



**OBEZ KADIN HASTALARDA AKUPUNKTUR TERAPİSİYLE KİLO KAYBININ
FEKAL MİKROBİYOTA KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

DR. TUBA BATUR

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2021

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OBEZ KADIN HASTALARDA AKUPUNKTUR TERAPİSİYLE KİLO KAYBININ
FEKAL MİKROBİYOTA KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

DR. TUBA BATUR

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. MEHMET AKÖZ

KONYA, 2021

TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesinde yardım ve katkılarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Fatma Hümeysra Yerlikaya Aydemir'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta saygıdeğer hocam Prof Dr Mehmet Aköz olmak üzere, Prof Dr Ali Muhtar Tiftik, Prof Dr Mehmet Gürbilek ve kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Kılınç'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimin ilk gününden itibaren emeği geçen adını sayamadığım saygıdeğer hocalarıma, beraber çalıştığım değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.



ÖZET

OBEZ KADIN HASTALARDA AKUPUNKTUR TERAPİSİYLE KİLO KAYBININ FEKAL MİKROBİYOTA KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ

DR. TUBA BATUR

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2021

Amaç: Akupunktur terapisiyle kilo kaybının obez kadın hastalarda fekal mikrobiyom, antropometrik ölçümler ve biyokimyasal parametrelere etkisinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışma 15 obez (VKİ; Vücut Kitle İndeksi ≥ 30) kadın birey üzerinde yapıldı. Düşük kalorili diyet (diyet grubu; n=6) ve diyetle beraber akupunktur terapisi (12 seans ve 12 hafta süreyle), (akupunktur grubu; n=9) uygulanan iki ayrı çalışma grubundan, en az 10 kg kaybeden katılımcıların çalışma başı ve bitimine ait (0. ve 12. hafta) antropometrik ölçümleri, biyokimyasal parametreleri ve fekal mikrobiyota kompozisyonları karşılaştırıldı. Mikrobiyal genomu temsil etmek üzere 16S rRNA geni hedef gen olarak kullanılarak tedavi öncesi ve sonrası değişimler incelendi.

Bulgular: Diyet ve akupunktur grubunda tedaviyle antropometrik parametreler ve HOMA-IR düzeylerinde anlamlı düşüş izlendi. Akupunkturun, vücut ağırlığı ve VKİ düzeylerini düşürmede, yalnızca diyet tedavisi alan grupla kıyaslandığında daha büyük düşüşler sağladığı izlendi. Ayrıca akupunktur terapisiyle *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* ve *Tenericutes* taksonlarının öne çıktığı görüldü.

Sonuç: Bulgular obez bireylerde akupunktur terapisi uygulamasının vücut ağırlığı, adipöz doku, lipid metabolizması ve bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisi olduğunu gösterdi. Bu bilgiler ışığında akupunktur uygulamasının metabolizmadaki rolünün kesin olarak gösterilebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: obezite, akupunktur terapisi, fekal mikrobiyota, insulin direnci; homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası:191518008.

ABSTRACT

THE EFFECT OF WEIGHT LOSS BY ACUPUNCTURE THERAPY ON FECAL MICROBIOTA COMPOSITION IN OBESE FEMALE PATIENTS

TUBA BATUR, MD

THESIS OF SPECIALTY

KONYA, 2021

Aim: It was aimed to investigate the effect of weight loss by acupuncture therapy on fecal microbiome, anthropometric measurements and biochemical parameters in obese female patient.

Material and Method: The study was conducted on 15 obese (BMI; Body Mass Index ≥ 30) female subjects. The study group was divided into two groups as individuals who received low-calorie diet (diet group, n=6) and diet combined with acupuncture therapy (12 sessions and 12 weeks), (acupuncture group; n=9). The anthropometric measurements, biochemical parameters and fecal microbiota composition at the beginning and at the end of the study (0 and 12 weeks) of the participants who lost at least 10 kg were compared. Pretreatment and posttreatment changes were examined using the 16S rRNA gene as the target gene to represent the microbial genome.

Results: A significant decrease was observed in anthropometric parameters and HOMA-IR levels with treatment in diet and acupuncture group. Acupuncture was observed to provide greater reductions in body weight and BMI compared to the group that received diet alone. In addition, it was observed that *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* and *Tenericutes* taxa came to the fore with acupuncture therapy.

Conclusion: These findings show that acupuncture therapy has an effect on body weight, adipose tissue, lipid metabolism and intestinal microbiota. On the other hand, we believe that more comprehensive studies are needed in order to show the role of acupuncture in metabolism.

Keywords: obesity, acupuncture therapy, fecal microbiota, Insulin resistance; homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)

This work was supported by Research Fund of the Necmettin Erbakan University. Project Number: 191518008.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Obezite.....	3
2.1.1. Obezite Tanım.....	3
2.1.2. Obezite Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Obezite Tanı ve Sınıflandırması.....	3
2.1.4. Obezite Etiyopatogenezi.....	5
2.1.4.1. Obezite ile İlişkili Moleküler Yolaklar.....	6
2.1.5. Obezitede Komorbid Durumlar.....	10
2.1.6. Obezitede Tedavi Yaklaşımları.....	10
2.2. Akupunktur.....	11
2.2.1. Akupunkturun Tarihçesi.....	11
2.2.2. Akupunkturda Kavramlar.....	12
2.2.3. Akupunkturun Bilimsel Temelleri, Obezite ve Mikrobiyota ile İlişkisi.....	12
2.3. Mikrobiyota.....	17

2.3.1. Mikrobiyota, Bağırsak Mikrobiyota İçeriği.....	17
2.3.2.Bağırsak Mikrobiyotasına Etki Eden Faktörler.....	18
2.3.2.1.Doğum Yolu.....	18
2.3.2.2. Yaş.....	18
2.3.2.3.Cinsiyet.....	19
2.3.2.4.Gebelik.....	20
2.3.2.5. Genetik.....	20
2.3.2.6.Diyet.....	20
2.3.2.7. Prebiyotikler.....	20
2.3.2.8. Probiyotikler.....	21
2.3.2.9. Antibiyotikler.....	21
2.3.3.Bağırsak Mikrobiyotasının Fizyolojik İşlevleri ve Etki Mekanizması.....	21
2.3.4. Mikrobiyal Disbiyozis ve Obezite İlişkisi.....	24
2.3.5.Obezite Tedavisinde Mikrobiyota.....	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1.Araştırma Tasarımı.....	27
3.1.1. Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri	27
3.2. Fekal Örneklerin Eldesi.....	28
3.3. Mikrobiyota Analizi.....	29
3.3.1. Fekal Örneklerden DNA izolasyonu.....	29
3.3.2. 16S rRNA Sekanslama ve Biyoinformatik Veri Analizi.....	29
3.4. İstatistiksel Analiz.....	31
3.4.1. Antropometrik Ölçümler ve Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizi.....	31
3.4.2.Mikrobiyom Verilerinin İstatistiksel Analizi.....	31
4.BULGULAR.....	32
4.1. Antropometrik Ölçümler ve Biyokimyasal Analizlerin Değerlendirilmesi.....	32

4.2. Mikrobiyota Analizlerinin Değerlendirilmesi.....	33
5. TARTIşMA.....	42
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. VKİ'ye göre antropometrik değerlendirme ile obezite sınıflandırılması.....	4
Tablo 2.2. Farklı obezite sınıflamasına ait klinik özellikler.....	5
Tablo 3.1. V3-V4 bölgesini hedefleyen 341F ve 806R primer dizimleri.....	29
Tablo 4.1. Obez bireylerin tedavi öncesi yaş, antropometrik ve biyokimyasal ölçümlerine ilişkin veriler.....	32
Tablo 4.2. Bireylerin tedavi öncesi ve sonrası antropometrik ve biyokimyasal ölçümlerinin karşılaştırılmasına ilişkin veriler.....	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Antiinflamatuvar ve proinflamatuvar adipokinler.....	7
Şekil 2.2. Melanokortin sistemdeki POMC nöronları ve iştah kontrolü.....	8
Şekil 2.3. Yin ve Yang kavramının sembolizasyonu.....	12
Şekil 2.4. Sıçan organları üzerinde tripan mavisi kullanılarak görüntülenebilen primovasküler sistem kanal ve nodları.....	13
Şekil 2.5: Vücutta akupunktur kanallarının önden görünüşü.....	13
Şekil 2.6. Kulakta akupunktur noktaları.....	14
Şekil 2.7. Bağırsak mikrobiyotası ve bağlantılı moleküler yollar.....	22
Şekil 3.1. 16 S rRNA Sekanslama Yöntem Basamakları.....	30
Şekil 4.1. Bağırsak mikrobiyotalarında filum düzeyinde göreceli bolluk oranları.....	34
Şekil 4.2. Herbir grup için filum düzeyinde göreceli olarak en bol taksonlar.....	35
Şekil 4.3. Cins düzeyinde göreceli bolluk oranları.....	36
Şekil 4.4. Herbir grup için cins düzeyinde göreceli olarak en bol taksonlar.....	37
Şekil 4.5. Grupların mikrobiyota Shannon çeşitlilik indeksini gösteren kutu grafikleri.....	38
Şekil 4.6. Bray Curtis yöntemiyle elde edilen beta çeşitlilik analiz sonuçları.....	39
Şekil 4.7. Temel koordinat analizi (PCoA).....	40
Şekil 4.8. LefSe analizi ile öne çıkan mikroorganizmalar.....	41
Şekil 4.9. A1 ve A2 grubuna ait LDA etki büyüklüğü analiz verilerinden elde edilen kladogram.....	41

SİMGELER ve KISALTMALAR

AgRP	: Agouti-Related Protein
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
AT-II	: Angiotensin II
BA	: Bile acids (Safra asitleri)
BAT	: Brown adipose tissue (Kahverengi yağ dokusu)
BHC	: Bonghan corpuscles
BHD	: Bonghan ducts
CB1	: Cannabinoid receptors 1
CCK	: Cholecystokinin
CRP	: C-reaktif protein
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EC	: Endothelial cell
eCB	: Endocannabinoid system
ET-1	: Endothelin-1
F/B	: <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
FXR	: Farnesoid X receptor
GLP-1	: Glucagon-like peptide-1
GPR	: G-protein-coupled receptor
GPR41	: G-protein-coupled receptor 41
GPR43	: G-protein-coupled receptor 43
HOMA-IR	: Homeostasis model assessment of insulin resistance
IL-6	: Interleukin 6
LEfSe	: Linear discriminant analysis effect size
LDA	: Linear Discriminant Analysis
LPS	: Lipopolysaccharide
MC4R	: Melanocortin-4 receptor
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein-1
MMP	: Matrix metalloproteinases
MRPP	: Multi-Response Permutation Procedure
MSH	: Melanocyte stimulating hormone
NFkB	: Nuclear Factor kappa-B
NO	: Nitric oxide

NMDS	: Non-metric multidimensional scaling
NPY	: Neuropeptide Y
OTU	: Operational taxonomic unit
OxLDL	: Oxidized low-density lipoprotein
PAI-1	: Plasminogen activator inhibitor-1
POMC	: Pro-opiomelanocortin
PCR	: Polimerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PYY	: Peptide YY
PRR	: Pattern Recognition Receptors
SCFA	: Short chain fatty acids (Kısa zincirli yağ asitleri)
SMC	: Smooth muscle cells (Düz kas hücreleri)
TGR5	: G-protein-coupled BA receptor 1
TLR	: Toll-like receptor
TMA	: Trimethylamine
TMAO	: Trimethylamine-N-oxide
TNF- α	: Tumor necrosis factor- α
T β MCA	: Tauro- β -muricholic acid
VKI	: Vücut Kitle İndeksi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, prevalansı giderek artış gösteren, metabolik disregülasyonla ilişkili küresel bir sağlık sorunudur. Obezite ve ilişkili kronik hastalıklarda dünya çapındaki artış, büyük ölçüde küresel ticaretin serbestleşmesi, ekonomik büyüme ve hızlı kentleşmeden kaynaklanan pozitif enerji dengesini teşvik eden yaşam ve beslenme tarzı değişiklikleriyle yakından ilişkilidir.

Obezite; dislipidemi, hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, kas-iskelet sistemi hastalıkları ve malignitelere zemin hazırlayarak yaşam kalitesi ve süresini olumsuz yönde etkilemesinin yanında sağlık harcamalarını da önemli oranda artırmaktadır.

Obezite tedavisinde %5-10'luk bir kilo kaybı ile komorbidite riskinde azalma olmaktadır. Obezite tedavisinde diyet, egzersiz, yaşam tarzı değişiklikleri, ilaç ve bariatrik cerrahi gibi birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Toplumsal talebi günümüzde gittikçe artan geleneksel tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamaları obezite tedavisi için etkili ve güvenilir tedaviler arasında yerini almıştır.

Akupunkturun vücut üzerinde belirlenmiş meridyen ve bu meridyen kanalları üzerindeki noktalar üzerinden analjezik, homeostatik, psikolojik, immunomodülatuar ve sedatif etkiler gösterdiği bilinmektedir. Akupunktur terapisinin obezite ilişkili peptid hormonlar (leptin ve ghrelin), insülin direnci, glukoz ve lipit metabolizması, serum immünoglobulin düzeyleri ve iştah üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir.

İnsan bağırsak mikrobiyomu sindirim, beslenme, detoksifikasyon, immun sistem modülasyonu gibi birçok konuda rol oynar. Sindirim sisteminde yüksek çeşitliliğe sahip çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Bunların çoğu *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* türleridir.

Organizmaların filogenetiği ve beslenme şekli intestinal mikrobiyota kompozisyonunu değiştirmeye katkıda bulunan önemli faktörlerdendir. Yapılan birçok çalışmada diyet değişiklikleriyle bağırsak bakterilerinin önemli ölçüde değiştiği gösterilmiştir. Mikrobiyal disbiyozisin obezite, diyabet, metabolik sendrom, ateroskleroz gibi birçok patolojik durumla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Farklı tedavi yöntemleri ile kilo kaybeden obez hastaların mikrobiyotasının sağlıklı yönde değişim gösterdiğine dair bulgular mevcuttur.

Obez bireylerde akupunktur terapisiyle kilo kaybı konusunda başarılı sonuçlar alındığı bilinmektedir. Ancak akupunkturun disbiyozis üzerinde etkisinin olup olmadığı, etkisi varsa ne yönde olduğu konusu henüz açık değildir. Bu çalışmada obez kadın hastalarda akupunktur terapisinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki olası etkisinin araştırılması ve değişimin tanımlanması amaçlandı. Çalışmayla ilgili giriş bölümünün ardından obezite, akupunktur terapisi ve mikrobiyota ile ilgili genel ve güncel bilgilere değinildi. Devamında obez kadın bireylerde akupunktur terapisiyle kilo kaybının antropometrik ve biyokimyasal ölçümler ile fekal mikrobiyota üzerine etkisinin araştırılmasıyla ilgili araştırma tasarımının detayları, sonraki bölümlerde ise elde edilen veriler ışığında bulgular ve tartışma konusu ele alındı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

2.1.1. Obezite Tanım

Obezite vücutta olması gerekenden fazla miktarda yağ depolanmasıyla ortaya çıkan bir enerji denge bozukluğudur. Vücut yağ oranının artışı, enerji alımı ve/veya enerji harcanması arasındaki denge bozukluğundan kaynaklanır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün sınıflamasına göre $VKİ \geq 25$ ise fazla kilolu ve $VKİ \geq 30$ ise obez kategorisinde değerlendirilmektedir (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

2.1.2. Obezite Epidemiyolojisi

DSÖ 2016 yılı verilerine göre tüm dünyada yetişkinlerin (≥ 18 yaş) %39'u fazla kilolu, %13'ü obez kategorisindedir ve son 30 yıl içerisinde obezite prevalansı ikiye katlanmıştır (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

Türkiye'de ulusal olarak farklı zamanlarda yapılan çalışmalarda yetişkin bireylerde obezite prevalansının %15,6 ile %39,7 arasında değişen oranlarda olduğu bildirilmiştir (Demir 2019). Ülkemizde obezite oranı erişkinlerde 2008 yılında %15,2 iken, 2014 yılında %19,9'a ulaşmış, bu süre zarfında artış oranı kadınlar için %32,3; erkekler için %24 olarak hesaplanmıştır (Demir 2019). 2018 yılında yayımlanan ve son 15 yıl içinde yapılan epidemiyolojik çalışmaların dahil edildiği bir metaanaliz çalışmasında Türkiye için obezite ($VKİ \geq 30$) sıklığı kadınlarda %30, erkeklerde %17 olarak hesaplanmışken, DSÖ 2016 dünya geneli verilerine göre bu oranlar erişkinlerde sırasıyla %15, %11'dir (Ural 2018).

2.1.3. Obezite Tanı ve Sınıflandırması

Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre vücut kitle indeksi (VKİ) değeri (kg/m^2), 18,5'in altındakiler az kilolu (zayıf), 18.5-24.9 arası normal kilolu, 25-29.9 arası fazla kilolu; 30-39.9 arası obez; 40 ve üzeri olanlar morbid obez kategorisinde değerlendirilmektedir (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>), (Tablo 2.1).




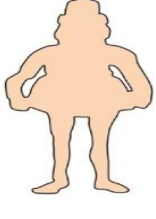
Bel çevresinin kadınlarda ≥ 88 cm, erkeklerde ≥ 102 cm ölçülmesi santral obezite varlığını göstermekte ve komorbid durumlar açısından risk varlığıyla ilişkilendirilmektedir (Schienkiewitz 2012).

VKİ, bireyler arası farklılık gösterebilmektedir. Etnik kökenler arasında aynı derecedeki VKİ'nin farklı düzeylerde vücut yağ oranına karşılık geldiği, komplikasyon riski ve ciddiyeti açısından farklılık gösterebildiği bilinmektedir. Abdominal yağlanma oranını değerlendirmek amacıyla bel çevresi, kalça çevresi, bel/kalça oranı ölçümleri daha güvenilir ölçümler olarak önerilmektedir (Seidell 2015). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda fazla kilolu ve obez bireylerin daha zayıf bireylere göre daha iyi prognoz gösterebildiği bildirilmiştir. Bu fenomen *obezite paradoksu* olarak adlandırılmaktadır. Obezite paradoksu sebebiyle bireylerin VKİ değerlerine göre yapılan sınıflamaya alternatif olarak çeşitli sınıflamalar önerilmektedir. Örneğin; metabolik olarak sağlıklı obez, normal kilolu metabolik obez, normal kilolu obez, sarkopenik obez şeklinde sınıflamalar mevcuttur (Tablo 2.2), (Vecchie 2018). Ancak obezite sınıflamasında yaygın olarak yetişkinlerde aynı yaş ve cinsiyet grubu için VKİ hala en faydalı antropometrik ölçümlerden biri olarak kabul görmektedir (Okorodudu 2010).

