* در درمان های بالینی بیماری های متابولیک، این مطالعه مروری با هدف مقایسه اثر *Akkermansia muciniphila* زنده و پاستوریزه به بررسی اثرات این باکتری به عنوان پروبیوتیک نسل جدید در کنترل بیماری های چاقی و دیابت پرداخته است.

واژه های کلیدی: باکتری *Akkermansia muciniphila*، چاقی، دیابت، میکروبیوتا، پاستوریزاسیون، پروبیوتیک نسل جدید

مقدمه

اضافه وزن و چاقی نشان دهنده تجمع غیر طبیعی چربی بدن می باشد. چاقی یکی از مهم ترین بیماری های متابولیک است که از عوامل خطر سایر اختلالات متابولیک مانند فشار خون بالا، چربی خون، مقاومت به انسولین و ... محسوب می شود (1،2). چاقی به دلیل شیوع بالا و بیماری های مرتبط با آن یکی از بزرگ ترین چالش های بهداشت عمومی است که بر کیفیت زندگی بسیار موثر بوده و می تواند آن را مختل کند. این بیماری در رده پنجم خطر مرگ جهانی در جوامع قرار دارد (3).

مؤلف مسئول: هانیه السادات اجتهد - تهران، خیابان کارگر شمالی، جنب بیمارستان دکتر شریعتی، پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم

E-mail: haniejtahed@yahoo.com

1. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

2. گروه سل و تحقیقات روی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

3. دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

4. استاد، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

5. استادیار، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

6. مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

7. استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشگاه علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

© تاریخ دریافت: 1399/7/16 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/9/2 تاریخ تصویب: 1399/9/19

دیابت یکی دیگر از شایع ترین اختلالات متابولیکی در سراسر جهان است که با افزایش قندخون و عدم تحمل گلوکز شناخته می شود و معمولاً به دو گروه دیابت نوع یک و دو تقسیم می شود. عوامل ژنتیکی و محیطی مانند سبک زندگی بی تحرک و رژیم غذایی با کالری بالا، افراد را در معرض خطر دیابت قرار می دهد. در مطالعات اخیر میکروبیوتای روده نیز به عنوان یک عامل موثر در بیماری زایی چاقی و دیابت پیشنهاد گردید و عنوان شد، چاقی و اختلالات سوخت و ساز مرتبط، مانند سندرم متابولیک و دیابت با ترکیب و عملکرد میکروب های دستگاه گوارش در ارتباط است (4-8).

دستگاه گوارش انسان با مجموعه متنوع و گسترده ای از میکروارگانیسم ها تحت عنوان میکروبیوتا کلونیزه می شوند که ترکیب الگوی میکروبی آنها با سن، زمینه ژنتیکی، موقعیت جغرافیایی، رژیم غذایی، سلامت و استفاده از دارو در ارتباط است. میکروبیوتای دستگاه گوارش با سلامت دستگاه گوارش، فعال کردن سیستم ایمنی و تولید مواد مغذی و ویتامین ها مرتبط است و نقش مهمی در تنظیم سلامت انسان و بیماری زایی بیماری هایی مانند چاقی، دیابت و بیماری التهابی روده (IBD) دارد (9-11). میکروبیوتا به عنوان یک شاخص مهم برای تنظیم متابولیسم میزبان مطرح است و عوامل متعددی مانند پروبیوتیک، پره بیوتیک یا برخی داروهای ضد میکروبی می توانند به وسیله تغییر در الگوی میکروبیوتای روده، اثرات متنوعی را بر متابولیسم بدن بگذارند (12). این ارتباط از طریق متابولیت های خاص مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، مولکول های غشای میکروبی (نظیر لیپوپلی ساکاریدها) و اتصال به گیرنده های سلول میزبان مانند toll like receptors (TLRs) و G-protein-coupled receptors برقرار می شود (13).

مطالعاتی که در مورد نقش میکروبیوتا در چاقی و دیابت انجام شده است، نشان می دهد که عدم تعادل در میکروبیوتا به شروع التهاب مزمن که از مشخصه های اندوتوکسمی و اختلالات متابولیک است، کمک می کند.

این مورد نشان دهنده ای این است که میکروب های خاصی از میزبان، در تنظیم سیستم های بیولوژیکی و دیگر عملکردهای فیزیولوژیک مهم در هموستاز انرژی، متابولیسم گلوکز و چربی، در چاقی و دیابت نقش دارند. به علاوه نشان داده شده است که درمان با پروبیوتیک ها اثرات امیدوارکننده ای در این زمینه دارد (13-15).

از جمله باکتری های کاندید پروبیوتیک نسل جدید می توان به باکتری (*A. muciniphila*) جدیدی می توان به باکتری *Akkermansia muciniphila* اشاره کرد، که در کنترل بیماری های متابولیک موثر بوده است (12،16). این باکتری تجزیه کننده موسین در لایه مخاط بوده و تجویز مستقیم آن نه تنها در برابر چاقی بلکه در برابر دیابت، اختلالات سد دفاعی روده و همچنین بیماری های قلبی عروقی نیز سودمند است (17-20).

یافته های اخیر نشان داده است که نه تنها باکتری های زنده دارای این مزایا هستند، بلکه تجویز *A. muciniphila* پاستوریزه نیز اثرات قابل توجهی از خود نشان می دهد (21،22). حساسیت *A. muciniphila* به اکسیژن و لزوم وجود ترکیبات مشتق شده از حیوانات در محیط رشد آن (مثل عصاره قلب و مغز در محیط Brain Heart Infusion (BHI) و موسین)، در حال حاضر امکان استفاده از این گونه باکتریایی را به عنوان داروی انسانی محدود می کند. لذا پاستوریزاسیون می تواند یک روش ابتکاری برای استفاده از این باکتری های بی هوازی به عنوان یک ابزار درمانی باشد (23).

با توجه به اهمیت این باکتری در مقابله با بیماری های متابولیک، در این مطالعه به مقایسه اثرات باکتری *A. muciniphila* زنده و پاستوریزه بر بیماری های چاقی و دیابت پرداخته شد.

معرفی باکتری *Akkermansia muciniphila*

یکی از باکتری های کلونیزه شونده در مخاط که اخیراً شناسایی شده است، باکتری *Akkermansia muciniphila* می باشد که متعلق به شاخه Verrucomicrobia است و 3-5

درصد از جامعه میکروبی دستگاه گوارش را تشکیل می‌دهد. *Akkermansia* از نام یک میکروبی‌شناس هلندی (Antoon Akkermans) مشتق شده است که در سال 2004 آن را شناسایی کرد. این باکتری از نمونه مدفوع یک زن قفقازی در تلاش برای کشف باکتری‌های تجزیه‌کننده موسین جدا شد. تاکنون، این باکتری را در دستگاه گوارش حیوانات مختلف، از جمله جوندگان، خرگوش، الاغ، خوک، اسب، موش، همستر و غیره کشف کرده‌اند (25،24).

باکتری *A. muciniphila*، باکتری گرم منفی، غیر متحرک، بی‌هوازی مطلق و فاقد اسپور است. سویه‌های این باکتری بیضی شکل هستند و اغلب به تنهایی و یا به صورت جفت مشاهده می‌شوند. *A. muciniphila* باکتری بدون تحرک، کموار گانوتروف، تجزیه‌کننده موسین می‌باشد، و همچنین در دمای 20 تا 40 درجه سانتی‌گراد و pH: 5/5-8 رشد می‌کند ولی شرایط ایده‌آل آن رشد در pH: 6/5 و دمای 37 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. این باکتری بر روی محیط کشت آگار، کلنی‌های سفید و در محیط کشت موسین کلنی‌های صورتی ایجاد می‌کند (24،14). این باکتری به عنوان نزدیک‌ترین باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال محسوب می‌شود که قادر به استفاده از موسین به عنوان منبع کربن و نیتروژن است و در نتیجه تخمیر موسین، استات و پروپیونات تولید می‌کند. از آنجایی که این باکتری در درون لایه مخاطی مستقر می‌شود و در فاصله نزدیکی با اپیتلیوم قرار دارد، در نتیجه این اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، بعد از تولید در لایه مخاطی، به راحتی در دسترس میزبان قرار می‌گیرند (27،26). پروپیونات تولید شده توسط باکتری‌های شبیه *Akkermansia* می‌تواند در میزبان از طریق اتصال به گیرنده Gpr43 (گیرنده‌های جفت شده با پروتئین‌های G) مسیرهای سیگنالینگ را فعال کند و SCFAs دیگر نیز ممکن است همین تاثیر را با Gpr41 انجام دهند (28). فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ منجر به تحریک سیستم ایمنی و مسیرهای متابولیک در موش‌های عاری از میکروب (germ-free) می‌شود (26).

وجود *A. muciniphila* در شیر مادر گزارش شده است. این باکتری از نوزادی در روده انسان کلونیزه می‌شود (از 1 ماهگی) و فراوانی آن در طی رشد تا بزرگسالی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. بنابراین مصرف آن از بدو تولد از طریق مصرف شیر مادر برای نوزادان آغاز شده است (29). توانایی *A. muciniphila* برای استفاده از الیگوساکاریدهای شیر انسان به عنوان تنها منبع انرژی، کربن و نیتروژن می‌تواند وجود آن را در شیر مادر و بافت پستان توضیح دهد (31،30).

باکتری *Akkermansia muciniphila* و ارتباط آن با بیماری‌های چاقی و دیابت

بررسی‌های پروفایل میکروبی انسان و موش در مطالعات مختلف به ارتباط بین باکتری *A. muciniphila* و بیماری‌های چاقی و دیابت اشاره کرده است، به طوری که در افراد چاق و دیابتی فراوانی این باکتری کاهش پیدا می‌کند (33،32،6). همچنین تجویز *A. muciniphila* زنده، اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی مانند چربی، افزایش قندخون و مقاومت به انسولین را معکوس می‌کند. بنابراین این باکتری می‌تواند عامل ارتباط بین سلامت روده و بیماری‌های چاقی و دیابت باشد (34،21). مطالعات بر روی متابولیسم گلوکز با تمرکز بر روی میکروبیوتای دستگاه گوارش و سیستم اندوکراینوید مشخص کرده است که میکروبیوتای دستگاه گوارش نقش کلیدی در تنظیم مسیرهای متابولیک بواسطه ارتباط دو طرفه میکروبیوتا و میزبان از طریق واکنش با TLRs و دیگر گیرنده‌ها دارد (14،13).

در طی اختلال (روده نشی) که در آن ناکارآمدی اتصالات محکم در سطح اپیتلیال روده مطرح است، اندوتوکسمی متابولیک، ناشی از نفوذ لیپوبلی ساکارید مشتق شده از باکتری‌های روده به گردش خون، باعث بروز التهاب می‌شود که با چاقی و دیابت همراه است (35). کاهش فراوانی باکتری‌های تولیدکننده اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مانند *A. muciniphila* با

افزایش نفوذ پذیری روده همراه است و در نتیجه انتقال فاکتورهای پیش التهابی از اپیتلیال روده به گردش خون، اندوتوکسمی متابولیک رخ می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که *A. muciniphila* اندوتوکسمی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را کاهش می‌دهد (34،36،37).

به عنوان مثال از مکانیسم‌های احتمالی موثر در سلامت روده، تولید بوتیرات به عنوان یک اسید چرب کوتاه زنجیر ضد التهاب توسط میکروبیوتای روده است. علاوه بر این بوتیرات باعث سنتز موسین، تقویت اتصالات محکم و بهبود سد اپیتلیال روده می‌شود. *A. muciniphila* و دیگر باکتری‌های تولیدکننده بوتیرات با حفظ یکپارچگی روده و ممانعت از فعالیت مسیرهای التهابی مرتبط، می‌تواند با دیابت و اختلالات التهابی روده رابطه معکوس داشته باشند (36،38).