Tablo 2.1. VKİ'ye göre antropometrik değerlendirme ile obezite sınıflandırılması

Grup	VKİ
Zayıf	<18,5
Normal	18,5-24,9
Fazla Kilolu	25,0-29,9
Obez	$\geq 30,0$
Sınıf I Hafif obez	30,0-34,9
Sınıf II Orta derecede obez	35,0-39,9
Sınıf III Morbid obez Süper obez	40,0-49,9 $\geq 50,0$

Tablo 2.2. Farklı obezite sınıflamasına ait klinik özellikler (Vecchie 2018)

	 Metabolik Olarak Sağlıklı Obez	 Normal Kilolu Metabolik Obez	 Normal Kilolu Obez	 Sarkopenik Obez
VKİ	≥30,0	18,5-25,0	18,5-25,0	≥30,0
Visseral Yağ Dokusu/ Total Vücut Yağ Ağırlığı	Düşük visseral yağ dokusu	Yüksek visseral yağ dokusu	Total vücut yağ ağırlığı>%30	Yüksek visseral yağ dokusu
Yağsız Kitle	Yüksek	Normal	Normal	Düşük
Metabolik Anormallikler	Yok	Var	Yok	Var

Vücut yağ oranı; hava yer değiştirmeli pletismografi, biyoelektrik impedans analizi ve bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme ve dual enerji X-ışını absorpsiyometrisi gibi görüntüleme yöntemleriyle değerlendirilebilmektedir. Ancak bu yöntemler genellikle araştırma çalışmalarında kullanılmaktadır.

2.1.4. Obezite Etyopatogenezi

Obezite vücutta olması gerekenden fazla yağ depolanmasıyla ortaya çıkan bir enerji denge bozukluğu olarak tarif edilmekte ve bu bozukluk da enerji alımı ve/veya enerji tüketimi arasındaki denge bozukluğundan kaynaklanmaktadır.

Genetik, epigenetik, davranışsal, çevresel birçok faktör obeziteye zemin hazırlamaktadır.

Vücut ağırlığının düzenlenmesine etki eden faktörler üç kategoride incelenmektedir; bunlar *diyet, fiziksel aktivite ve metabolik faktörler*dir (Weinsier 1998). Günlük harcanan

enerji miktarı; *istirahat, besinlerin termik etkisi* (Besinlerin sindirimi, emilimi ve metabolize edilmesi sırasında harcanan enerji) ve *fiziksel aktiviteye* bağlı harcanan enerjinin toplamından oluşmaktadır. Toplamın %10'unu oluşturan besinlerin termik etkisi bileşeni günlük toplam enerji harcamasına en az katkıyı sağlarken, büyük ölçüde yağ dokusu dışındaki vücut kütesine bağlı olan istirahat enerji tüketimi toplamın yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır. En değişken orana sahip olan fiziksel aktiviteye bağlı enerji harcaması ise, toplamın yaklaşık %30'una tekabül etmektedir. Mevcut çalışmalar fiziksel aktiviteyle ilgili enerji tüketiminin obeziteye yatkınlığa en önemli katkısı olan komponent olduğunu göstermektedir (Weinsier 1998).

Enerji dengesi —→ Enerji alımı = Enerji tüketimi

Enerji tüketimi = Bazal enerji tüketimi (%60) + Besinlerin termik etkisi (%10) + Fiziksel aktivite (%30)

Kentleşme ve sanayileşmeyle beraber besin maddelerine erişim kolaylaşmış, yüksek kalorili besin maddelerinin tüketimi artmış, sedanter yaşam tarzı nedeniyle fiziksel aktivite azalmıştır. Bu nitelikleri barındıran ve obeziteye zemin hazırlayan çevre *obesojenik çevre* olarak tanımlanmaktadır (Gauthier 2013).

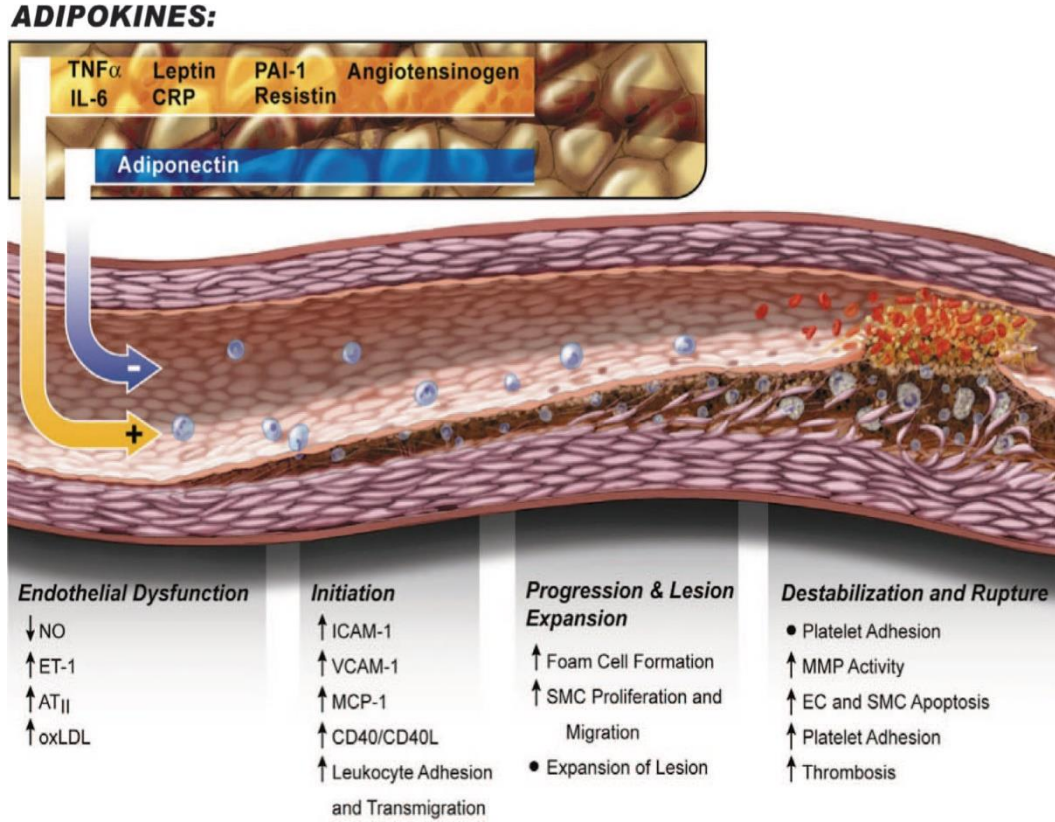
Artan obezite prevalansının primer belirleyicisi olarak büyük oranda azalmış fiziksel aktivite suçlanmakta diyet daha geri planda tutulmaktadır (Weinsier 1998).

2.1.4.1. Obezite ile İlişkili Moleküler Yolaklar

Önceleri pasif bir triaçilgliserol deposu olarak görülen adipöz doku, artık çeşitli enzimleri, sitokinleri ve enerji regülasyonunda rol alan yüzlerce proteini sentezleme yeteneğiyle sadece vücut ağırlığı homeostazisinde değil aynı zamanda inflamasyon, koagülasyon, fibrinoliz, ateroskleroz, insülin direnci, diyabet ve malignite durumlarını etkileyen aktif endokrin ve metabolik bir organ olarak değerlendirilmektedir. Adipogenez ilişkili moleküller arasında lipoprotein lipaz, kolesterol ester transfer proteini, anjiyotensinojen, interlökin-6 (IL-6), prostaglandinler, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), adiponektin, adipisin, C1q, monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve nitrik oksit (NO) gibi birçok molekül bulunmaktadır (Lau 2005; Xu 2003; Yan 2002).

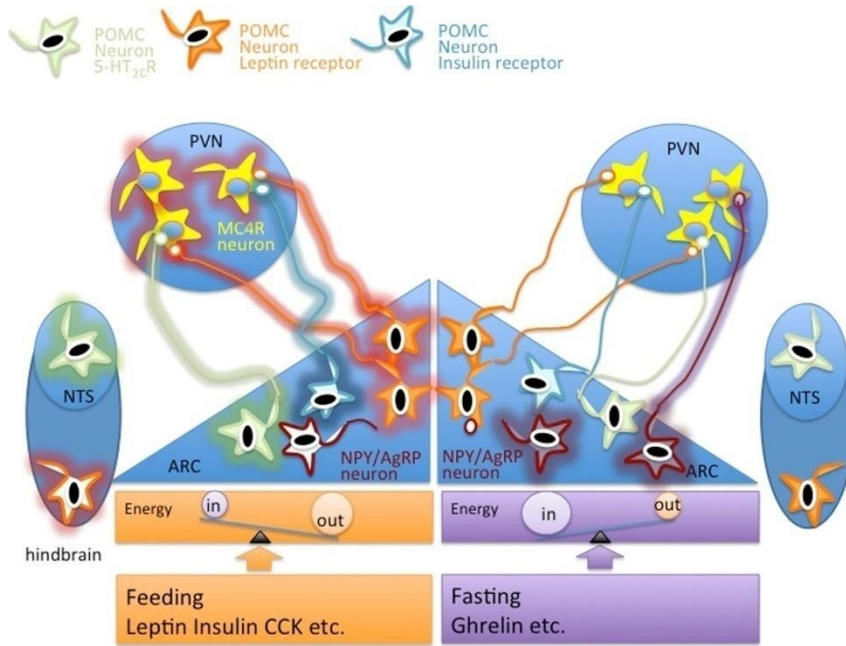
Yağ dokusu, kaynağı olduğu proinflamatuvar adipositokinler yoluyla insülin direnci, vasküler hasar ve ateroskleroza zemin hazırlayabilmektedir (Bouloumie 1999). Bu

proinflamatuar adipositokinler veya adipokinler, TNF- α , IL-6, C-reaktif protein (CRP), leptin, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), anjiyotensinojen, resistin gibi moleküllerdir (Şekil 2.1). Bunun yanında NO ve adiponektinin inflamasyon ve obezite ilişkili insülin direncine karşı protektif etki sağladığı gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Antiinflamatuvar ve proinflamatuvar adipokinler. Adipoz doku, TNF- α , IL-6, leptin, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)-1, anjiyotensinojen, resistin, C-reaktif protein (CRP) gibi endotelial disfonksiyona zemin hazırlayan zengin bir proinflamatuvar mediatör kaynağı olarak görev yapar. Obeziteyle düzeyleri azalan Nitrik oksit (NO) ve adiponektin gibi diğer adiposit ürünleri ise protektif etki sağlar. Adipositler tarafından salınan bu proinflamatuvar araçlar, endotel disfonksiyonu, plak başlangıcı, plak progresyonu ve plak rüptürü gibi çeşitli aterogenez aşamalarını teşvik eder. ET-1 (Endothelin-1), ATII (Angiotensin II), oxLDL (Oxidized low-density lipoprotein), MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1), SMC (Smooth muscle cells), MMP (Matrix metalloproteinases), EC (Endothelial cell, (Lau 2005).

Adipositlerden vücut yağ dokusu miktarı ile orantılı olacak şekilde sentezlenen *leptin*, hipotalamus düzeyinde iştah regülasyonunda fonksiyon gösterir. Bazomedial arkuat çekirdek anoreksijenik nöronlarını aktive ederken oroksijenik nöronları ise inhibe eder (Mechanick 2018). Uyarım sonucu proopiomelanokortin (POMC) parçalanır ve α -MSH (melanosit uyarıcı hormon) sentezlenir. α -MSH melanokortin 4 reseptörünü (MC4R) uyararak iştahı baskılar. Beslenme durumunda leptin ayrıca AgRP (Agouti-related protein) ve AgRP/NPY nöronları yolağı üzerinden salınan NPY (nöropeptid Y) salgılanmasını inhibe eder (Baldini 2019),(Şekil 2.2). Leptin tokluk hissi uyandırır, tiroid hormonu, steroid hormonlar gibi birçok hormonun salınımı, sempatik sinir sistemi aktivasyonu, kardiyak aktivite, kan basıncı üzerine etki eder ve termogenezi uyarır. Fare modellerinde ve insan çalışmalarında leptin, POMC, MSH, MC4R yolağında işlev gösteren molekül, reseptör ve ilişkili enzimlerin eksikliğine sebep olan genetik bozukluklarda obezitenin ortaya çıktığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Bell 2005; Jackson 1997; Loos 2008; Montague 1997).



Şekil 2.2. Melanokortin sistemdeki POMC nöronları ve iştah kontrolü (Baldini 2019).

İnsülin ve küçük bir peptid olan Peptit YY (*PYY*) 3-36, anoreksijenik etki gösteren periferik hormonlardandır (Ramesh 2016). İnsülin glukozun adipöz doku hücrelerine girişini artırır ve lipogenezi uyarır. İnsülünün proinsülden sentezlenmesinde rol alan karboksipeptidaz E enzim eksikliğinde obezite ortaya çıkmaktadır (Johnston 2006). İnsülinde olduğu gibi düzeyi vücut yağ doku miktarıyla orantılı olan *PYY*3-36, gastrointestinal epitelden postprandial salgılanarak etki gösterir (Schmidt 2014).

Kolesistokinin (CKK) ince bağırsak hücrelerinden salgılanır, enterik biyolojik etkilerinin yanında insülin sekresyonu, tokluk sinyalinin oluşması gibi fizyolojik olaylarda önemli rol oynar (Pathak 2018).

Açlık durumunda artan *ghrelin* hormonu NPY/AgRP nöronlarını aktive eder. *NPY* ve *AgRP* arkuat çekirdeğin oreksijenik nöronlarından salgılanır. NPY, α -MSH salınımını inhibe eder, AgRP ise α -MSH'nin etkisini reseptör düzeyinde baskılar (Baldini and Phelan 2019). Böylece oreksijenik sistemin aktif olduğu durumda anoreksijenik sistem baskılanmış olur. Açlıkta kan düzeyleri yükselen bu peptidlerin iştahı artırdıkları, obezlerde yüksek düzeylerde seyrettiği gösterilmiştir (Yu 2009; Oswal 2010).

Yağ dokunun obeziteye bağlı hipertrofiye olması sürecinde adiposit metabolizması değişmektedir. Obezlerin yağ dokusunda obez olmayanlarla karşılaştırıldığında artmış olduğu gösterilen plazminojen aktivatörü inhibitör tip 1, doku faktörü, faktör VII ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi birçok prokoagülan madde obezite ile ilişkili ateroskleroz ve kardiyovasküler riskin artmasına zemin hazırlamaktadır (Bullo 2007). Başlangıçta etyopatogeneizde hiperinsülinemi ve insülin direnci gösterilirken adipokinlerin obezite ile ilişkili metabolik komplikasyonlarda önemli bir role sahip olduğu, kronik olarak yükselmiş adipokin konsantrasyonlarının obezite ve metabolik sendrom ile ilişkili komplikasyonların gelişmesine zemin hazırladığı gösterilmiştir (Bullo 2007).

Bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin obezite sürecine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Turnbaugh 2006).

Çevresel ve genetik faktörlerin dışında terapötik olarak kullanılan kortikosteroidler, antidiyabetik ajanlar (insülin, sülfanilüre, tiazolidindionlar), steroid kontraseptifler, psikotropik ilaçlar, antipsikotikler, anti epileptikler, antidepresanlar gibi birçok medikal tedavi obeziteye neden olabilmektedir. Emosyonel stres, depresyon gibi psikojenik faktörler de obeziteye sebep olabilmektedir.

2.1.5. Obezitede Komorbid Durumlar

Obezlerde adipokin ve proinflamatuvar sitokin düzeyleri yükselir; monosit, makrofaj, doğal öldürücü hücre (natural killer) ve lenfosit dahil olmak üzere immün sistem hücreleri aktive olur ve düşük dereceli inflamasyon meydana gelir (Pirola 2017). Obezitede meydana gelen inflamatuvar süreç, insülin direncine ve tip 2 diyabetin ilerlemesine katkıda bulunan önemli bir faktördür (Pirola 2017).

Obeziteye aynı zamanda osteoartrit, kolelitiazis, obstrüktif uyku apnesi gibi birçok hastalık eşlik edebilmektedir.

Obezite özefagus adenokarsinomu, kolon kanseri, meme kanseri, endometrium kanseri, renal hücreli kanser, karaciğer kanseri, safra kesesi ve pankreas kanserleri, hematopoetik kanserler ve prostat kanseri için artmış riskle ilişkili bulunmuştur. Obeziteyle ortaya çıkan insülin direncinin kolon ve endometriyum kanser riskini ve muhtemelen diğer karsinojenik tümörlerin (pankreas ve böbrek kanseri) riskini arttırdığını gösteren deneysel çalışmalar mevcuttur. Artan östrojen seviyelerinin meme ve endometriyum kanseri riskini artırdığı üzerinde durulmaktadır. Premenopozal kadınlarda obezite sürecinde oluşan insülin direncinin over androjen fazlalığı (polikistik over sendromu) ve kronik progesteron eksikliği sendromuna neden olabildiği/şiddetlendirebildiği ve bu tür sendromların endometrial kanser riskini arttırdığına dair kanıtlar mevcuttur (Calle 2004).

2.1.6. Obezitede Tedavi Yaklaşımları

Obezite tedavisinde diyet, egzersiz, yaşam tarzı değişiklikleri, medikal tedavi ve bariatrik cerrahi gibi birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Alerjik, otoimmün hastalıklar immün yetmezlik sendromları gibi hastalıkların tedavisinde uygulanabilen akupunktur tedavisi de obezite tedavisinde kullanılabilir.

İlaç tedavisi, yaşam tarzı değişikliklerine ek olarak tedavide kullanılabilir. Obezite tedavisinde farmasötik tedavi seçenekleri arasında semptomimetikler, gastrointestinal lipaz inhibitörleri, serotonin agonistleri, bupropion, amilin, metformin, zonisamid gibi ilaçlar sayılabilir (Bray 2014).

Cerrahi tedavi seçeneği morbid obez hastalar için kilo kaybı amacıyla tercih seçenekleri arasında ideal seçeneklerden biri olarak kabul edilmektedir.

Toplumsal talebi günümüzde gittikçe artan geleneksel tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemleri obezite tedavisi için etkili ve güvenilir tedaviler arasında yerini almıştır. Bu yöntemlerden akupunktur terapisi, obezite tedavi seçenekleri arasında tercih edilen popüler yöntemlerden biri haline gelmiştir.

2.2.Akupunktur

Akupunktur acus (iğne) ve punctura (delmek) kelimelerinin birleşmesiyle oluşturulmuş Latince kökenli bir kelimedir. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp tedavi yöntemlerinden biri olan akupunktur, vücut yüzeyinde belirlenmiş noktaların iğnelenmesi işlemidir. Akupunktur noktalarının belirlenmesi amacıyla meridyen kanallarından yararlanılmaktadır (Zhao 2017). Bu noktalar basınç, iğne, elektrik akımı, ışık veya ses dalgaları kullanılarak uyarılabilmektedir.

2.2.1.Akupunkturun Tarihçesi

MÖ 3000 yıllarına ait Mısır yazılarında günümüzde kullanılan akupunktur meridyenlerine oldukça benzer meridyenlerden bahsedilmektedir. Arkeolojik buluntular arasında, 3000 yıldan fazladır Çin'de uygulandığı bilinen akupunktur uygulamasında kullanıldığı düşünülen iğnelere rastlanmıştır (Zhuang 2013; Ulett 1998). İbn-i Sina'nın yüzlerce yıl öncesinde akupunktur meridyenlerine benzer enerji kanallarından bahsettiği bilinmektedir.

Osmanlı döneminde hekimler kuru iğne adı altında akupunktur terapisi uygulamıştır. Daha sonrasında ülkemizde akupunktur terapisini geleneksel olarak sürdüren ve soydan soya nakledilmesini sağlayan aileler olsa da yasal olarak uygulanabilen bir tedavi yöntemi olarak kabul görmesi 1990lı yıllarda çıkarılan yönetmeliklerle mümkün olmuştur. Günümüzde birçok sağlık kuruluşunun bünyesinde geleneksel ve tamamlayıcı tıp merkezlerinde uygulanabilen akupunktur popüler tedavi yöntemlerinden biri haline gelmiştir.

2.2.2.Akupunkturda Kavramlar

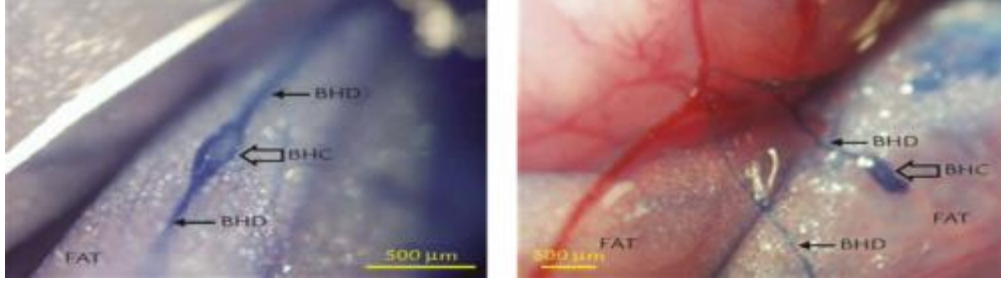
Akupunktur mantığının temellerine göre canlı bir denge içerisinde canlılığını sürdürme mücadelesi verir. Denge, Yin ve Yang kavramlarının birbirine göre ölçülü olması ile mümkündür. Esasında bu terimler uzak doğuda ikiliği (duality), zıtlığı ve dengeyi bir arada barındıran bir anlam ihtiva eder. Yin ve Yang birbirine zıttır ve kâinata her bir şey zıddı ile vardır. Yin ve Yang'ın birleşmesi ile teklikten bahsedilir. Aynı zamanda her Yin içerisinde bir Yang ve her Yang içerisinde bir Ying barındırır (Şekil 2.3). Düzeyleri sabit olmadığı gibi birinin artması diğerini azaltır, tersi de mümkündür. Aralarındaki etkileşim Qi (Ki veya Çi) enerjisini üretir. Akupunktur terapisi esnasında iğnelerin, bireyin sağlıklı olabilmesi için dengeli olması gerekli olan Qi enerji akımında değişikliğe sebep olarak etki gösterdiği hipotezi kabul görmektedir (Han 2001). Qi enerjisinin denge durumunun modern tıpta kullanılan homeostazis terimine karşılık geldiği şeklinde yorum yapmak mümkündür.



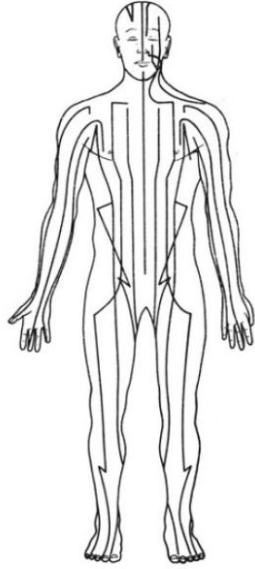
Şekil 2.3.: Yin ve Yang kavramının sembolizasyonu

2.2.3.Akupunkturun Bilimsel Temelleri, Obezite ve Mikrobiyota ile İlişkisi

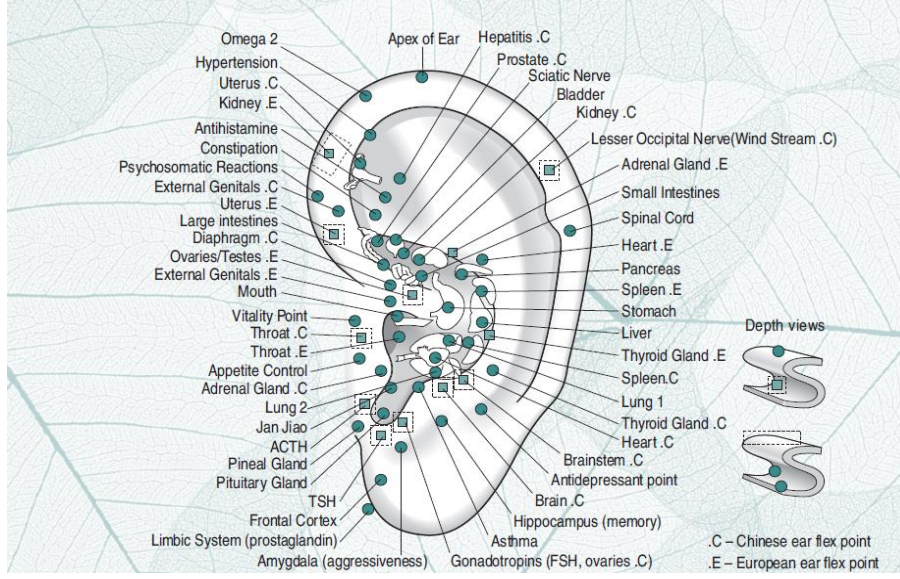
Sağlıklı bireylerde kesintiye uğramadan aktığı düşünülen Qi enerjisi, vücutta nörovasküler sistemlere benzer şekilde mikro kanallar ve nodların oluşturduğu meridyenler/kanallar aracılığıyla dolaşmaktadır (Şekil 2.4), (Soh 2009; Vodyanoy 2015). Vücudu bir ağ gibi saran ve *Primovasküler sistem* olarak tanımlanan bu sistem, 1960'larda Bong Han Kim tarafından kendine özgü bir boya ile vasküler kan ve lenf sistemlerinden tamamen ayrılarak görüntülenebilmiştir (Soh 2009). Primovasküler sistemde dolaşan sıvı bileşenleri arasında hyalüronik asit, adrenalin ve noradrenalin gibi nörotransmitterler, aminoasitler ve serbest nükleotitler bulunduğu gösterilmiştir (Kim 1963).



Şekil 2.4. Sıçan organları üzerinde tripan mavisi kullanılarak görüntülenebilen primovasküler sistem kanal ve nodları. BHD (Bonghan ducts), BHC (Bonghan corpuscles) (Soh 2009).



Şekil 2.5: Vücutta akupunktur kanallarının önden görünüşü (Mole 2014).



Şekil 2.6: Kulakta akupunktur noktaları. Mikrosistem vazifesi gören kulak üzerinde herbir organın temsil edildiği bir nokta mevcuttur (S. Dowie 2009).

Vücut yüzeyi üzerinde belirlenmiş çizgisel meridyenler üzerine uygulanan akupunkturun bozulan enerji akışına etki ettiği hipotezi üzerinde durulmaktadır (Cheng 2014).

Çeşitli hastalıklarda uygulanan akupunkturun ağrıları etkin bir şekilde tedavi edebilmesi gate kontrol (kapı kontrol), nosiseptif afferent, endorfin teorisi gibi farklı teorilerle açıklanmaktadır (Ondrejovicova 2016; C 2001). Kapı kontrol teorisine göre ağrı impulslarının geçişi fonksiyonel olarak kapının kapatılması ile engellendiğinde ağrı oluşumu engellenir. Nosiseptif teoriye göre akupunktur ile mekanoreseptör aktivitesi artırılarak nosiseptif aktivitenin santral sinir sistemine girişi üzerinde inhibitör etki göstermektedir. Endorfin teorisi ise akupunktur terapisiyle artan endorfinin retiküler sistemi aktive ederek nosiseptif inhibitör etki göstermesi temeline dayanmaktadır. Aynı zamanda endorfin düzeyini artırarak bazı psikiyatrik bozuklukların tedavisine yardımcı olabilmektedir.

Akupunktur otonom sinir sistemi aracılığıyla homeostatik etki göstermekte, immun sistem hücreleri ve immun mediyatör düzeyinde değişikliğe sebep olarak immün regülasyonda rol oynayabilmektedir (Gao 2018).

Akupunktur terapisinin obezite ilişkili peptid hormonlar (leptin ve ghrelin), insülin direnci, glukoz ve lipit metabolizması, serum immüloglobulin düzeyleri ve iştah üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Akupunktur farklı mekanizmalarla kilo kaybına sebep

olabilmektedir. Akupunktur noktaları aracılığıyla periferik sinirlerin uyarılarak merkezi sinir sistemini etkilediği düşünülmektedir. Sinyaller uyarılmış sinir ile taşınarak tokluk merkezine etki etmekte ve bu durum duygudurum değişiklikleri ile sonuçlanmaktadır (Lacey 2003). Akupunktur, nörotransmitterlerin salınım mekanizmasını etkileyerek duygudurumu iyileştirebilmekte, bağırsak motilitesini değiştirebilmekte, serotonin ve endorfin salınımlarını etkileyerek hipotalamusun ventromedial çekirdeği üzerinden iştahı baskılayabilmektedir.

Akupunktur enkefalin, endomorfın-1, beta endorfin, serotonin ve dopamin düzeylerini artırabilmekte, immun sistem üzerinde modulatuar, metabolizma üzerinde lipolitik etkiler gösterebilmektedir, bu etkinin akupunktur terapisi uygulanan bireylerde izlendiği ancak yalnızca egzersiz ve diyet tedavisi alanlarda görülmediği raporlanmıştır (Wenhe 1981; Cabioğlu 2006). Yapılan çalışmalarda Zusanli (ST-36) ve Neiting (ST-44) noktalarına elektroakupunktur uygulamasının obez sıçanlarda ventralmedial hipotalamusun elektriksel aktivitesinde artışa yol açtığı ve bu durumun tokluk merkezini aktive ettiği gösterilmiştir (Zhao 2000).

Akupunkturun kilo kaybettirme konusunda başarısı üzerine yapılan çalışmalarda akupunkturun tek başına yaşam tarzı değişikliklerinden, ilaç tedavilerinden, bitkisel takviyelerle yapılan tedavilerden ve sham (plasebo) akupunkturdan daha üstün olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Sham akupunktur, akupunktur iğneleri gibi nitelikleri olmayan iğnelerle akupunktur alanları dışında farklı vücut bölgelerine yapılan yüzeysel iğneleme uygulamalarıdır (Kim 2018).

Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yaşam tarzı modifikasyonu ile beraber akupunktur tedavisinin obez hastalarda kilo kaybı konusunda sadece yaşam tarzı modifikasyonundan daha etkili olduğu bildirilmiştir (Fang 2017). Akupunktur tedavisinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antropometrik parametrelerin (vücut ağırlığı, VKİ, bel çevresi, kalça çevresi, vücut yağ oranı vb.) sağlıklı yönde değişiminde daha etkili olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Abdi 2012). Hsu ve ark. (2005) tarafından obez kadınlar üzerinde yapılan randomize kontrollü çalışmada, antropometrik parametrelerin, egzersizle karşılaştırıldığında elektroakupunktur tedavisiyle anlamlı şekilde değiştiği gösterilmiştir. Benzer sonuçlar farklı birçok çalışmada da doğrulanmıştır. Bununla birlikte, akupunkturun obezite tedavisinde anlamlı bir etkisi olmadığını bildiren bazı çalışmalar da mevcuttur (Mazzoni 1999).

Akupunktur terapisi; uygulama bölgesine, stimülasyon şekline göre sınıflandırılabilir.

Obezite tedavisinde klasik akupunktur, elektroakupunktur, lazer akupunktur gibi birçok uygulama tekniği tercih edilebilmektedir.

Qi'yi düzenlemesi, Yin ve Yang'ı dengelemesi ile akupunktur; organizma üzerinde sistemlerin homeostazisini sağlayan olumlu bir rol sergilemektedir. Akupunkturun endokrin, metabolik, inflamatuvar, immunolojik ve nöromodulatuvar etkilerine ilişkin yapılan birçok çalışma mevcutken bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisinin araştırıldığı az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Akupunktur terapisinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerine ilişkin yapılan çalışmalarda; akupunkturun, mikrobiyota üyelerinin çeşitliliği ve bolluğu üzerine etki ettiği gösterilmiştir. Deneysel hayvan modelleriyle farklı hastalık gruplarında yapılan çalışmalarda akupunktur uygulamaları ile tedavi edilen deneklerin mikrobiyota kompozisyonunda değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Wei 2019). Akupunkturun mikrobiyota ve bağırsak-beyin eksenini üzerinde etki göstererek bağırsak motilitesini düzenlediğine, proinflamatuvar sitokin seviyelerini düşürerek bağırsak bariyer fonksiyonunu iyileştirdiğine dair bulgular mevcuttur (Wang 2019).

Randomize kontrollü çalışmalarda akupunkturun HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance) ile değerlendirilebilen insülin direnci dahil olmak üzere metabolik parametreler üzerine faydalı etkileri olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (Li 2014; Garcia 2014).

Obez sıçan modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada akupunktur terapisi sonrası antropometrik ve metabolik parametrelerin sağlıklı yönde değişmesiyle beraber bağırsak mikrobiyota kompozisyonunda da değişimler olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada *Firmicutes/Bacteroidetes* oranında düşme olduğu, *Prevotella_9* göreceli bolluğunda artış olduğu bildirilmiştir (Wang 2019). Obez fare modellerinde yapılan bir başka çalışmada akupunktur terapisiyle tedavi edilen deneklerde bağırsak mikrobiyal çeşitliliğinde farklılıklar gözlemlendiği ve kompozisyonun sağlıklı yönde değiştiği gösterilmiştir (Si 2018). Ancak insan çalışmalarında obez bireylerin tedavisinde uygulanan akupunktur terapisinin mikrobiyotaya etkisi açık değildir.

2.3. Mikrobiyota

2.3.1. Mikrobiyota, Bağırsak Mikrobiyota İçeriği

Mikroorganizmalar genellikle topluluk halinde yaşarlar. Bitkiler, insanlar gibi kompleks organizmalarla yaşayabilen mikroorganizma toplulukları mikrobiyom veya mikrobiyota olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyom terimi mikroorganizma topluluğu ve bunların genomik içerikleri için kullanılırken mikrobiyota terimi, konakçıdaki mikrobiyal topluluğu ifade eder. Ancak mikrobiyom ve mikrobiyota terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılmaktadır.

İnsan mikrobiyotası, gastrointestinal sistem, ürogenital sistem ve cilt dahil olmak üzere insan vücudunda ve üzerinde yaşayan mikroorganizmaların toplamını ifade eder. İnsanlarda simbiyozis en çok bağırsakta, özellikle de kolonda görülür. İnsan bağırsağı, konakçı ile etkileşime giren trilyonlarca mikroorganizma içeren bir ekosistemdir. Bağırsak mikroorganizmalarının çoğunluğunu bakteriler oluşturmakla beraber mantar, protozoa ve virüsler de bulunmaktadır (Lozupone 2012; Reyes 2010).

Mikrobiyota kompozisyonu ve etkileşimi farklı patobiyolojik süreçlerin gelişiminde rol oynamaktadır. Mikrobiyota hakkında yapılan araştırmalar; tür zenginliği, göreceli bolluğu ve çeşitliliğinin sağlıklı bir mikrobiyomun yararlı bir göstergesi olabileceğini göstermiştir. Zenginlik farklı bakteri türlerinin miktarını gösterirken, bolluk veya göreceli bolluk, bir bireyin veya bir grubun bağırsak mikrobiyotasında bulunan spesifik bakteri türlerinin miktarı ile ilişkilidir. Çeşitlilik ise bir habitat içerisindeki farklı türdeki mikroorganizmaların sayıları ve bolluk dağılımlarının kombinasyonu olarak tanımlanabilir (Human Microbiome Project 2012; Johnson 2016).

Yeni “omik” teknolojiler, özellikle de metagenomik ve metabolomik yöntemler, sağlıklı ve patolojik bağırsak mikrobiyota fonksiyonları hakkında önemli bilgilere ulaşmayı sağlamıştır.

Yapılan çalışmalarda insan bağırsağında binlerce türden fazla mikroorganizmanın lokalize olduğu gösterilmiş ve sağlıklı bireylerde bakteriler *Firmicutes* (*Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Anaerostipes*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* vb. gram pozitif cinsleri), *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* vb. gram negatif cinsleri), *Proteobacteria* (*Enterobacteriaceae* Gibi gram negatif cinsleri), *Actinobacteria* (gram pozitif *Bifidobacterium* cinsi), *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia* (*Akkermansia* vb. cinsleri kapsamakta) şeklinde gruplandırılmıştır. Bunun yanında bağırsak

mikrobiyotasını baskın olarak *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* türlerinin oluşturduğu bilinmektedir. Bu bakteri türlerinin bazıları, insanların çoğunda bulunur ve çekirdek bağırsak mikrobiyomunu oluşturur. Bununla birlikte, paylaşılan türlerin göreceli bolluğu, her birinin kendine özgü bağırsak mikrobiyomu olan bireyler arasında büyük ölçüde değişebilmektedir.

2.3.2.Bağırsak Mikrobiyotasına Etki Eden Faktörler

Bağırsak mikrobiyota kompozisyonu kişiye özgüdür ve genetik, doğum yolu, bebeklikte beslenme şekli, sağlık durumu, antibiyotik kullanımı gibi faktörlerden etkilenir. Mikrobiyotadaki değişiklikler erken bebeklik döneminde ortaya çıkar, bu noktadan sonra nispeten kararlı hale gelir (Kumbhare 2019).