در مطالعه‌ای، اشنبرگر و همکاران گزارش کردند که سطح *A. muciniphila* در موش‌ها با نشانگرهای التهابی، سنتز لیپیدها، چندین نشانگر مقاومت به انسولین در پلاسما و همچنین خطر بیماری‌های قلبی عروقی و چاقی ارتباط معکوس دارد (39). همچنین میزان *A. muciniphila* در بیماران دیابتی که با داروهای رایج دیابت شامل انسولین و متفورمین، تحت درمان قرار دارند نیز با مصرف دارو در ارتباط است. به طوری که فراوانی باکتری در افرادی که داروهای کنترل دیابت را مصرف می‌کنند، افزایش پیدا می‌کند و به نظر می‌رسد تعدیل میکروبیوتای روده با *A. muciniphila* ممکن است به اثرات ضد دیابتی این داروها کمک کند (18،40). مطالعاتی در زمینه مصرف این باکتری و شکل پاستوریزه آن به عنوان هدف درمانی برای چاقی و دیابت صورت گرفته که در ادامه به آن‌ها اشاره شده است.

Akkermansia muciniphila زنده بر بیماری‌های چاقی و دیابت

باکتری *A. muciniphila* به عنوان کاندید پروبیوتیک نسل جدید مطرح می‌باشد (41). این باکتری به عنوان

یک گزینه‌ی درمانی بالقوه با TLR و سیستم ایمنی بدن در سلول‌های اپیتلیال روده ارتباط برقرار می‌کند و از طریق تنظیم ترشح سایتوکین‌های مختلف در نهایت منجر به هموستاز در روده می‌شود (42). با مطالعاتی که بر روی اثر سویه‌های مختلف *A. muciniphila* زنده انجام شده است اثرات درمانی این باکتری بر چاقی و دیابت به خوبی مشاهده گردید (جدول شماره 1).

در مطالعه‌ای که Amandine Everard و همکاران در سال 2013 به بررسی ارتباط بین *A. muciniphila* و سلول‌های اپی تلیوم روده در مدل موشی چاق پرداختند، به این نتیجه رسیدند که این باکتری، چاقی در رژیم غذایی را کنترل می‌کند. فراوانی این باکتری در ارتباط معکوس با وزن بدن بوده و تجویز این باکتری در موش‌ها باعث بهبود عملکرد سد روده، کنترل التهاب و کاهش اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی پرچرب شده و حجم توده چربی، اندوتوکسمی متابولیک و مقاومت به انسولین را کاهش داده است (17). در مطالعه Shin و همکاران نتایج نشان داد که تعدیل میکروبیوتای روده با افزایش *A. muciniphila* ممکن است به اثرات ضد دیابتی متفورمین کمک کند و در مقابل این دارو منجر به تغییر میکروبیوتا روده به نفع این باکتری می‌شود (18).

در مطالعه‌ای که توسط Shaoqian Zhao و همکاران در سال 2016 انجام شد، 20 موش تحت رژیم غذایی لاغری و باکتری *A. muciniphila* به مدت پنج هفته قرار گرفتند. در نهایت نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که این باکتری سبب کاهش وزن بدن و توده چربی شده است و همچنین تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین در این موش‌ها بهبود یافته است. *A. muciniphila* بیان ژن مربوط به سنتز اسیدهای چرب و انتقال دهنده‌های آن‌ها به کبد و عضلات را کاهش می‌دهد و باعث کاهش التهاب مزمن می‌شود. استفاده از این باکتری به عنوان مکمل، التهاب متابولیک را تسکین داده و بستر اساسی برای تعامل *A. muciniphila* و سلامت میزبان را فراهم می‌کند (43).

جدول شماره 1: مطالعات بررسی اثر Akkermansia muciniphila زنده در چاقی و دیابت

نویسنده (رفرنس)	سال	نمونه ی مورد آزمایش	مدت زمان مداخله (هفته)	دوز مصرفی <i>A. muciniphila</i>	هدف مطالعه	نتایج مشاهده شده در گروه باکتری زنده
Amandine Everard (17)	2013	موش C57BL/6J مذکر 10 هفته سن	4	2×10^8 CFU/0.2 ml	فرآوری <i>A. muciniphila</i> و اثر مصرف آن در چاقی	↑ عملکرد سد روده ↓ التهاب ↓ توده چربی ↓ اندوتوکسمی متابولیک ↓ مقاومت به انسولین ↓ باکتری کشته شده بی اثر
Na-Ri Shin (18)	2014	موش C57BL/6J 6 عدد در هر گروه 4 هفته سن	6	4×10^8 CFU	اثر <i>A. muciniphila</i> در درمان دیابت با متفورمین	↑ تحمل گلوکز ↑ سلول های تولید کننده موسین
Renee L. Greer (43)	2016	موش C57BL/6 مذکر 5 موش در هر گروه 6 هفته سن بعد از 2 هفته 2 گروه	5	2×10^8 CFUs/200μl	اثر <i>A. muciniphila</i> بر موش های با رژیم غذایی لاغری	↓ رشد توده چربی و وزن بدن ↓ مقاومت به انسولین ↑ تحمل گلوکز ↑ هموستازی انرژی ↓ رسوب چربی و استرس ER در کبد و عضله ↓ متابولیک اندوتوکسمی ↓ التهاب
Shaoqian Zhao (44)	2017	موش C57BL/6 مذکر 5 موش در هر گروه 6 هفته سن بعد از 2 هفته 2 گروه	5	2×10^8 CFUs/200μl	اثر <i>A. muciniphila</i> بر موش های با رژیم غذایی لاغری	↓ رشد توده چربی و وزن بدن ↓ مقاومت به انسولین ↑ تحمل گلوکز ↑ هموستازی انرژی ↓ رسوب چربی و استرس ER در کبد و عضله ↓ متابولیک اندوتوکسمی ↓ التهاب
Fatemeh Ashrafian (45)	2019	موش C57BL/6J مذکر 8 هفته سن	5	10^9 CFU/200 ml	اثر <i>A. muciniphila</i> و وزیکول های خارج سلولی آن در چاقی	↑ عملکرد سد روده ↑ تبادل انرژی ↓ وزن بدن ↓ بافت های چربی ↓ غلظت تری گلیسرید کلسترول و گلوکز خون ↓ التهاب
Feifan Wu (46)	2020	موش C57BL/6 10 عدد در هر گروه 8 هفته سن	10	10^9 CFU/200 μl	اثر طولانی مدت <i>A. muciniphila</i> بر چاقی، دیابت و اختلالات روانی	↓ چاقی ناشی از رژیم غذایی ↓ مصرف مواد غذایی ↓ گلوکز خون ↑ حافظه فضایی ↓ زوال حافظه ↑ متابولیسم تریپتوفان ↓ التهاب سبستاتیک
Meng Yang (47)	2020	موش C57BL/6 7 عدد در هر گروه مذکر 7 هفته سن	12	1×10^8 CFU/animal	اثر <i>A. muciniphila</i> زنده بر چاقی و ارتباط آن با میکروبیوتای روده	↓ وزن بدن ↓ جذب کالری ↓ چربی کل ↑ هموستاز گلوکز ↑ حساسیت به انسولین ↓ التهاب مزمن ↑ یکپارچگی روده ↓ کبد چرب