2.3.2.1.Doğum Yolu

Yakın zamana kadar, fetomaternal ünitenin steril olduğu ve yenidoğanların yalnızca doğumda vajinal kanaldaki mikrobiyal toplulukla temas yoluyla kolonileştiği düşüncesi hakimken günümüzde fetomaternal ünitenin kolonileşmesinin doğumdan daha erken başladığı ve amniyotik sıvı, göbek kordon kanı, fetal membranlar, mekonyum ile plasentada mikroorganizmaların tanımlandığı gösterilmiştir (Neu 2016). Vajinal yolla doğan bebeklerin mikrobiyal kolonizasyonu sezaryen ile doğan bebeklerden farklılık göstermektedir. Sezaryen ile doğan bebeklerde mikrobiyotada çeşitliliğin azaldığı, laktobasil oranında azalma olduğu, bu bebeklerin mikrobiyomlarında daha patojenik bakterilere, disbiyosise doğru bir eğilim olduğu bildirilmiştir (Neu 2017).

2.3.2.2.Yaş

Yaş gruplarına göre belirgin mikrobiyota farklılıkları olduğu gösterilmiştir. Gastrointestinal sistemdeki yaşa bağlı fizyolojik değişiklikler, beslenme ve yaşam tarzı, konakçı bağışıklık sisteminin işlevselliğindeki modifikasyonlar kaçınılmaz olarak bağırsak mikrobiyotasını etkilemektedir.

Yaşamın ilk yıllarında mikrobiyota nonstabildir, ilk birkaç yıl boyunca dinamik değişikliklere uğrar, konakçı ile birlikte gelişerek 3-4 yaşlarında daha stabil bir mikrobiyotaya dönüşür (Kumbhare 2019).

Emzirmenin sonlandırılmasıyla beraber 2 yaşından sonra *Actinobacteria*'nın göreceli bolluğu azalır ve yaşla birlikte bu azalma devam eder. *Firmicutesler*, emzirmenin sonlandırılmasından hemen sonraki evrede en baskın olan filum olarak gözükür. Yaşla birlikte çeşitlilikte artış görülmektedir. Her ne kadar endojen ve eksojen faktörler kompozisyonu etkileyebilse de, bağırsak mikrobiyotası genellikle ergenlik ve erişkinlik döneminden 70-75 yaşlarına kadar kararlıdır (Debedat 2019). Erişkin dönemde mikrobiyota kompozisyonu dört baskın filum (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*) içermektedir (Ley 2006; Tap 2009). *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* mikrobiyotanın yaklaşık olarak %95'ini oluşturmaktadır (Biagi 2010). Yaşın ilerlemesiyle 70 yaşın üzerinde *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* göreceli bolluğunda artış gözlenmektedir. *Bacteroidetes* 'teki göreceli bolluğun 70 yaş sonrasında kademeli bir artış gösterdiği de bildirilmiştir (Odamaki 2016). *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* 'in yaşlı bireylerin bağırsak mikrobiyotasına hâkim olduğu bununla birlikte, genç erişkinlere kıyasla, *Firmicutes* alt gruplarının oranlarında spesifik değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. 100 yaşın üzerindeki kişilerde bağırsak mikrobiyotasının yakın zamanda “patobiyotikler” olarak tanımlanmış bakterilerin çoğunu içeren bir grup olan *Proteobacteria* 'dan zengin olduğu gösterilmiştir (Biagi 2010).

2.3.2.3.Cinsiyet

Bağırsak mikrobiyomundaki cinsiyetten kaynaklanan farklılıklara bakıldığında kadınların erkeklere kıyasla daha yüksek *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) oranına sahip olduğu, daha fazla sayıda *Proteobacteria*, *Veillonella* ve *Blautia* barındırdığı bildirilmiştir (Razavi 2019)

Cinsiyete göre mikrobiyota yapısında gözlenen farklılıkların diyet farklılıklarından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Erkeklerin kadınlara göre meyve ve sebzeler dahil lifli gıdalar ve balık tüketiminin daha az olduğu; tuz, yağ, kırmızı et, alkol tüketiminin daha fazla olduğu ve dolayısıyla cinsiyetler arasında mikrobiyota farklılıklarının alt yapısında diyet değişkeninin göz önünde bulundurulması gerektiği öne sürülmüştür (Razavi 2019). Erişkin Japon bireylerle yapılan bir çalışmada cinsiyetin, yoğurt tüketimi ile bağırsak mikrobiyom kompozisyonu arasındaki ilişkiyi değiştirebildiği, düzenli yoğurt tüketiminin kadınlarda daha yüksek oranda *Lactobacillus casei*, erkeklerde ise daha düşük oranda *Lactobacillus sakei*, *Enterobacteriaceae* ve *Staphylococcus* ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Suzuki 2017).

2.3.2.4.Gebelik

İlk trimester bağırsak mikrobiyotası gebelerde birbirine benzer ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılabilir profildeyken gebelik ilerledikçe üçüncü trimesterde çeşitlilikte farklılıklar izlenmektedir. Üçüncü trimesterde bireyler arası çeşitlilik artarken, birey içi çeşitliliğin azaldığı, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* türlerinde zenginliğin arttığı gösterilmiştir. Üçüncü trimestere yaklaştıkça disbiyozisle ilişkilendirilebilen *Proteobacteria* bolluğunda bir artış olduğu raporlanmıştır (Koren 2012).

2.3.2.5.Genetik

Erişkin monozigotik ikizlerin bağırsak mikrobiyotasındaki benzerliklerin, dizigotik ikizlerden daha fazla olmadığı ve dolayısıyla kalıtımın mikrobiyom üzerindeki etkisinin düşük olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmalar pediatrik ve adolesan yaş grubundaki bireyler üzerinde de doğrulanmıştır (Yatsunenko 2012).

2.3.2.6.Diyet

Diyet programları, bağırsak mikrobiyota kompozisyonu üzerinde belirleyici faktörlerden biri olarak tanımlanmıştır (Santos 2019). Üç bağırsak mikrobiyota profili varyantı olarak bilinen enterotipler; *Bacteroides* (yüksek protein ve hayvansal yağ diyetleri ile ilişkili), *Prevotella* (karbonhidrat açısından zengin diyetler ile ilişkili) veya *Ruminococcus*'un baskınlığına göre ayrılmaktadır (Seganfredo 2017; Hehemann 2010).

Vejeteryan, yüksek lif, düşük yağlı diyetle beslenen çocukların hayvansal protein, düşük lif ve yüksek oranda yağ içeren diyetle beslenen çocuklar ile karşılaştırıldığı çalışmalarda; vejeteryan, yüksek lif, düşük yağlı diyetle beslenenlerin mikrobiyota profilinde *Bacteroidetes* filumu, *Prevotella* ve *Xylanibacter* cinsinde artış gözlenirken; *Firmicutes* bakteri filumunda bir azalma olduğu gösterilmiştir (Razavi 2019; De Filippo 2010).

2.3.2.7.Prebiyotikler

Bağırsakta faydalı mikroorganizma gruplarından birini veya daha fazlasını yararlı bir şekilde uyaran ve etkinliğini artırabilen, böylece konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiye

sahip olan, emilmeyen bir gıda bileşeni olarak tanımlanan kısa zincirli karbonhidrat yapısındaki prebiyotikler bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etkiler gösterebilmektedir (Sarao 2017).

2.3.2.8.Probiyotikler

Yaygın olarak Bifidobacteria, Lactobacilli içeren, konakçuyu, bağırsak sistemindeki etkileriyle faydalı bir şekilde etkileyen, canlı bir mikrobiyal besin takviyesi olarak tanımlanan probiyotikler mikrobiyota dengesini olumlu yönde etkilemektedir (Lynne 2000). Probiyotikler farmasötik şekillerde takviye olarak alınabildiği gibi doğal olarak ev yapımı yoğurt, kefir, turşu vb besinlerde de bulunabilmektedir.

2.3.2.9.Antibiyotikler

Antibiyotiklerin mikroorganizma miktarını ve çeşitliliğini azalttığı, patojenlere karşı savunmada mikrobiyota açısından kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Mikrobiyotanın değişme derecesi, yalnızca kullanılan antibiyotik veya antibiyotiklerin kokteyline bağlı olmayıp uygulama şekline, süreye, dozaja ve direnç seviyesine bağlı olarak oldukça farklılık gösterebilmektedir (Ferrer 2017).

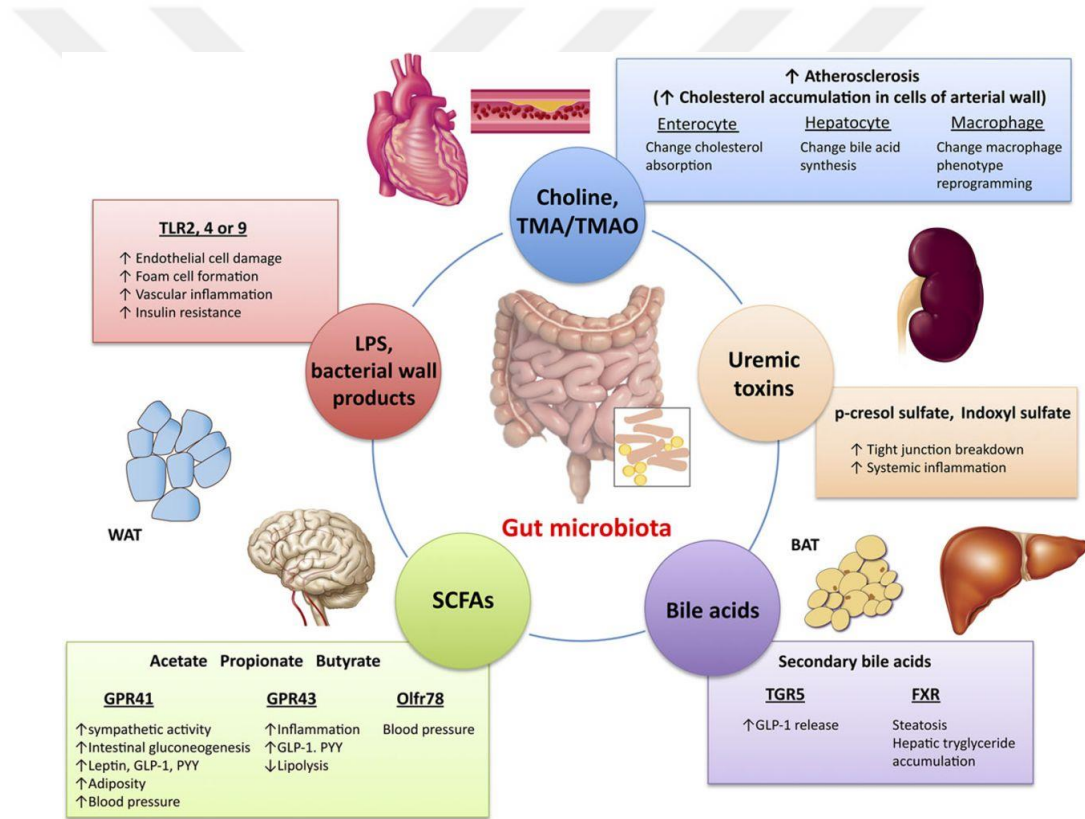
2.3.3.Bağırsak Mikrobiyotasının Fizyolojik İşlevleri ve Etki Mekanizması

Mikrobiyomun kendi genomumuzdan yaklaşık 150 kat daha fazla gen kodladığı, karşılıklı yarar sağlayacak şekilde genetik ve metabolik nitelikler sunarak biyolojimizi tamamladığı bilinmektedir (Backhed 2005).

Bağırsak lamina propriyasından intestinal epitel tabakası ile ayrılan mikrobiyota sindirim ve beslenme konusundaki fizyolojik rollerinin yanında detoksifikasyon, immun sistem modülasyonu, enteropatojenlere karşı koruma, iştahın düzenlenmesi, diyetle alınan besinlerin enerji regülasyonu, glukoz homeostazi, adipöz doku işlevleri gibi birçok metabolik fonksiyonla ilişkilidir.

Bağırsak mikrobiyotası, konakçı enzimleri tarafından parçalanmayan substratları sakkarolitik veya proteolitik olarak sınıflandırılmış iki ana katabolik yolla sindirimde rol alır (Bird 2000; Topping 2001). Sakkarolitik yolda, şekerler parçalanır ve kısa zincirli yağ asidi

(SCFA; Short chain fatty acids) üretilir. Böylece bakteriyel SCFA'lar vücut için ek bir enerji kaynağı sağlar (Schwiertz 2010). Bütirat bağırsak epiteli enerjisinin önemli bir kısmını karşılarken asetat periferik dokularda kolesterol sentezi için substrat olarak kullanılır, propiyonat ise karaciğerde glukoneogenez, liponeogenez ve protein sentezinde öncü olarak kullanılabilir (Scheppach 1994; Vernay 1987; Wolever 1989). İkinci katabolik yol olan proteolitik yolda, protein fermentasyonu ile, SCFA oluşumu indüklenir; amonyak, tiyol, fenol, indol, aminler gibi kometabolitler oluşur. Bu metabolitlerin bazıları potansiyel olarak toksik ve renal yoldan atıldıkları için birikimleri durumunda mikrobiyal üremik toksin olarak da adlandırılmaktadırlar (Tang 2017).



Şekil 2.7. Bağırsak mikrobiyotası ve bağlantılı moleküler yollar. BAT (Brown adipose tissue), FXR (Farnesoid X receptor), GLP (Glukagon-like peptid-1), GPR41 (G-protein-coupled receptor 41), GPR43 (G-protein-coupled receptor 43), LPS (Lipopolysaccharide), PYY (Peptide YY), TLR (Toll-like receptor), TMA (Trimethylamine), TMAO (Trimethylamine-N-oxide), (Tang 2017).

Bakteriyel lipopolisakarit, peptidoglikan gibi sinyal molekülleri konakçı mukozal yüzey hücreleri ile etkileşime girerek kalıp tanıma reseptörleri (PRR; Pattern Recognition Receptors) üzerinden konakçılarla sayısız sinyal işlemlerini tetikleyebilir (Cani 2009). Aynı zamanda mukozal bariyerin işlevsel ve yapısal bütünlüğüne göre değişen düzeylerde dolaşıma yayılan biyoaktif metabolitler yoluyla mikrobiyota, trimetilamin (TMA)/trimetilamin N-oksit (TMAO) yolu, SCFA yolu, primer ve sekonder safra asidi yolu da dahil olmak üzere birçok yoldan konakçı ile etkileşime girebilmektedir (Tang 2017). Mikrobiyotanın ghrelin, leptin, glukagon like peptid-1 (GLP-1) ve PYY dahil olmak üzere diğer endokrin hormonlarla etkileşime girebildiği, parasempatik sistemi uyarabildiği, glukoz homeostazisi gibi çeşitli metabolik süreçleri etkilediği bildirilmiştir (Ryan 2014; Perry 2016; Tang 2017), (Şekil 2.7).

İnflamasyon ve enteroendokrin regülasyon dahil olmak üzere önemli yollarda rol alabilen GPR41 (G-protein-coupled receptor 41) ve GPR43 (G-protein-coupled receptor 43) gibi GPR'leri doğrudan aktive edebilen SCFA'lar, bağırsakta GPR41'e bağlanarak enteroendokrin hormon olan PYY'nin bağırsak epitelyal hücreleri ekspresyonunu indükleyerek enerji kazanımında artışa neden olur. Bunun yanında SCFA'ların fare yağ dokusunda insülin aracılı lipogenezi baskılayabildiği, GPR43 yoluyla karaciğer ve kasta enerji harcamalarını artırabildiği gösterilmiştir. SCFA'lar, GPR41 ve GPR43 yoluyla bağırsak L hücrelerinden GLP-1 salgılanmasını tetiklemekte ve pankreas fonksiyonu, insülin salınımı ve iştah merkezi fonksiyonlarını etkilemektedir (Fava 2014; Maslowski 2009).

İnsan mikrobiyomunda en yaygın iki bakteri filumundan biri olan *Bacteroidetes* polisakkaritlerin sindirimi ve enerji dengesininin düzenlemesi gibi işlevsel yetenekleri dolayısıyla büyük ölçüde yararlı olarak nitelendirilmektedir *Firmicutes*'in ise başlıca kan basıncı kontrolü, glukoz homeostazi, SCFA üretiminde rol aldığı bilinmektedir (den Besten 2013; Razavi 2019).

Lipit ve lipitte çözünen moleküllerin emilimini kolaylaştıran safra asitleri mikrobiyota ile ilişkili bir başka metabolit grubudur. Sekonder safra asitleri bağırsakta mikrobiyota tarafından metabolize edilir. Safra asitleri, TGR5 (G-protein-coupled BA receptor 1) ve farnesoid X reseptörü (FXR) gibi nükleer reseptörler aracılığıyla enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadır (Ramirez 2017). Örneğin; mikrobiyota T β MCA (Tauro- β -muricholic acid) düzeyine etki eder ve FXR inhibisyonunu

azaltarak, karaciğerde kolesterol 7- alfa hidroksilaz ekspresyonunu azaltan fibroblast growth factor üretimini artırır. Bu yolaklar sebebiyle TβMCA düzeyleri obesite ve insülin direnciyle ilişkilendirilmiştir (Kurdi 2006; Tang 2017).

F/B oranının VKİ'den önemli düzeyde etkilendiği ve bu nedenle adipöz doku metabolizmasında bir rol oynadığına dair kanıtlar mevcuttur (Razavi 2019).

Bağırsakta tipik mikrobiyal ürünlerden biri olan ve Gram-negatif bakteriler tarafından üretilen lipopolisakkaritlerin (LPS) immünitinin güçlendirilmesinde stimülatör etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada, plazma bakteriyel DNA düzeylerinin serum C-reaktif protein ve LPS seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiği, sağkalım oranları ile ise negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir(Kwan 2013). Bu sonuçlar hem plazma LPS hem de bakteriyel DNA düzeylerinin sistemik inflamatuvar ve prognostik belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Son zamanlarda endokannabinoid (eCB) sistem-mikrobiyota ilişkisi üzerinde durulmaktadır. eCB sistemi biyoaktif lipitler, endokannabinoid reseptörler ve ilgili enzimlerden oluşan bir sistemdir. Bu sistem enerji regülasyonu, adipöz doku metabolizması, sindirim sistemi motilitesi düzenlenmesinde rol almakta ve iştah artırıcı etki gösterebilmektedir. Mikrobiyota eCB sistemi üzerinden bağırsak bariyer fonksiyonu ve metabolik endotoksemiye katkıda bulunabilmektedir (Muccioli 2010). Yapılan çalışmalarda yüksek yağ içerikli diyetle beslenenlerde CB1 (Kannabinoid sistem reseptör 1) reseptörlerinde artış olduğu, kilo kaybıyla reseptör sayısında düşüş olduğu, konvansiyonel farelerin bağırsaklarında germ-free farelere göre CB1 reseptör sayısında artış olduğu gösterilmiştir (Basaran 2014).