موش ها بهبود یافته است. *A. muciniphila* بیان ژن مربوط به سنتز اسیدهای چرب و انتقال دهنده های آن ها به کبد و عضلات را کاهش می دهد و باعث کاهش التهاب مزمن می شود. استفاده از این باکتری به عنوان مکمل، التهاب متابولیک را تسکین داده و بستر اساسی برای تعامل *A. muciniphila* و سلامت میزبان را فراهم می کند (44).

در مطالعه ای که توسط Shaoqian Zhao و همکاران در سال 2017 انجام شد، 20 موش تحت رژیم غذایی لاغری و باکتری *A. muciniphila* به مدت پنج هفته قرار گرفتند. در نهایت نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که این باکتری سبب کاهش وزن بدن و توده چربی شده است و همچنین تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین در این

روده، بهبود یکپارچگی روده، جلوگیری از کبد چرب و بهبود عملکرد کبدی همراه بوده است. این نتایج به مفید بودن سویه‌های *A. muciniphila* انتخاب شده در برابر اختلالات متابولیکی اشاره کرده است (47).

در بیش تر مطالعات باکتری *A. muciniphila* رشد یافته بر محیط حاوی موسین با تاثیر بر سلول‌های تولیدکننده مخاط، عملکرد سد اپیتلیال روده را تقویت می‌نماید که این امر منجر به فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ و سایتوکاین‌هایی می‌شود که می‌توانند التهاب مزمن و متابولیک را کاهش دهند و اختلال متابولیک، تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین را بهبود بخشند. از طرفی در بعضی مطالعات این باکتری بیان ژن مربوط به سنتز اسید چرب و انتقال دهنده‌های آن‌ها به کبد و عضلات را کاهش می‌دهد و از ابتلا به کبد چرب پیشگیری می‌نماید. تظاهرات بالینی‌ای که در بیش تر مطالعات در مدل حیوانی مشاهده شده است، کاهش مصرف مواد غذایی و متعاقباً وزن بوده است. کلیه این موارد نشان دهنده نسبت عکس فراوانی این باکتری با چاقی و دیابت است. در بررسی‌های انجام شده تاکنون مطالعات زیادی بر روی اثر مصرف *A. muciniphila* به شکل زنده در پیشگیری، کنترل یا درمان بیماری چاقی و دیابت در انسان انجام نشده و تنها به‌طور محدودی سلامت و ایمنی مصرف آن، در برخی مطالعات بررسی شده است که این امر ممکن است به علت نبود اطلاعات کافی در مورد ایمنی و سلامت این باکتری و همچنین ناشناخته بودن میزان مناسب آن برای مصرف در انسان باشد.

پاستوریزاسیون باکتری *Akkermansia muciniphila* و اثر آن بر بیماری‌های چاقی و دیابت

پاستوریزاسیون می‌تواند یک روش هدفمند به منظور حفظ ویژگی‌های مفید باکتری در کنار کاهش سمیت آن باشد و به عنوان یک ابزار درمانی به خصوص در سویه‌های بی‌هوازی در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ای که به تاثیر حرارت بر ساختار باکتری پرداخته است،

اشرفیان و همکاران در سال 2019 نقش *A. muciniphila* و وزیکول‌های خارج سلولی آن را در کنترل وزن موش‌های چاق ناشی از رژیم غذایی پرچرب مورد ارزیابی قرار دادند. در موش‌های تحت درمان با *A. muciniphila* کاهش وزن بدن و بافت‌های چربی اپیدیدیم، کاهش غلظت تری‌گلیسرید، گلوکز و کلسترول پلاسما و کاهش بیان برخی ژن‌های مرتبط با التهاب مشاهده شد. این مطالعه بر نقش ترکیبات مختلف حاصل از باکتری‌های *A. muciniphila* در مطالعات میکروبیوتا اشاره داشته است (45).

مطالعه Jongoh Shin و همکاران در سال 2019 بر سه گروه موش دیابتی ناشی از رژیم غذایی پرچرب انجام شده است، گروه اول موش‌هایی هستند که با باکتری رشد کرده بر محیط حاوی موسین درمان شده‌اند، گروه دوم با باکتری رشد کرده بر محیط فاقد موسین و گروه سوم کنترل است. نتایج این داده‌ها نشان می‌دهد درمان با *A. muciniphila* باعث بهبود چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب، کاهش التهاب روده و ارتقا یکپارچگی سد روده‌ای می‌شود، که باکتری‌های رشد کرده در محیط دارای موسین مؤثرتر بوده‌اند (48).

در مطالعه‌ای در سال 2020 موش‌های چاق و دیابتی به مدت 30 هفته روزانه با زیرگونه جدیدی از *A. muciniphila* گاوآژ شدند، اثرات مفید این زیرگونه *A. muciniphila* بر وزن بدن، کنترل قندخون و کاهش زوال حافظه ناشی از رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها نشان داده شد (47).

در مطالعه Meng Yang و همکاران در سال 2020 بر روی موش‌های چاق ناشی از رژیم غذایی پرچرب صورت گرفته است، که با *A. muciniphila* جدا شده از نمونه مدفوع انسان گاوآژ شدند. داده‌ها نشان داد که درمان با *A. muciniphila* از افزایش انرژی بدن و کاهش وزن بافت‌های چربی اصلی و چربی کل، دریافت کالری و اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی پرچرب پیشگیری می‌کند. علاوه بر این هموستاز گلوکز و حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد که با مهار التهاب مزمن در

نشان داده شده است که با حرارت باکتری توسط اتوکلاو (15 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی گراد) اثرات محافظتی *A. muciniphila* ناپدید شد، در صورتی که پاستوریزاسیون پروبیوتیک‌ها در دمای 70 درجه برای 30 دقیقه دنا تورا سیون اجزای سلولی آن‌ها را محدود می‌نماید و اثرات مفید آن‌ها را حفظ می‌کند (50، 49، 17). در مطالعه ارزیابی اثرات *A. muciniphila* پاستوریزه بر روی اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی، نه تنها مشخص شده است که پاستوریزاسیون اثرات مفید را کاهش نمی‌دهد، بلکه به طور غیر منتظره‌ای اثرات مفید *A. muciniphila* را از طریق سسینگنالینگ TLR2 افزایش

می‌دهد (51). داده‌های مربوط به مطالعات بر روی این فرآورده در جدول شماره 2 آورده شده است.

در مطالعه‌ای که توسط Plover و همکاران در سال 2016 بر روی اثر *A. muciniphila* پاستوریزه انجام شد، موش‌های تغذیه شده با غذای چرب تحت درمان با باکتری‌های پاستوریزه، وزن بدن و توده چربی مشابه با موش‌های با رژیم غذایی نرمال را داشته‌اند. این موش‌ها عدم تحمل گلوکز و انسولین و غلظت تری گلیسیرید بسیار کم‌تری را نسبت به گروه باکتری زنده نشان دادند. درمان با *A. muciniphila* پاستوریزه همچنین منجر به تراکم بیشتر سلول‌های تولیدکننده موسین در ایلئوم

جدول شماره 2: مطالعات بررسی اثر Akkermansia muciniphila پاستوریزه در چاقی و دیابت

نویسنده	سال	نمونه‌ی مورد آزمایش	مدت زمان مداخله (هفته)	دوز مصرفی <i>A. muciniphila</i>	هدف مطالعه	نتایج مشاهده شده در گروه پاستوریزه
Hubert Plover (51)	2017	20 داوطلب انسانی مرد وزن شاخص توده بدنی $> 25 \text{ kg/m}^2$ با سندرم متابولیک موش C57BL/6J 2 عدد در هر گروه مذکر 10-11 هفته سن	12 و 5	10^{10} CFU	اثر <i>A. muciniphila</i> زنده و پاستوریزه در چاقی و دیابت	↓ رشد توده چربی و وزن بدن ↑ مقاومت به انسولین و ↑ تحمل گلوکز ↓ دیس لیپیدی ↓ جذب انرژی روده و ↑ انرژی مدفوع ↓ اندوتوکسمی ↓ اثری گلیسیریدی
Ling Zhang (52)	2018	موش صحرایی Sprague-Dawley 5 عدد در هر گروه مذکر 6-8 هفته سن	12	<i>A. muciniphila</i> زنده 5×10^8 5×10^6 5×10^4 CFU/0.5 ml <i>A. muciniphila</i> پاستوریزه 5×10^8 CFU/0.5 ml	اثر <i>A. muciniphila</i> زنده و پاستوریزه در دیابت	↑ HDL-C خون ↓ گلیکوزن کبدی ↑ عملکرد کبد ↓ سمیت ↓ استرس اکسیداتیو ↓ التهاب ↓ میکروبیوتای روده میزبان ↓ دیابت
Clara Depommier (21)	2019	32 داوطلب انسانی شاخص توده بدنی $> 25 \text{ kg/m}^2$ با سندرم متابولیک	12	10^{10} CFU/day	اثر مکمل <i>A. muciniphila</i> زنده و پاستوریزه در داوطلبان دارای اضافه وزن و چاقی	ایمن و قابل تحمل بودن باکتری زنده و پاستوریزه در انسان ↑ حساسیت به انسولین ↓ انسولینمی ↓ کلسترول کل پلاسما ↓ وزن بدن، توده چربی و دور باسن ↓ بهبود عملکرد کبد و التهاب کبد
Clara Depommier (22)	2020	موش C57BL/6J 8 عدد در هر گروه مذکر 8 هفته سن	5	2×10^8 CFU/150 μl	اثر <i>A. muciniphila</i> پاستوریزه بر مصرف انرژی کل بدن و دفع انرژی مدفوع در چاقی	↓ چاقی ناشی از رژیم غذایی ↓ بهره‌وری انرژی مواد غذایی ↑ مصرف انرژی ↑ سوخت و ساز بدن ↑ دفع انرژی از طریق مدفوع
Céline Druart (31)	2020	موش صحرایی Crl:WI (Han) 40 مذکر و 40 مؤنث 6-5 هفته سن	12	$4/8 \times 10^9$ $2/4 \times 10^{10}$ $9/6 \times 10^{10}$ cells/kg	ارزیابی ایمنی <i>A. muciniphila</i> پاستوریزه	هیچ عارضه جانبی مربوط به مورد آزمایش در مطالعات بالینی و آسیب شناسی مشاهده نشد.