Kısacası bağırsak mikrobiyomu, konakçının metabolizmasını, bağışıklığını ve enfeksiyona tepkisini; genetik ve immun faktörleri diyet gibi çevresel faktörlerle bütünleştirerek belirleyebilen bir sinyal merkezi şeklinde görev yapmaktadır. Her ne kadar belirgin bir yapıya sahip olmasa da, mikrobiyomun yaklaşık 1-2 kg ağırlığında bir “organ” olarak değerlendirilmesi makul olacaktır (Tang 2017).

2.3.4.Mikrobiyal Disbiyozis ve Obezite İlişkisi

Mikrobiyal disbiyozis, mikroorganizmalar arasındaki dengenin bozulmasıyla mikroorganizmaların artık uyum içinde yaşayamamaları ve total fonksiyonlarında kayıp ve

değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Mikrobiyal disbiyozisin obezite, diyabet, metabolik sendrom, ateroskleroz, inflamatuvar bağırsak hastalığı, maligniteler gibi patolojik birçok durumla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Mikrobiyal disbiyozis durumunda besinlerle alınan karbonhidrat ve proteinlerin yapısındaki moleküllerin fermantasyonuyla oluşan metabolit oranlarında değişiklikler olmakta ve metabolik yolların aktivasyonu ile bu durum obezite sürecine katkıda bulunmaktadır.

İnsan ve hayvan çalışmalarında sağlıklılarda 1/1 ile 3/1 oranında değişen F/B oranının obezlerde *Firmicutes* lehine arttığı, obezlerin mikrobiyota çeşitliliğinin azaldığı gösterilmiştir (Kasai 2015; Ley2005; Tang 2017). *Firmicutes*'te karbonhidrat, lipid metabolizması ile ilişkili enzim genlerinin *Bacteroidetes*'e göre daha zengin olduğu bilinmektedir. Kalori kısıtlı diyet uygulamasıyla kilo kaybedildiğinde F/B oranında düşüş olduğu gösterilmiştir. Ancak obezlerde *Bacteroidetes*'lerin arttığı, F/B oranlarının değişmediğinin raporlandığı farklı çalışmalar da mevcuttur (Schwiertz 2010; Duncan 2008).

Obez bireylerden alınarak germ free farelere fekal mikrobiyal transplant yapıldığında obez olmayan donörlerden transfer edilen farelere kıyasla, bu farelerin kilo almaya daha yatkın oldukları izlenmiştir (Ridaura 2013).

Mikrobiyota üyelerinden *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* ince bağırsakta parçalanmamış diyet bileşiklerinden SCFA'yı üreterek, konakçıya yaklaşık ~100 kcal ek kalori sağlar (Mackowiak 1982). Yapılan çalışmalarda toplam fekal SCFA içeriğinin, obezlerde daha yüksek olduğu, karaciğerde glukoneogenez, lipogenez öncüsü olarak kullanılabilen propiyonat konsantrasyonunun, toplam SCFA oranının obezlerde önemli ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (Schwiertz 2010).

Germ free farelerin *Bacteroides thetaiotaomicron* ile kolonize edilmesiyle besin emilimi, mukozal bariyer, anjiogenez ve metabolik regülasyon gibi fonksiyonlarda görev alan genleri eksprese ettiği ve konakçı bağırsağı üzerinde faydalı etkiler gösterdiği raporlanmıştır (Hooper 2001).

Obez bireylerin mikrobiyotasında artan gram negatif bakteriler nedeniyle dolaşımda bakteriyel lipopolisakkarit düzeylerinin yükseldiği, enterosit toll like reseptörleri aracılığıyla NFkB (Nuclear Factor kappa-B) yolağının aktive edilmesi sonucu inflamasyon oluştuğu gösterilmiştir (Kasai 2015).

2.3.5. Obezite Tedavisinde Mikrobiyota

Bağırsak mikroorganizmaları, konakçı hücrelerle çeşitli mekanizmalar yoluyla etkileşime girdiğinden, metabolik bozuklukları tedavi etmek için mikrobiyotanın hedeflenmesi çekici bir terapötik yaklaşımdır. Bağırsak mikrobiyomunun manipülasyonu ile ilgili hastalıkların tedavisinde umut veren çalışma sonuçları mevcuttur. Mikrobiyota tipini değiştirmek için diyet uygulanabilir, mikrobiyota tarafından üretilen kimyasallar hedeflenebilir, fekal transplantasyon yapılabilir, prebiyotik-probiyotik ilavesiyle mikrobiyal flora doğrudan değiştirilebilir (Dao 2018).

Bağırsak mikrobiyomunun gastrointestinal sistem fonksiyonları, detoksifikasyon, immun sistem modülasyonu gibi birçok konuda rol oynadığı bilinmektedir. İnsan bağırsağında yüksek heterojenite göstermekle birlikte çoğunluğu *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* türleri oluşturmaktadır (Biagi 2010).

Kilo kaybı için uygulanacak diyet tedavileri seçilirken, başlangıçtaki mikrobiyota profili açısından bireyler arası farklılık önemlidir, kilo verme yanıtının ve bireye yönelik en iyi terapi yönteminin tahmininde yararlı bir araç olarak kullanılabilir. Farklı çalışmalarda, başlangıçtaki mikrobiyota kompozisyonunun, metabolik düzelme dahil, diyet tedavilerine yanıtı öngörmeye yardımcı olduğu, prebiyotik takviyelerine karşı yanıtı etkileyebildiği gösterilmiştir (Korpela 2014). Mikrobiyom çeşitliliği, diyet tedavisine bireysel yanıtta rol oynar ve düşük mikrobiyal gen sayısı, tedaviye olası zayıf yanıtı öngörebilir.

Obez hastalarda diyet tedavisiyle kilo kaybının mikrobiyom çeşitliliğini artırabildiği gösterilmiştir (Seganfredo 2017; Venkataraman 2016). Yapılan çalışmalarda diyet, bariatrik cerrahi, prebiyotik, probiyotik takviyeleriyle kilo veren obez bireylerde intestinal bakteriyel floranın etkilendiği ve değişimin sağlıklı yönde olabildiği tespit edilmiştir (Seganfredo 2017).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırma Tasarımı

Prospektif şekilde dizayn edilen bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihazlar Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'nun 11.04.2019 tarih ve 2019/1820 sayılı kararınca onaylandı.

Bu çalışma, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Merkezine kilo vermek amacıyla başvuran obezite dışında bilinen sistemik bir hastalığı olmayan gönüllü obez kadın bireyler üzerinde yapıldı. Çalışma 15 birey ile gerçekleştirildi. Katılımcıların antropometrik ölçümleri yapılarak VKİ ≥ 30 olan bireyler çalışmaya dahil edildi.

3.1.1.Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri;

- 34-45 yaş arası
- Kadın cinsiyet
- VKİ ≥ 30 olması kg/m²
- Son 6 ay içinde antibiyotik ilaç tedavisi almaması
- Bilinen sistemik hastalığı (Diabetes Mellitus, Hipertansiyon, Kronik Böbrek Yetmezliği, Kardiyovasküler hastalıklar, Hepatik Yetmezlik vb) bulunmaması
- Sigara ve alkol almaması
- Gebe olmaması
- Probiyotik, antioksidan, vitamin vb. takviyeler almaması
- Sistemik etkili herhangi bir ilaç kullanmaması
- Bilinen kronik bulaşıcı hastalığının bulunmaması (Hepatit B, Hepatit C , AIDS vb.)

Katılımcılar yalnızca diyet tedavisi uygulanan grup (Diyet grubu; n=6) ve diyet tedavisi ile birlikte akupunktur terapisi uygulanan grup (Akupunktur grubu, n:9) şeklinde iki gruba ayrıldı. Diyet grubu katılımcılarına 12 hafta süre ile düşük kalorili diyet (Moreno 2014) tedavisi uygulandı. Akupunktur grubu katılımcılarına kulakta Shen-Men, hunger,

gırtlak, mide, böbrek, jerome, vücutta ST-24,25,36, Ren-5,7, H-7, Lu-9, PC-6, Du-20, GV-21 bölgelerine toplamda 12 seans ve 12 hafta süreyle akupunktur terapisi ve eş zamanlı düşük kalorili diyet (Moreno 2014) tedavisi uygulandı.

Katılımcıların çalışma başında ve bitiminde (0. ve 12. hafta) antropometrik ölçümleri kaydedildi. Katılımcıların kilo ve boy ölçümleri, Tanita SC-330 vücut analiz cihazı, bel ve kalça çevresi ölçümleri şerit mezur kullanılarak yapıldı.

Çalışmanın başında (0. hafta) ve bitiminde (12. hafta) ölçülen açlık serum glukoz ve insülin değerleri kaydedildi, HOMA-IR indeksleri aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık Glukoz (mg/dL)} \times \text{Açlık İnsülin (mU/L)} / 405.$$

Açlık serum glukoz düzeyleri Roche Diagnostic Cobas 8000 (c702) sistemleri ve hegzokinaz yöntemiyle, açlık serum insülin düzeyleri Roche Diagnostic Cobas 6000 (c501) sistemleri ve elektrokemilüminesan yöntemiyle ölçüldü.

Çalışmanın başında (0. hafta) ve bitiminde (12. hafta) alınan gaita örnekleri DNA izolasyon işlem gününe kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Çalışma kapsamında gaita mikrobiyom analizleri için mikrobiyal genomu temsil etmek üzere 16S rRNA geni hedef gen olarak kullanıldı.

Çalışma sonunda en az 10 kg veren bireylerin çalışma başı (0. hafta) ve çalışma sonu (12. hafta) antropometrik (Vücut ağırlığı, VKİ, bel çevresi, bel/kalça oranı) ve biyokimyasal ölçümler (glukoz, insülin, HOMA-IR) ile mikrobiyota karşılaştırması yapıldı.

3.2.Fekal Örneklerin Eldesi

Gaita numuneleri toplanmadan önce örneğin toplanmasına ilişkin bilgi verildi. Herhangi bir laksatif kullanılmadı. Numune alınırken ilk çıktı atıldı, sonraki kısım incelendi. Gaitanın orta kısımlarından az miktarda alınarak bir karışım elde edildi ve bir kaşık dolusu (yaklaşık 500 mg) kendinden kaşıklı plastik kaba aktarıldı. Örnekler -80 °C'de muhafaza edildi.

3.3. Mikrobiyota Analizi

QuickGene (Kurabo) ekstraksiyon kiti kullanılarak bakteriyal genomik DNA ekstrakte edildi. Çift uçlu (pair-end) algoritmalarla dayanarak, Illumina HiSeq platformunda ampikon dizilimi gerçekleştirildi.

3.3.1. Fekal Örneklerden DNA İzolasyonu

Ekstraksiyon işlemi için QuickGene (Kurabo) kullanılarak üreticinin talimatlarının uygulanmasıyla ortalama 50-60 ng genomik DNA elde edildi.

İzole edilen DNA örnekleri kalite ve kantite kontrolleri Nanodrop ve Qubit florometer yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi.

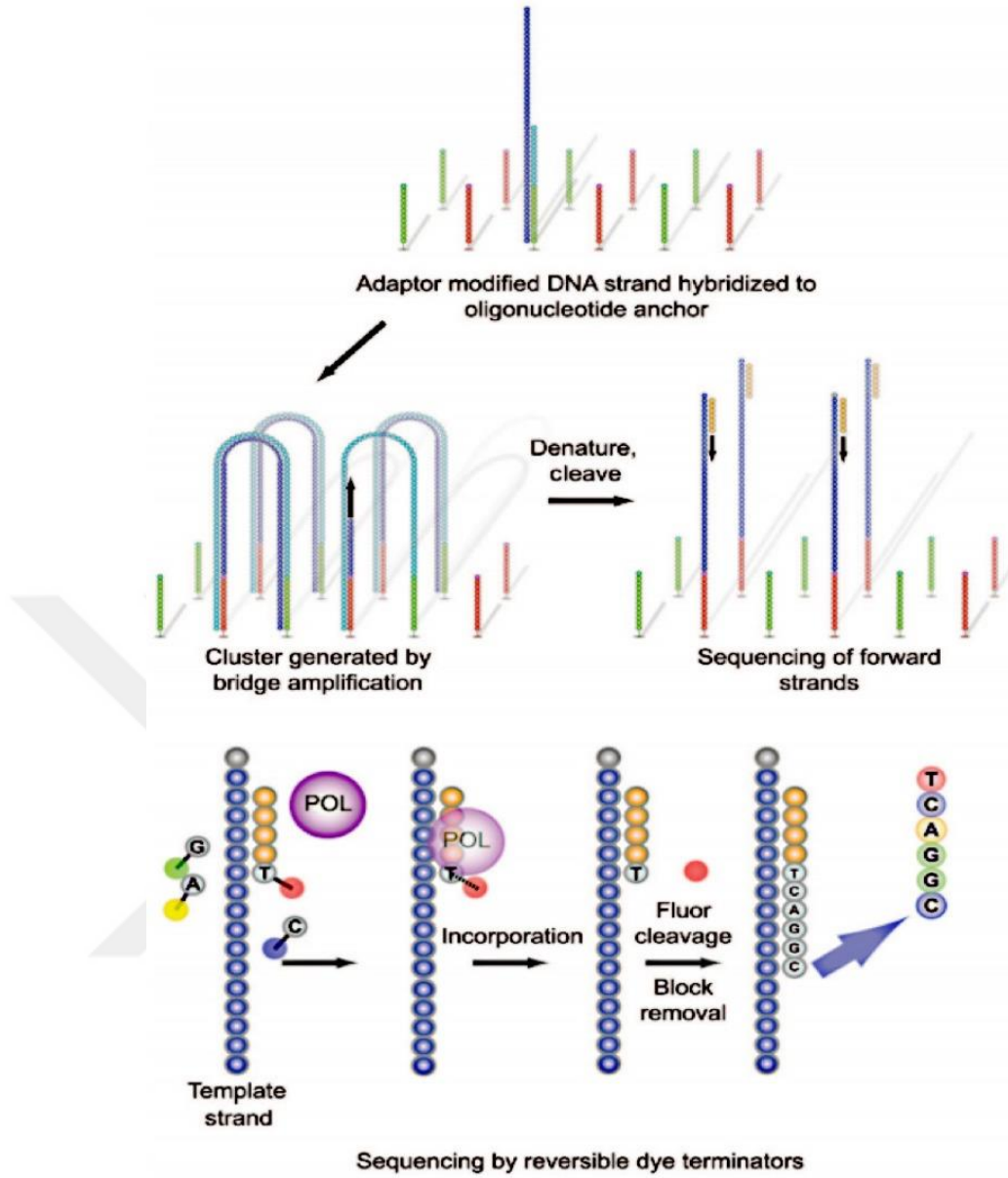
3.3.2. 16S rRNA Sekanslama ve Biyoinformatik Veri Analizi

Yöntem; kütüphane oluşturulması, adaptör moleküllerin eklenmesi, köprü PCR (Polimerase chain reaction) ve kümelerin oluşturulması, sekanslama basamakları şeklindedir (Şekil 3.1).

İzole edilen DNA'ların 16S rRNA V3-V4 bölgesi PCR ile amplifiye edildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. V3-V4 bölgesini hedefleyen 341F ve 806R primer dizimleri

V3-V4	470 bp	341F	CCTAYGGGRBGCASCAG
		806R	GGACTACNNGGTATCTAAT



Şekil 3.1. 16 S rRNA Sekanslama Yöntem Basamakları

Özgün moleküler barkodlar ile okuma çiftleri ayrıştırıldı. Çift uçlu okumalar FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) kullanılarak birleştirildi (Magoc 2011).

QIIME (V1.7.0, http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html) kalite kontrol talimatlarına göre filtrelemelerle birlikte analizler gerçekleştirildi (Caporaso 2010). Kimerik diziler UCHIME (http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html) kullanılarak referans database (Gold database, http://drive5.com/uchime/uchime_download.html) ile karşılaştırma yapılarak tanımlanıp kaldırılırdı (Edgar 2011).

UPARSE (Uparse v7.0.1001 <http://drive5.com/uparse/>) operasyonel taksonomik birimleri (OTU; Operational taxonomic unit) %97 benzerlik sınırı ile kümelemek için kullanıldı.

Taksonomik sınıflama için 16S V3- V4 bölgesini içeren SILVA (<http://www.arb-silva.de/>) veri tabanının optimize edilmiş versiyonu ile OTU'lar haritalandı (Edgar 2013).

OTU temsili dizilerinin filogenetik ilişkisini elde etmek amacıyla MUSCLE (Sürüm 3.8.31 <http://www.drive5.com/muscle/>) kullanıldı (Edgar 2004). Oluşturulan OTU tabloları ile alfa çeşitlilik, beta çeşitlilik analizleri yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

3.4.1. Antropometrik Ölçümler ve Biyokimyasal Parametrelerin İstatistiksel Analizi

Antropometrik ölçümler ve biyokimyasal analizlerin karşılaştırılması amacıyla diyet ve akupunktur grup ölçümleri arasındaki fark Mann Whitney U, herbir grubun tedavi öncesi ve sonrası ölçümleri arasındaki fark Wilcoxon testi ile IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak incelendi, $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.4.2. Mikrobiyom Verilerinin İstatistiksel Analizi

Grup içerisindeki mikrobiyota farklılıkların incelenmesi amacıyla alfa çeşitlilik analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla Observed OTUs, Shannon, Pielou's evenness, Faith pd indeksleri kullanıldı.

Gruplar arasındaki kompozisyon farklılıklarını değerlendirmek amacıyla beta çeşitlilik analizi gerçekleştirildi. Jaccard, Bray Curtis, Weighted and Unweighted Unifrac metriği ve Temel Koordinat Analizi (PCoA; Principal Coordinates Analysis) kullanılarak grafikler çizildi.

İki farklı durum arasındaki taksonomik biyobelirteçlerin istatistiksel önemi Lineer diskriminant analizi etki büyüklüğü (LEfSe; Linear discriminant analysis effect size) analizi ile incelendi.

Adonis, NMDS (Non-metric multidimensional scaling), Anosim, MRPP (Multi-Response Permutation Procedure) analizleri yapıldı, $p < 0,05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Antropometrik Ölçümler ve Biyokimyasal Analizlerin Değerlendirilmesi

İki farklı tedavi yöntemi sonucunda çalışmaya dahil edilen toplam 15 bireye (Akupunktur grubu; n=9 ve diyet grubu; n:6) ait yaş, antropometrik ve biyokimyasal ölçümler Tablo 4.1’de özetlenmiştir. Grupların tedavi öncesi (0. ay) yaş, vücut ağırlığı, VKİ, bel çevresi, glukoz, insülin ve HOMA-IR düzeyleri arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 4.1. Obez bireylerin tedavi öncesi yaş, antropometrik ve biyokimyasal ölçümlerine ilişkin veriler

	Akupunktur Grubu (n=9)	Diyet Grubu (n=6)	<i>p</i>
Yaş (Yıl)	40,67 ± 2,50	38,67 ± 2,42	0,145
Vücut Ağırlığı (kg)	87,19 ± 4,59	87,63 ± 5,52	0,689
VKİ (kg/m ²)	33,76 ± 1,29	34,21 ± 1,45	0,456
Bel Çevresi (cm)	97,78 ± 4,60	98,50 ± 3,43	0,955
Bel/Kalça Oranı	0,84 ± 0,03	0,83 ± 0,02	0,607
Glukoz(mg/dL)	94,30 ± 7,66	97,07 ± 4,87	0,529
İnsülin (mU/L)	11,49 ± 3,57	10,93 ± 4,19	0,776
HOMA-IR	2,67 ± 0,87	2,61 ± 1,01	0,955

VKİ: Vücut Kitle İndeksi, HOMA-IR: Homeostatic model assessment for insulin resistance.

Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde belirtilmiştir.

Akupunktur terapisi alan ve yalnızca diyet tedavisi alan her iki grupta 3 aylık tedavi ile vücut ağırlığı, VKİ, bel çevresi ölçümlerinde anlamlı bir düşüş izlenirken ($p<0,05$), bel/kalça oranında anlamlı bir değişim izlenmedi ($p>0,05$). Her iki grubun HOMA-IR düzeyleri tedaviyle anlamlı bir düşüş gösterdi ($p<0,05$), Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Bireylerin tedavi öncesi ve sonrası antropometrik ve biyokimyasal ölçümlerinin karşılaştırılmasına ilişkin veriler

	Akupunktur Grubu			Diyet Grubu		
	0. ay	3. ay	<i>p</i>	0. ay	3. ay	<i>p</i>
Vücut Ağırlığı (kg)	87,19 ± 4,59	75,44 ± 4,82	0,008	87,63 ± 5,52	77,35 ± 5,52	0,027
VKİ (kg/m²)	33,76 ± 1,29	29,21 ± 1,38	0,008	34,21 ± 1,45	30,19 ± 1,46	0,028
Bel Çevresi (cm)	97,78 ± 4,60	90,61 ± 4,20	0,007	98,50 ± 3,43	91,50 ± 4,48	0,027
Bel/Kalça Oranı	0,84 ± 0,03	0,82 ± 0,04	0,114	0,83 ± 0,02	0,81 ± 0,02	0,066
HOMA-IR	2,67 ± 0,87	1,99 ± 0,65	0,008	2,61 ± 1,01	2,22 ± 0,81	0,046

VKİ: Vücut Kitle İndeksi HOMA-IR: Homeostatic model assessment for insulin resistance. Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde belirtilmiştir.

Gruplar karşılaştırdığı zaman akupunkturun kilo kaybı ($p < 0,001$), VKİ ($p = 0,004$) değişimlerinde daha etkili olduğu izlendi. Ancak tedavi yöntemlerinin bel çevresi, bel/kalça oranı ve HOMA-IR düzeylerindeki değişimler açısından farklılık göstermediği izlendi ($p > 0,05$).

4.2. Mikrobiyota Analizlerinin Değerlendirilmesi

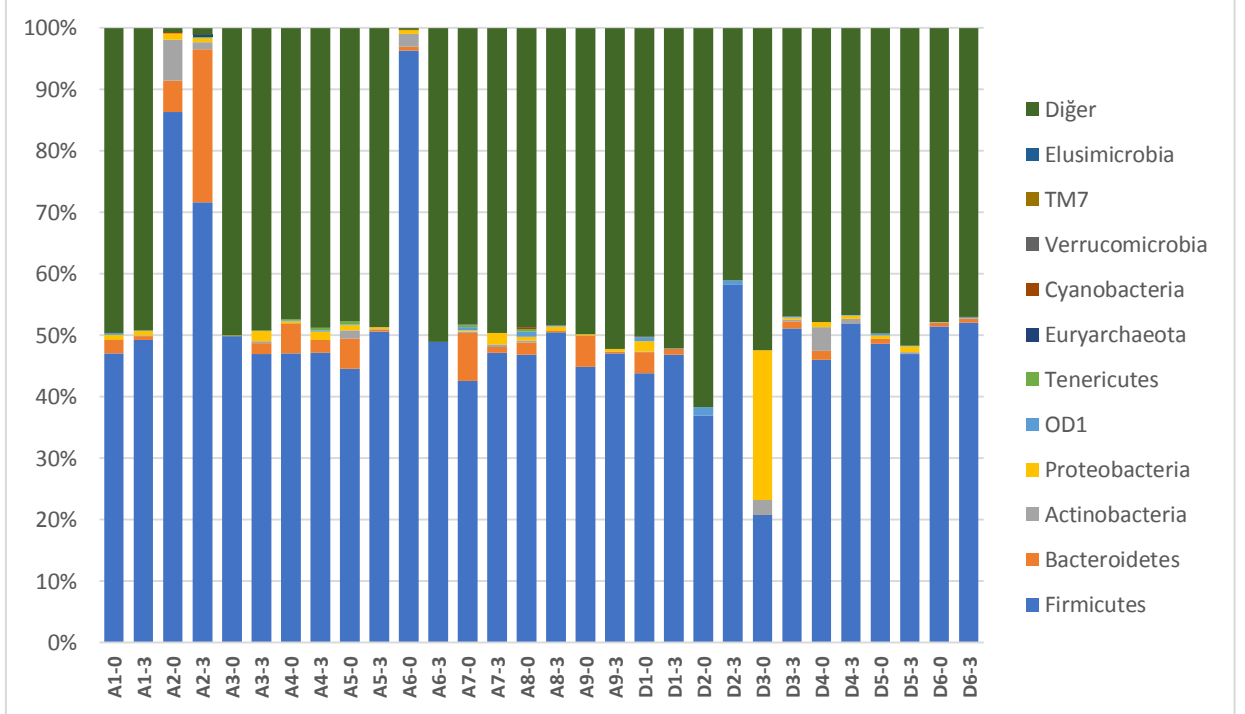
30 örnekten elde edilen okumalar ve QIIME ile yapılan sınıflandırmalar sonucunda en çok bulunan 15 takson dışındakiler *diğer* adlı grupta birleştirildi.

Filum düzeyinde tespit edilen taksonlar Şekil 4.1 ve 4.2’ de gösterildi. En bol bulunan filumlar sırası ile *Firmicutes* (%61,99), *Bacteroidetes* (%5,44), *Actinobacteria* (%1,57) ve ardından *Proteobacteria* (%1,04) filumuydu.

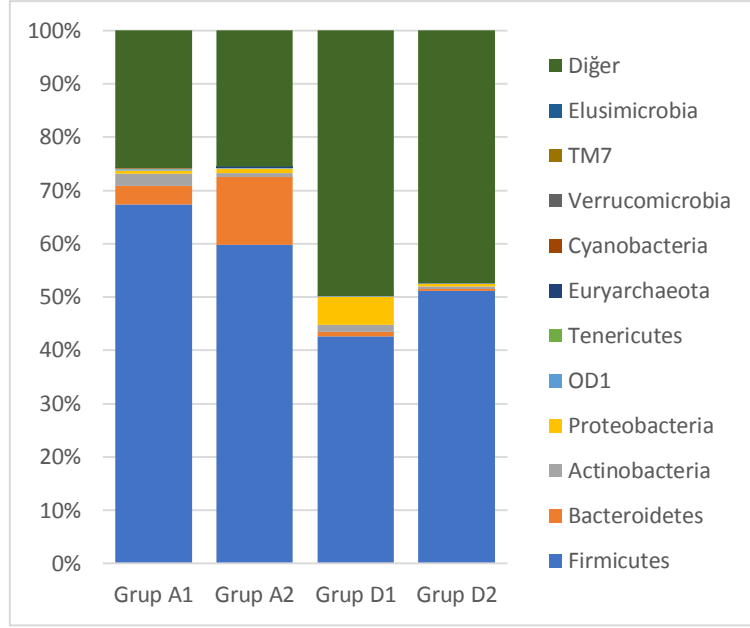
Cins düzeyinde en bol bulunan taksonlar sırası ile *Lachnospiraceae* familyasından sınıflandırılmamış bir cins (%15,16), *Faecalibacterium* (%12,85), *Clostridiales* takımından sınıflandırılmamış bir cins (%4,42) ve *Oscillospira* (%3,55) cinsiydi (Şekil 4.4).

Örneklerin filum göreceli bolluk profilinin benzer olduğu, A2 olarak kodlanan bir bireyde tedavi öncesi ve sonrası örneklerinde *diğer* grubunda birleştirilen takson oranlarının genel oranlara göre düşük olduğu görülebilmektedir. Yine A6 olarak kodlanan bireyin tedavinin başında *diğer* grubunda birleştirilen takson oranlarının düşük olduğu, ancak tedavi sonrası genel oranlara benzer seviyelere yükseldiği görülebilmektedir. D3’ün tedavi başında alınan örneğinde patobiyotikler olarak tanımlanmış bakterilerin çoğunu içeren bir grup olan

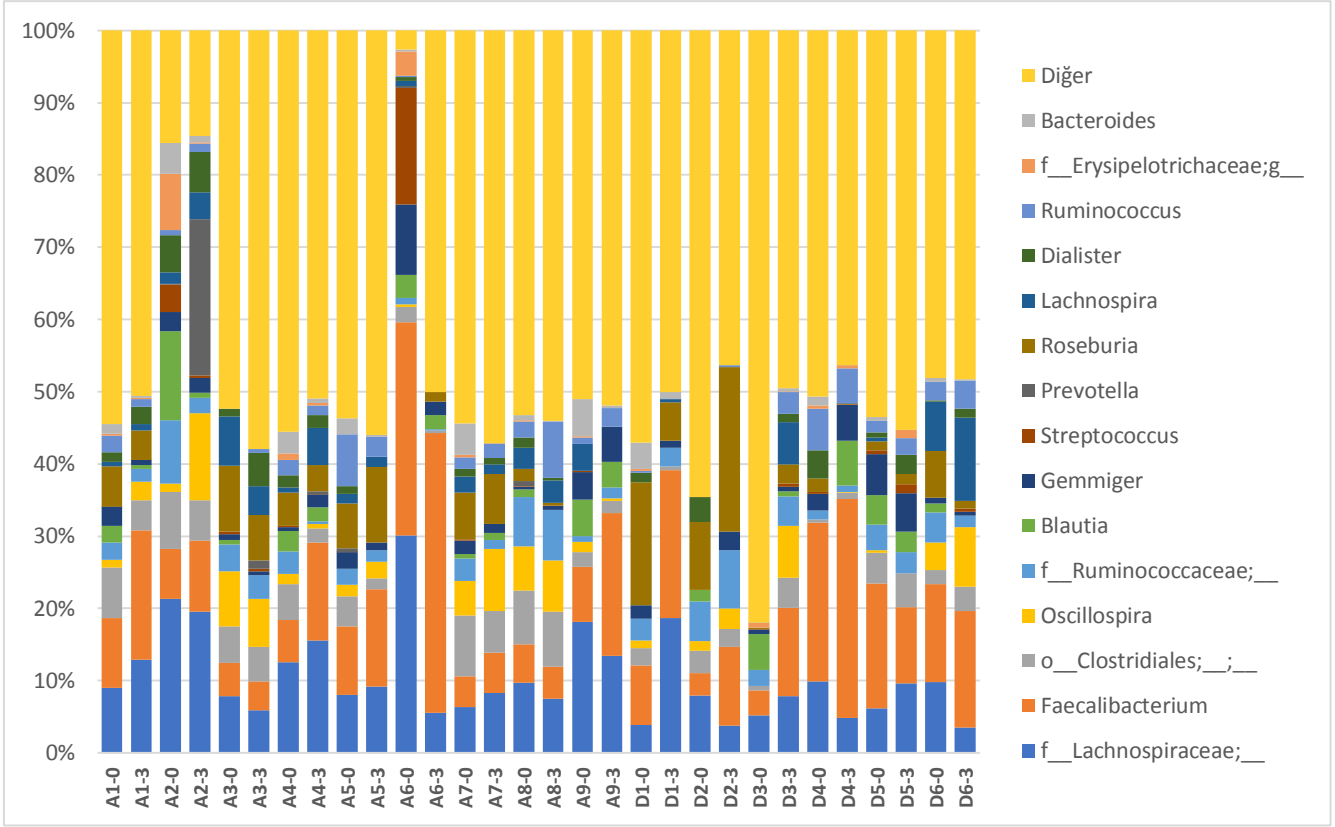
Proteobacteria (Biagi 2010) göreceli bolluk oranı yüksek izlenirken tedavi sonrasında diğer örneklerle benzer oranlara gerilediği görsel olarak izlenebilmektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bağırsak mikrobiyalarında filum düzeyinde göreceli bolluk oranları. Herbir katılımcının filum düzeyinde taksonomik göreceli bolluk oranı tedavi öncesi 0. ay (0) ve tedavi sonrası 3. ay (3) şeklinde gösterilmiştir. A: Akupunktur, D: Diyet grubu. En bol gözlenen 15 OTU temsil edilmiş, geriye kalanı *diğer* grubuna eklenmiştir.

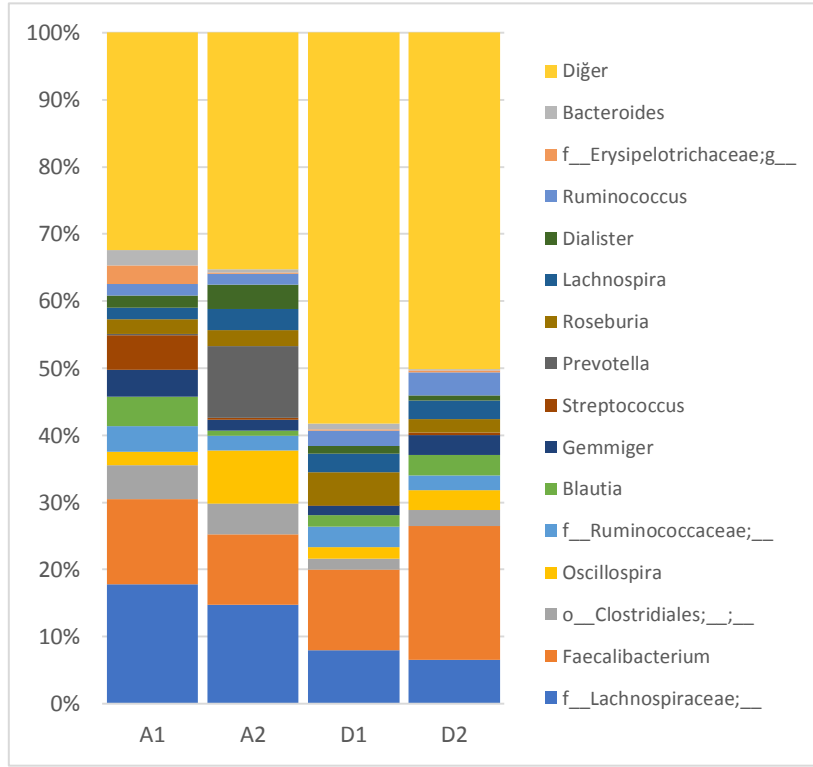


Şekil 4.2. Herbir grup için filum düzeyinde göreceli olarak en bol taksonlar şekilde gösterilmiştir. Diyet grubu (n = 6) ve akupunktur grubu (n =9).



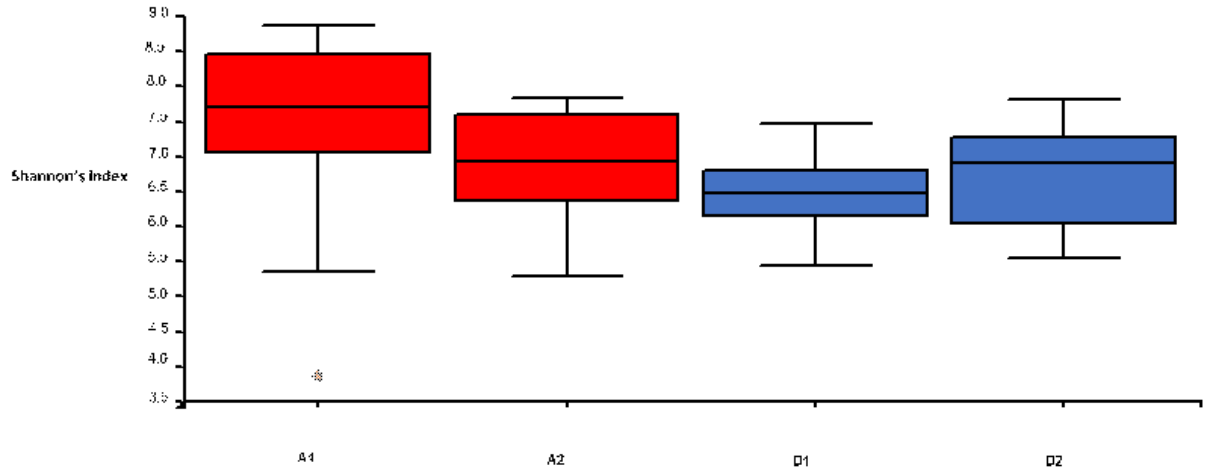
Şekil 4.3. Cins düzeyinde göreceli bolluk oranları. Herbir katılımcının cins düzeyinde taksonomik göreceli bolluk oranı tedavi öncesi 0. ay (0) ve tedavi sonrası 3. ay (3) şeklinde gösterilmiştir. A: Akupunktur, D: Diyet grubu. En bol gözlenen 15 OTU temsil edilmiş, geri kalanı *diğer* grubuna eklenmiştir.