نسبت به موش‌های تغذیه شده با غذای غیر چرب شد. در موش‌های تحت درمان با باکتری پاستوریزه میانگین قطر سلول‌های چربی نرمال و لپتین پلاسما به طور قابل توجهی پایین تر بود، که این اثرات در موش‌های تحت درمان با باکتری زنده مشاهده نشده است. همچنین موش‌هایی که با *A. muciniphila* پاستوریزه تحت درمان قرار گرفتند، در مقایسه با تمام گروه‌های دیگر، محتوای کالری مدفوع بالاتری داشتند، که نشان‌دهنده‌ی جذب انرژی کم‌تر است و منجر به کاهش وزن بدن و کاهش توده چربی شده است. علاوه بر این داده‌های مطالعه بر روی داوطلبان انسانی نشان می‌دهد که درمان با *A. muciniphila* زنده یا پاستوریزه در افراد با اضافه وزن و چاق، بی‌خطر است و بعد از دو هفته مصرف هیچ تغییری در پارامترهای بالینی ایمنی مربوطه یا عوارضی گزارش نشده است. در این مطالعه با اشاره به پایداری پروتئین Amuc_1100 حاصل از *A. muciniphila* در پاستوریزاسیون در 70 درجه سانتی‌گراد و نقش آن در تعامل با میزبان از طریق سیگنالینگ TLR2 و همچنین ارتباط با چاقی و دیابت با بهبود عملکرد سد روده، بیان کردند که پاستوریزاسیون احتمالاً با افزایش دسترسی این پروتئین به میزبان، اثرات مفید *A. muciniphila* را افزایش می‌دهد. سرانجام پلاویر و همکاران به این نتیجه رسیدند که *A. muciniphila* پاستوریزه اثرات قوی‌تری نسبت به باکتری زنده، به ویژه در بیماری‌های متابولیک دارد که می‌تواند به دلیل افزایش دسترسی به ترکیبات خاص با اثرات مثبت و حذف برخی متابولیت‌ها باشد (51). طی مطالعه‌ای که موش‌های صحرایی دیابتی (مدل‌سازی در اثر رژیم غذایی پر چرب و یا استرپتوزوتوسین) به صورت خوراکی با *A. Muciniphila* زنده و پاستوریزه در دوزهای مختلف تحت درمان قرار گرفتند، افزایش قابل توجه غلظت HDL-C خون و کاهش گلیکوژن کبدی مشاهده شد. این نتایج نشان داد که *A. muciniphila* می‌تواند باعث بهبود عملکرد کبد، کاهش سمیت در کبد، کاهش استرس اکسیداتیو، سرکوب التهاب و تعدیل میکروبیوتای روده میزبان و در نهایت

جلوگیری از عوارض دیابت شود (52). در مطالعه‌ای که به مقایسه باکتری *A. muciniphila* به صورت زنده و پاستوریزه پرداخته است، Depommier و همکاران در سال 2019 دریافتند فراوانی این باکتری در مدفوع انسان با چاقی و دیابت نوع 2 رابطه معکوس دارد و پاستوریزه *A. muciniphila* قادر است با افزایش مصرف انرژی، فعالیت بدنی و افزایش دفع انرژی مدفوع، بر متابولیسم انرژی کل بدن تأثیر گذارد. این کارآزمایی بالینی در افراد داوطلب مقاوم به انسولین چاق نشان داد که مصرف روزانه *A. muciniphila* پاستوریزه باعث بهبود پارامترهایی مانند حساسیت به انسولین، کلسترول تام پلاسما و همچنین نشانگرهای خون مربوط به اختلال عملکرد و التهاب کبد، به طور مستقل از هر گونه محدودیت کالری یا اصلاح فعالیت بدنی می‌شود (21). در مطالعه‌ای دیگر که توسط همین گروه در سال 2020 انجام شده است، اثرات *A. muciniphila* پاستوریزه بر متابولیسم انرژی کل بدن را در طول تغذیه با رژیم غذایی پر چرب در موش بررسی کردند و تایید کردند که تجویز خوراکی روزانه این باکتری به صورت پاستوریزه باعث کاهش چاقی ناشی از رژیم غذایی و کاهش بازده انرژی غذا می‌شود و حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد. در واقع پاستوریزاسیون اثرات مفید باکتری بر روی متابولیسم را افزایش می‌دهد (22). در مطالعه‌ای در سال 2020 نیز ارتباط *A. muciniphila* پاستوریزه با کاهش توده چربی و تراکم استخوان در مدل موشی نشان داده شده است (53). در مطالعه‌ای که Céline Druart و همکاران در سال 2020 به بررسی ایمنی و سلامت *A. muciniphila* پاستوریزه پرداختند، هیچ عارضه جانبی مربوط به آزمایش در مطالعات بالینی و آسیب‌شناسی مشاهده نشد. بنابراین نتیجه گرفتند استفاده از آن به عنوان یک مکمل غذایی بی خطر است (31). در نهایت با توجه به حساسیت *A. muciniphila* و نیازهایی که برای کشت دارد، تکثیر این باکتری با دشواری‌هایی روبرو است. از سویی مصرف باکتری‌ها

به شکل زنده ممکن است در افراد با نقص سیستم ایمنی یا اختلال در سد روده باعث ایجاد عوارض جانبی خطرناکی شود. با توجه به این شرایط، محققان پاستوریزاسیون را به عنوان یک روش جدید برای استفاده از این باکتری معرفی کرده‌اند، اما تاکنون مکانیسم دقیقی برای نحوه اثرگذاری بهتر *A. Muciniphila* پاستوریزه ارائه نشده است و برای استفاده بالینی از آن نیاز به بررسی‌های بیش‌تر می‌باشد.