Cins düzeyinde göreceli bolluk oranları incelendiğinde bireylerin mikrobiyota profillerinin yüksek heterojenliğe sahip olduğu ancak tedaviyle genel olarak çok büyük farklılıkların olmadığı görülebilmektedir. A2 olarak kodlanan bireyin tedavi öncesi ve sonrası örneklerinde *diğer* grubu oranının düşük olduğu, tedavi sonrası örneğinde *Prevotella* göreceli bolluğunda artış olduğu görülebilmektedir. A6'nın tedavi başında *Streptococcus* ve *Gemmiger* oranlarının daha yüksek olduğu *diğer* grubu oranının düşük olduğu görülebilmektedir (Şekil 4.3).



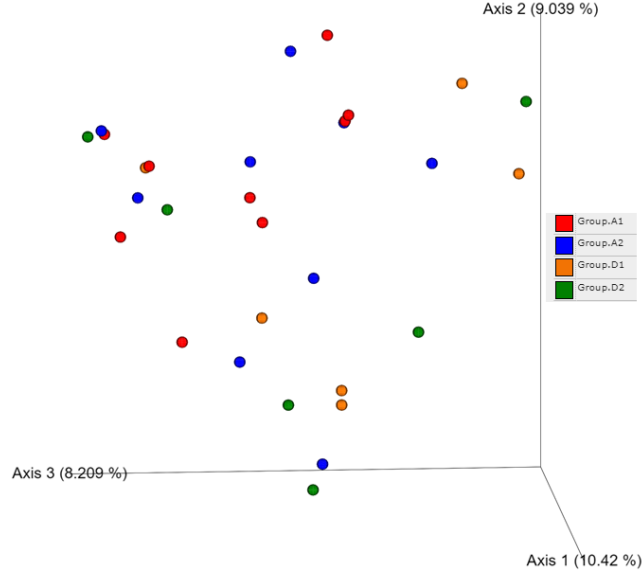
Şekil 4.4. Herbir grup için cins düzeyinde göreceli olarak en bol taksonlar şekilde gösterilmiştir. Diyet grubu (n = 6) ve akupunktur grubu (n =9).

Bakteri alfa çeşitliliği analizi; başlangıç, akupunktur ve diyet grupları arasında, tedavi öncesi ve sonrasında benzer olarak izlendi (Şekil 4.5).

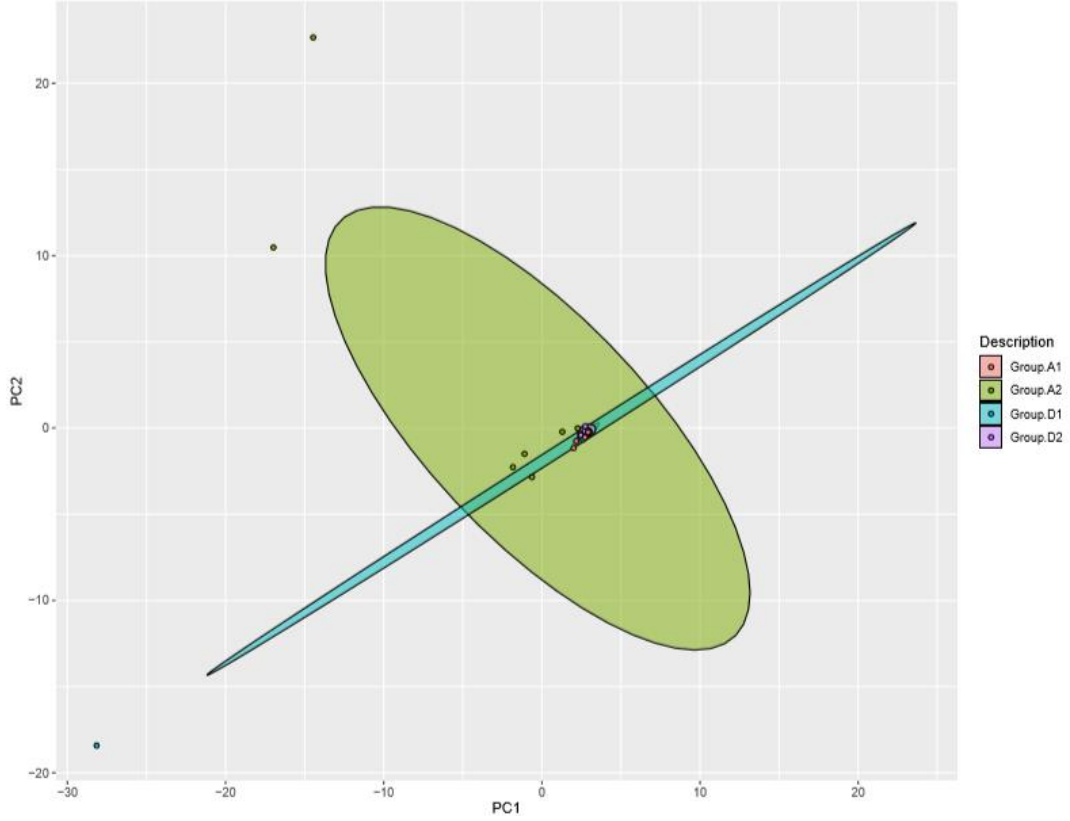


Şekil 4.5. Grupların mikrobiyota Shannon çeşitlilik indeksini gösteren kutu grafikleri. A1 (Akupunktur grubu 0. ay; n=9), A2 (Akupunktur grubu 3. ay; n=9), D1 (Diyet grubu 0. ay; n=6) ve D2 (Diyet grubu 3. ay; n=6). Kırmızı renkle gösterilenler akupunktur, mavi renkle gösterilenler yalnızca diyet tedavisi alan grubu simgelemektedir. Her iki grupta tedavi öncesi ve sonrası anlamlı fark izlenmedi; $p_{(A1-A2)} = 0,17$, $p_{(D1-D2)} = 0,63$

Jaccard, Bray Curtis, Weighted Unifrac ve Unweighted Unifrac metriği ve PCoA analizi genel olarak bağırsak mikrobiyota kompozisyon çeşitliliğinin gruplar arasında benzer olduğunu göstermektedir (Şekil 4.6, 4.7).



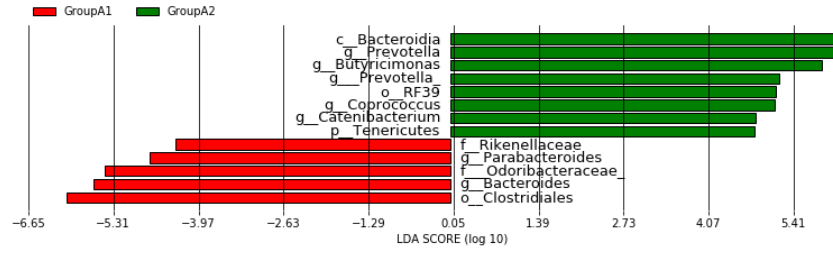
Şekil 4.6. Bray Curtis yöntemiyle elde edilen beta çeşitlilik analiz sonuçları. Kırmızı noktalar A1 (Akupunktur grubu 0. ay; n=9), mavi noktalar A2 (Akupunktur grubu 3. ay; n=9), turuncu noktalar D1 (Diyet grubu 0. ay; n = 6) yeşil noktalar ise D2 (Diyet grubu 3. Ay; n = 6) grubunu temsil etmektedir. Gruplar arasında fark izlenmemektedir.



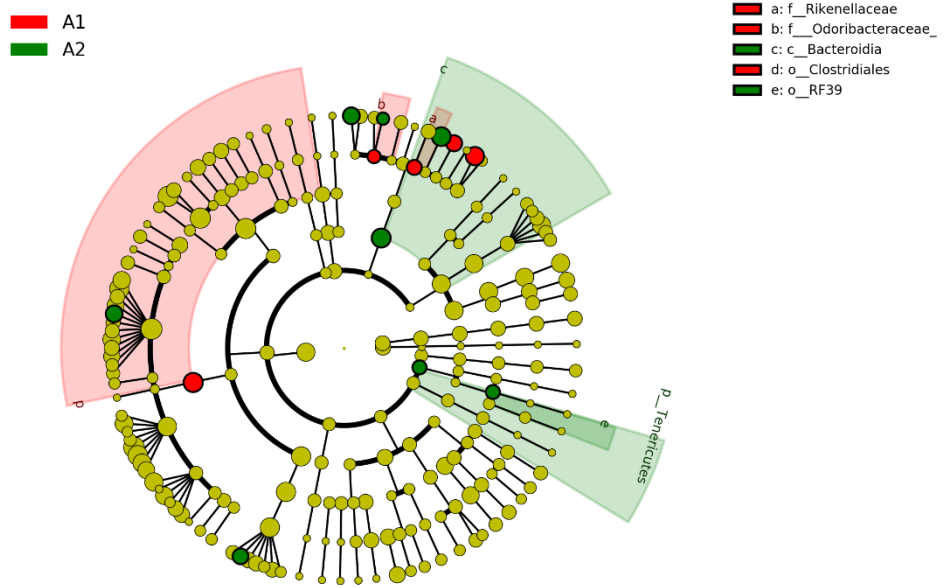
Şekil 4.7. Temel koordinat analizi (PCoA). Gruplara göre renklendirilmiş her bir örnekle PC1, PC2 çeşitliliğin çoğunu yakalayan boyutlardan ilk iki ana koordinatı temsil eder. Benzer mikrobiyal topluluk yapısına sahip numuneler toplanma eğilimindedir, şekilde herbir gruba özgü farklı alanda kümelenme izlenmemektedir.

Akupunktur ve diyet uygulananlarda tedavi öncesi ve sonrası kompozisyon çeşitliliği açısından tedaviyle anlamlı farklılık tespit edildi. Ancak bu farkın düşük düzeyde olduğu görüldü. ($p=0,002$, $A=0,1037$).

LEfSe analiz testi, akupunktur terapisi alan grupta tedavi öncesi ve sonrası örnekler analiz edildiğinde; tedavi sonrasında farklı taksonomik seviyelerde bolluk düzeyinde farklılık olduğunu gösterdi. Tedaviyle *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* ve *Tenericutes* taksonlarının öne çıktığı izlendi [LDA (Linear Discriminant Analysis) skoru >2], (Şekil 4.8, 4.9).



Şekil 4.8. LefSe analizi ile öne çıkan mikroorganizmalar. LefSe gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklı biyobelirteçleri belirler. Yaygın taksonlar için LDA skorları (log 10). A1 grubu (Akupunktur grubu 0. ay) için negatif tarafta kırmızı renkle, A2 grubu (Akupunktur grubu 3. ay) için pozitif tarafta yeşil renkle gösterilmiştir.



Şekil 4.9. A1 (Akupunktur grubu 0. ay) ve A2 (Akupunktur grubu 3. ay) grubuna ait LDA etki büyüklüğü analiz verilerinden elde edilen kladogram şekilde gösterilmiştir. Her noktanın renk yoğunluğu, etki büyüklüğüyle orantılıdır. Kırmızı renkle gösterilen taksonlar A1 grubu, yeşil renkle gösterilen taksonlar A2 grubunda öne çıkan taksonları simgelemektedir.

5.TARTIŞMA

Vücutta olması gerekenden fazla yağ depolanmasıyla ortaya çıkan, enerji denge bozukluğu olarak tanımlanan obeziteye genetik, davranışsal ve çevresel faktörlerin zemin hazırladığı bilinmektedir. Mikrobiyota kompozisyonundaki değişimlerin birçok patobiyolojik sürecin gelişiminde olduğu gibi obezite ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Backhed 2004).

Endojen ve eksojen birçok faktör mikrobiyota kompozisyonunu etkileyebilmektedir. Biagi ve ark (2010) yaptıkları çalışmada bağırsak mikrobiyotasına baskın olarak (yaklaşık %95) *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*'in hakim olduğunu bildirmişlerdir. Turnbaugh ve ark (2009) tarafından bildirilen çalışmaya göre farklı fizyopatolojik durumlar nedeniyle bireyler arasında tür sayısı, dengesi ve türlerin göreceli bolluğu değişebilse de bakteri türlerinin bazıları, insanların çoğunda çekirdek bir mikrobiyom oluşturmaktadır.

Olszak ve ark (2012), Candela ve ark (2008), Li ve ark (2008), Nallu ve ark (2017) ile Savage ve ark (1970), çalışmalarında; bağırsak mikrobiyota üyelerinin beslenme ve sindirim ile alakalı fizyolojik rollerin yanında iştah, diyetle alınan besinlerin enerji regülasyonu, glukoz metabolizması gibi metabolik işlevlerde rol aldığını bildirmişlerdir. Mikrobiyal disbiyozis varlığında karbonhidrat ve proteinlerin yapısındaki moleküllerin fermantasyonu sonucu oluşan metabolit oranlarında değişiklikler olmakta ve bu durum metabolik yolların aktivasyonu ile obezite sürecine katkıda bulunabilmektedir.

Mikrobiyota tür zenginliği, göreceli bolluğu ve çeşitliliği sağlıklı bir mikrobiyomun göstergesi olarak incelenebilmektedir. Yeni nesil dizileme gibi farklı metagenomik ve metabolomik yöntemler, sağlıklı ve patolojik bağırsak mikrobiyota bileşimi konusunda geniş bilgilere ulaşmaya olanak sağlamıştır (Human Microbiome Project 2012).

Vücut yüzeyi üzerinde belli çizgisel meridyenler üzerine uygulanan ve Qi enerji akışına etki ettiği düşünülen akupunktur, obezite tedavi seçenekleri arasında tercih edilen popüler yöntemlerden biri olarak yerini almıştır. Abdi ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada akupunkturun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antropometrik parametrelerin sağlıklı yönde değişiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Yine Li ve ark (2014) ile Garcia ve ark (2014) tarafından gerçekleştirilen randomize kontrollü çalışmalarda, akupunkturun HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance) ile değerlendirilebilen insülin direnci dahil olmak üzere metabolik parametreler üzerine faydalı etkileri olduğunu gösteren sonuçları bildirmişlerdir.

Wei ve ark (2019) ile Wang ve ark (2019) yaptıkları çalışmalarda; akupunktur uygulaması ile farklı hastalık gruplarında mikrobiyota kompozisyonunda değişiklikler olduğunu, akupunkturun bağırsak-beyin eksenini üzerine etki göstererek bağırsak motilitesini düzenleyebildiğini, proinflatuar sitokin seviyelerini düşürerek bağırsak bariyer fonksiyonunu iyileştirebildiğine dair bulgulara rastlandığını bildirmişlerdir.

İçerisinde diyet tedavisinin de olduğu farklı tedavi yöntemlerinin mikrobiyotaya etkisinin araştırıldığı 43 farklı çalışmanın incelendiği; Sagenfredo ve ark (2017) tarafından yayınlanan bir derlemede, diyet tedavileri ile mikrobiyom değişimleri olduğu bildirilmiştir. Venkataraman ve ark (2016) tarafından yapılan farklı bir çalışmada; obez hastalarda diyet tedavisiyle kilo kaybının mikrobiyom kompozisyonunu değiştirebildiği gösterilmiştir. Xu ve ark (2013) tarafından obez bireyler üzerine yapılmış bir çalışmada akupunkturun fekal mikrobiyota üzerine etkisi rutin kültür yöntemiyle incelenmiş ve tedaviyle mikrobiyota profilinde değişimler izlendiği raporlanmıştır. Yaptığımız literatür araştırmasında; insan çalışmalarında obez bireylerin tedavisinde diyetle eş zamanlı uygulanan akupunktur terapisinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman diyetten farklı olarak mikrobiyotaya etkisinin olup olmadığını açıklayıcı bilgiye rastlamadık. Ayrıca zamanda insanlarda akupunktur ile kilo kaybının mikrobiyotaya etkisinin yeni nesil dizileme yöntemleri ile incelendiği çalışmaya da rastlamadık.

Çalışmamızda akupunktur terapisinin obezlerde vücut ağırlığı ve VKİ düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü ancak diğer antropometrik ölçümler ve HOMA-IR düzeyleri üzerine diyet tedavisinden farklı bir etki göstermediği görüldü. Ayrıca akupunktur ve diyet tedavisinin mikrobiyom çeşitliliği açısından düşük düzeyde farklılıklara sebep olabileceği; fakat akupunktur terapisiyle *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* ve *Tenericutes* taksonlarının öne çıktığı görüldü (Şekil 4.9). Bu bulgular akupunktur terapisinin vücut ağırlığı, adipöz doku, lipit metabolizması ve bağırsak mikrobiyotasına etki ettiğini göstermektedir.

Abdi ve ark (2012) ile Zhang ve ark (2017) tarafından yapılan çalışmalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman akupunktur terapisinin obezite tedavisinde antropometrik ölçümlerde daha büyük düşüşler sağladığı raporlanmıştır.

Çalışmamızda vücut ağırlığı ve VKİ ölçümlerindeki değişimler literatürle uyumludur (Abdi 2012; Zhang 2017). Bulgularımız, akupunkturun vücut adipöz doku metabolizması üzerine etkisinin olduğunu göstermektedir. Bulgularımız, akupunkturun obezite tedavisinde

diyet ile eş zamanlı uygulanabilecek değerli alternatif bir yöntem olduğunu göstermektedir. Mazzoni ve ark (1999), akupunkturun antropometrik parametreler üzerine önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Bu durum, bahsi geçen çalışmada akupunktur uygulanan noktaların çalışmamızda seçilen noktalardan farklı olması ile açıklanabilir.

Li ve ark (2014) ile Garcia ve ark (2014) tarafından yapılan çalışmalarda; randomize kontrollü gruplarda akupunkturun HOMA-IR dahil olmak üzere metabolik birçok parametre üzerine faydalı etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızın sonuçları ile benzer şekilde HOMA-IR düzeyleri üzerine akupunkturun diyetten farklı bir etkisi olmadığını gösteren bulgular El-Mekawy ve ark (2015) tarafından yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalar (Li 2014; Garcia 2014) ile bu bilgiler göz önüne alındığında akupunkturun glukoz metabolizması ve insülin direnci üzerine olumlu etkileri olabileceğini gösterse de; daha fazla ve detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Çalışmamızda her bireyin mikrobiyota bolluk profilinde gözlemlenen heterojenlik genetik, doğum yolu, beslenme tarzı gibi birçok faktörün sebebiyle var olduğu kanıtlanmış doğal çeşitlilik nedeniyle beklenmektedir. Bununla birlikte çalışmamızda tanımlanan taksonlar içerisinde en hâkim olan filum; erişkin mikrobiyotada dominant olarak bulunduğu bilinen *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumuydu.