بحث

باکتری *A. muciniphila*، به عنوان یکی از باکتری‌های مفید دستگاه گوارش، که دارای نقش مهمی در تنظیم سلامت انسان به‌خصوص در اختلالات متابولیک است، شناخته می‌شود. شواهد جدید اثرات مثبتی از شکل پاستوریزه آن نیز بر روی کنترل چاقی و دیابت نشان داده‌اند. پاستوریزاسیون باعث افزایش کارایی و اثرگذاری سویه‌های مختلف این باکتری می‌شود که ممکن است پروتئین‌های مختلف ساختاری و ترشحی یا ترکیباتی نظیر وزیکول‌های خارج سلولی

A. muciniphila عامل این اثرگذاری باشند. پاستوریزاسیون می‌تواند با ایجاد دسترسی بهتر به این عوامل یا از بین بردن متابولیت‌های ممانعت‌کننده و در نتیجه عبور آسان‌تر از سد روده‌ای و تعدیل سیستم ایمنی و متابولیسم میزبان باعث مشاهده اثرگذاری بیشتر باشد. با توجه به دشواری‌های کشت و زنده‌مانی این باکتری غیرهوازی و همچنین تایید ایمنی شکل پاستوریزه‌ی *A. muciniphila* برای انسان و حیوانات، مطالعه روش‌های مناسب پاستوریزاسیون و شناسایی انواع متابولیت‌های موجود در آن پیشنهاد می‌گردد. در این راستا علاوه بر *A. muciniphila* زنده، شکل پاستوریزه باکتری نیز می‌تواند رویکرد جدیدی برای مطالعات بالینی باشد و به عنوان یک پروبیوتیک نسل جدید در درمان دیابت و چاقی در نظر گرفته شود. ادامه مطالعه اثرات *A. muciniphila* پاستوریزه بر روی دیگر بیماری‌ها و همچنین شناخت بیش‌تر این ویژگی در مورد سایر باکتری‌ها نیز در راستای استفاده بهینه از قابلیت‌های میکروبیوتای روده می‌باشد.

References

1. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6): 2595-2600.
2. Misra A, Khurana L. Obesity and the metabolic syndrome in developing countries. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(11 suppl 1): S9-S30.
3. Romaní-Pérez M, Agusti A, Sanz Y. Innovation in microbiome-based strategies for promoting metabolic health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2017; 20(6): 484-491.
4. Ejtahed HS, Soroush AR, Angoorani P, Larijani B, HasaniRanjbar S. Gut microbiota as a target in the pathogenesis of metabolic disorders: a new approach to novel therapeutic agents. *Horm Metab Res* 2016; 48(06): 349-358.
5. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut* 2014; 63(9): 1513-1521.
6. Ejtahed H-S, Hoseini-Tavassol Z, Khatami S, Zangeneh M, Behrouzi A, Badi SA, et al. Main gut bacterial composition differs between patients with type 1 and type 2 diabetes and non-diabetic adults. *J Diabetes Metab Disord* 2020: 265-271.
7. Ashrafian F, Behrouzi A. Comparative study of effect of *Akkermansia muciniphila* and its extracellular vesicles on toll-like receptors and tight junction. *Gastroenterology and*

- Hepatology from Bed to Bench 2019; 12(2): 163.
8. Munro N. Gut microbiota: its role in diabetes and obesity. *Diabetes & Primary Care* 2016; 18(4): 1-6.
 9. Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, Gevers D, Caporaso JG, Knight R. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(5): 1204-1208.
 10. Ho JT, Chan GC, Li JC. Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol* 2015; 16: 21
 11. Xu X, Wang Z, Zhang X. The human microbiota associated with overall health. *Crit Rev Biotechnol* 2015; 35(1): 129-140.
 12. Hur KY, Lee MS. Gut microbiota and metabolic disorders. *Diabetes Metab J* 2015; 39(3): 198-203.
 13. Cani PD, Geurts L, Matamoros S, Plovier H, Duparc T. Glucose metabolism: focus on gut microbiota, the endocannabinoid system and beyond. *Diabetes Metab* 2014; 40(4): 246-257.
 14. Kamneva OK, Knight SJ, Liberles DA, Ward NL. Analysis of genome content evolution in PVC bacterial super-phylum: assessment of candidate genes associated with cellular organization and lifestyle. *Genome Biol Evol* 2012; 4(12): 1375-1390.
 15. Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27(1): 73-83.
 16. Dehghanbanadaki H, Aazami H, Raftar SKA, Ashrafi F, Ejtahed H-S, Hashemi E, et al. Global Scientific Output Trend for Akkermansia muciniphila Research: A Bibliometric and Scientometric Analysis. *BMC Med Inform Decis Mak* 2020; 20(1): 291.
 17. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(22): 9066-9071.
 18. Shin NR, Lee JC, Lee H-Y, Kim MS, Whon TW, Lee M-S, et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut* 2014; 63(5): 727-735.
 19. Org E, Parks BW, Joo JW, Emert B, Schwartzman W, Kang EY, et al. Genetic and environmental control of host-gut microbiota interactions. *Genome Res* 2015; 25(10): 1558-1569.
 20. Li J, Lin S, Vanhoutte PM, Woo CW, Xu A. Akkermansia muciniphila protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe^{-/-} mice. *Circulation* 2016; 133(24): 2434-2446.
 21. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, et al. Supplementation with Akkermansia muciniphila in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med* 2019; 25(7): 1096-1103.
 22. Depommier C, Van Hul M, Everard A, Delzenne NM, De Vos WM, Cani PD. Pasteurized Akkermansia muciniphila increases whole-body energy expenditure and fecal energy excretion in diet-induced obese mice. *Gut Microbes* 2020; 11(5): 1231-1245.
 23. Jones ML, Martoni CJ, Di Pietro E, Simon RR, Prakash S. Evaluation of clinical safety and tolerance of a Lactobacillus reuteri NCIMB 30242 supplement capsule: a randomized control trial. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012; 63(2): 313-320.

24. 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(5): 1469-1476.
25. Costa M, Stämpfli H, Allen Vercoe E, Weese J. Development of the faecal microbiota in foals. *Equine Vet J* 2016; 48(6): 681-688.
26. Derrien M, Van Baarlen P, Hooiveld G, Norin E, Müller M, de Vos WM. Modulation of mucosal immune response, tolerance, and proliferation in mice colonized by the mucin-degrader *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol* 2011; 2: 166.
27. Miele L, Giorgio V, Alberelli MA, De Candia E, Gasbarrini A, Grieco A. Impact of Gut Microbiota on Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep* 2015; 17(12): 1-7.
28. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461(7268): 1282-1286.
29. Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Maternal weight and excessive weight gain during pregnancy modify the immunomodulatory potential of breast milk. *Pediatr Res* 2012; 72(1): 77-85.
30. Ottman NA. Host immunostimulation and substrate utilization of the gut symbiont *Akkermansia muciniphila*. Wageningen: Wageningen University 2015.
31. Druart C, Plovier H, Van Hul M, Brient A, Phipps KR, de Vos WM, et al. Toxicological safety evaluation of pasteurized *Akkermansia muciniphila*. *J Appl Toxicol* 2020; 1-15.
32. Marvasti FE, Moshiri A, Taghavi MS, Riaz S, Taati M, Sadati SF, et al. The First Report of Differences in Gut Microbiota Composition between Obese and Normal Weight Iranian Subjects. *Iranian Biomedical Journal* 2020; 24(3): 148-154.
33. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microbial Pathog* 2017; 106: 171-181.
34. Reunanen J, Kainulainen V, Huuskonen L, Ottman N, Belzer C, Huhtinen H, et al. *Akkermansia muciniphila* Adheres to Enterocytes and Strengthens the Integrity of the Epithelial Cell Layer. *Appl Environ Microbiol* 2015; 81(11): 3655-3662.
35. Fändriks L. Roles of the gut in the metabolic syndrome: an overview. *J Intern Med* 2017; 281(4): 319-336.
36. Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, et al. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PloS One* 2011; 6(10): e25792.
37. Siljander H, Honkanen J, Knip M. Microbiome and type 1 diabetes. *EBioMedicine* 2019; 46: 512-521.
38. Png CW, Lindén SK, Gilshenan KS, Zoetendal EG, McSweeney CS, Sly LI, et al. Mucolytic Bacteria With Increased Prevalence in IBD Mucosa Augment In Vitro Utilization of Mucin by Other Bacteria. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(11): 2420-2428.
39. Schneeberger M, Everard A, Gómez-Valadés AG, Matamoros S, Ramírez S, Delzenne NM, et al. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci Rep* 2015; 5: 16643.
40. Gadery Z, Mobassery M, Ostadrahimy AR. Evaluation of *Akkermansia muciniphila*

- bacteria in obese and overweight type 2 diabetic patients treated with insulin or oral hypoglycemic agents comparing with healthy subjects. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services* 2020; 42(3): 303-318.
41. Neef A, Sanz Y. Future for probiotic science in functional food and dietary supplement development. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16(6): 679-687.
 42. van Baarlen P, Wells JM, Kleerebezem M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends Immunol* 2013; 34(5): 208-215.
 43. Greer RL, Dong X, Moraes ACF, Zielke RA, Fernandes GR, Peremyslova E, et al. *Akkermansia muciniphila* mediates negative effects of IFN γ on glucose metabolism. *Nat Commun* 2016; 7(1): 1-13.
 44. Zhao S, Liu W, Wang J, Shi J, Sun Y, Wang W, et al. *Akkermansia muciniphila* improves metabolic profiles by reducing inflammation in chow diet-fed mice. *J Mol Endocrinol* 2017; 58(1): 1-14.
 45. Ashrafian F, Shahryari A, Behrouzi A, Moradi HR, Lari A, Hadifar S, et al. *Akkermansia muciniphila*-derived extracellular vesicles as a mucosal delivery vector for amelioration of obesity in mice. *Front Microbiol* 2019; 10: 2155.
 46. Wu F, Guo X, Zhang M, Ou Z, Wu D, Deng L, et al. An *Akkermansia muciniphila* subtype alleviates high-fat diet-induced metabolic disorders and inhibits the neurodegenerative process in mice. *Anaerobe* 2020; 61: 102138.
 47. Yang M, Bose S, Lim S, Seo J, Shin J, Lee D, et al. Beneficial Effects of Newly Isolated *Akkermansia muciniphila* Strains from the Human Gut on Obesity and Metabolic Dysregulation. *Microorganisms* 2020; 8(9): 1413.
 48. Shin J, Noh J-R, Chang D-H, Kim Y-H, Kim MH, Lee ES, et al. Elucidation of *Akkermansia muciniphila* probiotic traits driven by mucin depletion. *Front Microbiol* 2019; 10: 1137.
 49. Sakai T, Taki T, Nakamoto A, Shuto E, Tsutsumi R, Toshimitsu T, et al. *Lactobacillus plantarum* OLL2712 regulates glucose metabolism in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2013; 59(2): 144-147.
 50. Peng GC, Hsu CH. The efficacy and safety of heat killed *Lactobacillus paracasei* for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house dust mite. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16(5): 433-438.
 51. 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 bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med* 2017; 23(1): 107-113.
 52. Zhang L, Carmody RN, Kalariya HM, Duran RM, Moskal K, Poulev A, et al. Grape proanthocyanidin-induced intestinal bloom of *Akkermansia muciniphila* is dependent on its baseline abundance and precedes activation of host genes related to metabolic health. *J Nutr Biochem* 2018; 56: 142-151.
 53. Lawenius L, Scheffler JM, Gustafsson KL, Henning P, Nilsson KH, Colldén H, et al. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* protects from fat mass gain but not from bone loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2020; 318(4): E480-E491.