Tang ve ark (2017), Kasai ve ark (2015), Ley ve ark (2005) tarafından yapılan farklı çalışmalarda obezlerde *Firmicutes* oranlarının arttığı, obezlerin mikrobiyota çeşitliliğinin azaldığı bildirilmiştir. *Firmicutes*'in karbonhidrat ve lipit metabolizması ile ilgili moleküler yolaklara ilişkin enzim genlerinin *Bacteroidetes*'e göre daha fazla olduğu bilinmektedir. Parnell ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada *Bacteroides*'in vücut ağırlığı ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Parnell 2012). Ayrıca Abdallah Ismail ve ark (2011), obezlerde yaptıkları bir çalışmada *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranlarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan değişik çalışmalarda; artan *Bacteroides* oranlarının obezite ile ilişkili olduğu, *Bacteroides*'in intestinal FIAF (Fasting induced adipose factor) proteinini baskıladığı, bu proteinin baskılanması sonucu karaciğer ve yağ dokusunda trigliserit birikiminin arttığı bildirilmiştir (Backhed 2004; Akash 2019; Schwiertz 2010).

Bağırsak mikrobiyotasındaki değişimin obezite ile ilişkili olduğunu, akupunkturun bağırsak mikrobiyotasının bileşimini değiştirerek yararlı etkiler gösterdiğini bildiren insan ve hayvan çalışmalarından (Wang 2019; Xu 2013); Wang ve ark (2019), sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada akupunktur tedavisinin obezlerde antropometrik ve metabolik

parametreler üzerine olumlu etkilerinin olduğunu; ancak mikrobiyal çeşitlilik açısından değişime sebep olmadığını, bunun yanında *Prevotella-9* bolluğunu artırdığını bildirmişlerdir Xu ve ark (2013) tarafından yapılan bir başka çalışmada; analiz yöntemi olarak rutin kültür yöntemi seçilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında obez bireylerde, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un akupunktur terapisi sonrası arttığı gösterilmiştir. Xu ve ark (2013) tarafından yapılan bu çalışmada akupunktur; iki farklı uygulayıcı tarafından CV12, CV9, BL24, BL26, ST28, ST25, ST36, SP6 noktalarına uygulanmış ve *Bacteriodes* ile *Clostridium perfringens*'in gruplardan birinde düştüğü gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında aynı noktalar üzerine uygulama yapılmış olmasına rağmen akupunktur uygulayıcılarının dahi sonuçlardaki farklılığa sebep olabilecek faktörler arasında değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Xu 2013).

Çalışmamızda katılımcılara kulakta Shen-Men, hunger, gırtlak, mide, böbrek, jerome, vücutta ST-24,25,36, Ren-5,7, H-7, Lu-9, PC-6, Du-20, GV-21 bölgelerine toplamda 12 seans ve 12 hafta süreyle uygulanan akupunktur terapisiyle *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* ve *Tenericutes* taksonlarının öne çıktığı görüldü (Şekil 4.8, Şekil 4.9).

Bildirilen çalışmalar ile çalışmamızın sonuçları arasında uyumluluk olmakla birlikte ortaya çıkan farklılıkları; coğrafik konum, diyetle bulunan besin öğelerinin türü yanında akupunkturun vücutta hangi noktalara uygulandığı, uygulama protokolü, tedavi süresi gibi faktörlerle açıklamak mümkündür.

Bu bulgular akupunktur tedavisinin, bağırsak mikrobiyom yapısını etkileyerek, bağırsak-beyin eksenini yolu ile vücut ağırlığı kontrolü, lipid metabolizmasını düzenlemede potansiyel bir rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabildiği gibi, akupunkturun metabolik yollar üzerinden olumlu etkiler göstererek antropometrik parametreler ve mikrobiyom değişimine sebep olduğu şeklinde de yorumlanabilmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçları, akupunkturun obezite tedavisinde antropometrik parametreler üzerine faydalı etkileri olduğunu, bağırsak mikrobiyota yapısı üzerinde değişikliklere sebep olabildiğini göstermektedir. Akupunktur; *Bacteroidia*, *Prevotella*, *Butyricimonas*, *RF39*, *Coprococcus*, *Catenibacterium* ve *Tenericutes* taksonlarını öne çıkarabilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bu değişikliklerin ışığında, akupunkturun obezite üzerinde terapötik etkilere yol açtığı ve bu etkilerin altında yatan yeni bir mekanizmada işlev gördüğü düşünülebilir. Bununla birlikte akupunktur tedavisinin klinik etkileriyle beraber, bağırsak mikrobiyota disbiyozisi ve obezite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi; akupunkturun obezite, bağırsak mikrobiyotası ve metabolizma üzerindeki etkilerinin anlaşılabilmesi amacıyla mikrobiyom üyeleri, ürünleri ve ilişkili moleküllerin dahil edildiği ileri ve kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.



7. KAYNAKLAR

- Abdallah Ismail, N., S. H. Ragab, A. Abd Elbaky, A. R. Shoeib, Y. Alhosary, and D. Fekry. 2011. 'Frequency of Firmicutes and Bacteroidetes in gut microbiota in obese and normal weight Egyptian children and adults', *Arch Med Sci*, 7: 501-7.
- Abdi, H., B. X. Zhao, M. Darbandi, M. Ghayour-Mobarhan, S. Tavallaie, A. A. Rahsepar, S. M. R. Parizadeh, M. Safariyan, M. Nemati, M. Mohammadi, P. Abbasi-Parizad, S. Darbandi, S. Akhlaghi, and G. A. A. Ferns. 2012. 'The Effects of Body Acupuncture on Obesity: Anthropometric Parameters, Lipid Profile, and Inflammatory and Immunologic Markers', *Scientific World Journal*.
- Akash, M. S. H., F. Fiayyaz, K. Rehman, S. Sabir, and M. H. Rasool. 2019. 'Gut Microbiota and Metabolic Disorders: Advances in Therapeutic Interventions', *Crit Rev Immunol*, 39: 223-37.
- Backhed, F., H. Ding, T. Wang, L. V. Hooper, G. Y. Koh, A. Nagy, C. F. Semenkovich, and J. I. Gordon. 2004. 'The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15718-23.
- Backhed, F., R. E. Ley, J. L. Sonnenburg, D. A. Peterson, and J. I. Gordon. 2005. 'Host-bacterial mutualism in the human intestine', *Science*, 307: 1915-20.
- Baldini, G., and K. D. Phelan. 2019. 'The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications', *Journal of Endocrinology*, 241: R1-R33.
- Basaran, Y., A. Taslipinar, S. E. Bolu, M. A. Saracli, T. Turker, C. Meric, C. Haymana, K. Baskoy, M. Dinc, F. Deniz, M. Yazici, A. Aydogdu, A. Sonmez, and O. Azal. 2014. 'Comparison of Gut Microbiota in Obese, Diabetic and Healthy Control Individuals', *Endocrine Reviews*, 35.
- Bell, C. G., A. J. Walley, and P. Froguel. 2005. 'The genetics of human obesity', *Nature Reviews Genetics*, 6: 221-34.
- Biagi, E., L. Nylund, M. Candela, R. Ostan, L. Bucci, E. Pini, J. Nikkila, D. Monti, R. Satokari, C. Franceschi, P. Brigidi, and W. De Vos. 2010. 'Through Ageing, and Beyond: Gut Microbiota and Inflammatory Status in Seniors and Centenarians', *Plos One*, 5.
- Bird, A. R., I. L. Brown, and D. L. Topping. 2000. 'Starches, resistant starches, the gut microflora and human health', *Curr Issues Intest Microbiol*, 1: 25-37.
- Bouloumie, A., T. Marumo, M. Lafontan, and R. Busse. 1999. 'Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells', *FASEB J*, 13: 1231-8.
- Bray, G. A. 2014. 'Medical treatment of obesity: The past, the present and the future', *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*, 28: 665-84.
- Bullo, M., P. Casas-Agustench, P. Amigo-Correig, J. Aranceta, and J. Salas-Salvado. 2007. 'Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet', *Public Health Nutrition*, 10: 1164-72.
- C, Cevik. 2001. *Medikal Akupunktur (Promat AS: Ankara)*.

- Cabioglu, M. T., N. Ergene, and U. Tan. 2006. 'The mechanism of acupuncture and clinical applications', *International Journal of Neuroscience*, 116: 115-25.
- Calle, E. E., and R. Kaaks. 2004. 'Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms', *Nat Rev Cancer*, 4: 579-91.
- Candela, M., F. Perna, P. Carnevali, B. Vitali, R. Ciati, P. Gionchetti, F. Rizzello, M. Campieri, and P. Brigidi. 2008. 'Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production', *International Journal of Food Microbiology*, 125: 286-92.
- Cani, P. D., S. Possemiers, T. Van de Wiele, Y. Guiot, A. Everard, O. Rottier, L. Geurts, D. Naslain, A. Neyrinck, D. M. Lambert, G. G. Muccioli, and N. M. Delzenne. 2009. 'Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability', *Gut*, 58: 1091-103.
- Caporaso, J. G., J. Kuczynski, J. Stombaugh, K. Bittinger, F. D. Bushman, E. K. Costello, N. Fierer, A. G. Pena, J. K. Goodrich, J. I. Gordon, G. A. Huttley, S. T. Kelley, D. Knights, J. E. Koenig, R. E. Ley, C. A. Lozupone, D. McDonald, B. D. Muegge, M. Pirrung, J. Reeder, J. R. Sevinsky, P. J. Tumbaugh, W. A. Walters, J. Widmann, T. Yatsunenko, J. Zaneveld, and R. Knight. 2010. 'QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data', *Nature Methods*, 7: 335-36.
- Cheng, K. J. 2014. 'Neurobiological mechanisms of acupuncture for some common illnesses: a clinician's perspective', *J Acupunct Meridian Stud*, 7: 105-14.
- 'Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health'. 1998. *Obes Res*, 6 Suppl 2: 51S-209S.
- Dao, M. C., and K. Clement. 2018. 'Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care', *European Journal of Internal Medicine*, 48: 18-24.
- De Filippo, C., D. Cavalieri, M. Di Paola, M. Ramazzotti, J. B. Poullet, S. Massart, S. Collini, G. Pieraccini, and P. Lionetti. 2010. 'Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 14691-96.
- Debedat, J., K. Clement, and J. Aron-Wisnewsky. 2019. 'Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery', *Curr Obes Rep*.
- Demir, O., N. Demir, and A. Bilgic. 2019. 'Determinants of obesity in Turkey: appetite or disease?', *Journal of Public Health-Heidelberg*, 27: 151-61.
- den Besten, G., K. van Eunen, A. K. Groen, K. Venema, D. J. Reijngoud, and B. M. Bakker. 2013. 'The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism', *Journal of Lipid Research*, 54: 2325-40.
- Duncan, S. H., G. E. Loble, G. Holtrop, J. Ince, A. M. Johnstone, P. Louis, and H. J. Flint. 2008. 'Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss', *Int J Obes (Lond)*, 32: 1720-4.
- Edgar, R. C. 2004. 'MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput', *Nucleic Acids Research*, 32: 1792-97.

- Edgar, 2013. 'UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads', *Nature Methods*, 10: 996-8.
- Edgar, R. C., B. J. Haas, J. C. Clemente, C. Quince, and R. Knight. 2011. 'UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection', *Bioinformatics*, 27: 2194-200.
- El-Mekawy, H. S., A. M. ElDeeb, and H. O. Ghareib. 2015. 'Effect of laser acupuncture combined with a diet-exercise intervention on metabolic syndrome in post-menopausal women', *J Adv Res*, 6: 757-63.
- Fang, S., M. Wang, Y. Zheng, S. Zhou, and G. Ji. 2017. 'Acupuncture and Lifestyle Modification Treatment for Obesity: A Meta-Analysis', *Am J Chin Med*, 45: 239-54.
- Fava, S. 2014. 'Glucagon-like peptide 1 and the cardiovascular system', *Curr Diabetes Rev*, 10: 302-10.
- Ferrer, M., C. Mendez-Garcia, D. Rojo, C. Barbas, and A. Moya. 2017. 'Antibiotic use and microbiome function', *Biochemical Pharmacology*, 134: 114-26.
- Gao, F., H. C. Xiang, H. P. Li, M. Jia, X. L. Pan, H. L. Pan, and M. Li. 2018. 'Electroacupuncture inhibits NLRP3 inflammasome activation through CB2 receptors in inflammatory pain', *Brain Behavior and Immunity*, 67: 91-100.
- Garcia-Vivas, J. M., C. Galaviz-Hernandez, F. Becerril-Chavez, F. Lozano-Rodriguez, A. Zamorano-Carrillo, C. Lopez-Camarillo, and L. A. Marchat. 2014. 'Acupoint catgut embedding therapy with moxibustion reduces the risk of diabetes in obese women', *J Res Med Sci*, 19: 610-6.
- Gauthier, K. I., and M. J. Krajcicek. 2013. 'Obesogenic environment: A concept analysis and pediatric perspective', *Journal for Specialists in Pediatric Nursing*, 18: 202-10.
- Han, J.S. 2001. *Opioid and antiopioid peptides: a model of yin-yang balance in acupuncture mechanism of pain modulation* (Springer-Verlag: Berlin).
- Hehemann, J. H., G. Correc, T. Barbeyron, W. Helbert, M. Czjzek, and G. Michel. 2010. 'Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota', *Nature*, 464: 908-12.
- Hooper, L. V., M. H. Wong, A. Thelin, L. Hansson, P. G. Falk, and J. I. Gordon. 2001. 'Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine', *Science*, 291: 881-4.
- Hsu, C. H., K. C. Hwang, C. L. Chao, J. G. Lin, S. T. Kao, and P. Chou. 2005. 'Effects of electroacupuncture in reducing weight and waist circumference in obese women: a randomized crossover trial', *International Journal of Obesity*, 29: 1379-84.
- <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>'. Accessed July 15, 2019.
- Human Microbiome Project, Consortium. 2012. 'Structure, function and diversity of the healthy human microbiome', *Nature*, 486: 207-14.
- Jackson, R. S., J. W. M. Creemers, S. Ohagi, M. L. RaffinSanson, L. Sanders, C. T. Montague, J. C. Hutton, and S. ORahilly. 1997. 'Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene', *Nature Genetics*, 16: 303-06.

- Johnson, K. V. A., and P. W. J. Burnet. 2016. 'Microbiome: Should we diversify from diversity?', *Gut Microbes*, 7: 455-58.
- Johnston, R. A., T. A. Theman, and S. A. Shore. 2006. 'Augmented responses to ozone in obese carboxypeptidase E-deficient mice', *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 290: R126-33.
- Kasai, C., K. Sugimoto, I. Moritani, J. Tanaka, Y. Oya, H. Inoue, M. Tameda, K. Shiraki, M. Ito, Y. Takei, and K. Takase. 2015. 'Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing', *Bmc Gastroenterology*, 15.
- Kim, B.H. 1963. 'The Kyungrak System', *J Jo Sun Med*, 108: 1-38.
- Kim, S. Y., I. S. Shin, and Y. J. Park. 2018. 'Effect of acupuncture and intervention types on weight loss: a systematic review and meta-analysis', *Obes Rev*, 19: 1585-96.
- Koren, O., J. K. Goodrich, T. C. Cullender, A. Spor, K. Laitinen, H. K. Backhed, A. Gonzalez, J. J. Werner, L. T. Angenent, R. Knight, F. Backhed, E. Isolauri, S. Salminen, and R. E. Ley. 2012. 'Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy', *Cell*, 150: 470-80.
- Korpela, K., H. J. Flint, A. M. Johnstone, J. Lappi, K. Poutanen, E. Dewulf, N. Delzenne, W. M. de Vos, and A. Salonen. 2014. 'Gut Microbiota Signatures Predict Host and Microbiota Responses to Dietary Interventions in Obese Individuals', *Plos One*, 9.
- Kumbhare, S. V., D. V. V. Patangia, R. H. Patil, Y. S. Shouche, and N. P. Patil. 2019. 'Factors influencing the gut microbiome in children: from infancy to childhood', *J Biosci*, 44.
- Kurdi, P., K. Kawanishi, K. Mizutani, and A. Yokota. 2006. 'Mechanism of growth inhibition by free bile acids in lactobacilli and bifidobacteria', *Journal of Bacteriology*, 188: 1979-86.
- Kwan, B. C. H., K. M. Chow, C. B. Leung, M. C. Law, P. M. S. Cheng, V. Yu, P. K. T. Li, and C. C. Szeto. 2013. 'Circulating bacterial-derived DNA fragments as a marker of systemic inflammation in peritoneal dialysis', *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28: 2139-45.
- Lynne, McFarland. 2000. 'A Review of the Evidence of Health Claims for Biotherapeutic Agents', *Microb Ecol Health Dis*, 12: 65-76.
- Lacey, J. M., A. M. Tershakovec, and G. D. Foster. 2003. 'Acupuncture for the treatment of obesity: a review of the evidence', *Int J Obes Relat Metab Disord*, 27: 419-27.
- Lau, D. C. W., B. Dhillon, H. Y. Yan, P. E. Szmitko, and S. Verma. 2005. 'Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis', *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 288: H2031-H41.
- Ley, R. E., F. Backhed, P. Turnbaugh, C. A. Lozupone, R. D. Knight, and J. I. Gordon. 2005. 'Obesity alters gut microbial ecology', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102: 11070-5.
- Ley, R. E., P. J. Turnbaugh, S. Klein, and J. I. Gordon. 2006. 'Microbial ecology - Human gut microbes associated with obesity', *Nature*, 444: 1022-23.

- Li, M., B. H. Wang, M. H. Zhang, M. Rantalainen, S. Y. Wang, H. K. Zhou, Y. Zhang, J. Shen, X. Y. Pang, M. L. Zhang, H. Wei, Y. Chen, H. F. Lu, J. Zuo, M. M. Su, Y. P. Qiu, W. Jia, C. N. Xiao, L. M. Smith, S. L. Yang, E. Holmes, H. R. Tang, G. P. Zhao, J. K. Nicholson, L. J. Li, and L. P. Zhao. 2008. 'Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 2117-22.
- Li, Y. Y., H. Hu, C. M. Liang, and H. Wang. 2014. '[Effects of electroacupuncture stimulation of "Daimai" (GB 26) on body weight, blood glucose and blood lipid levels in rats with metabolism syndrome]', *Zhen Ci Yan Jiu*, 39: 202-6.
- Loos, R. J. F., C. M. Lindgren, S. X. Li, E. Wheeler, J. H. Zhao, I. Prokopenko, M. Inouye, et al, Prostate Lung Colorectal Ovarian, KORA, Nurses' Health Study, Diabetes Genetics Initiative, SardiNIA Study, Wellcome Trust Case Control Consor, and FUSION. 2008. 'Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity', *Nature Genetics*, 40: 768-75.
- Lozupone, C. A., J. I. Stombaugh, J. I. Gordon, J. K. Jansson, and R. Knight. 2012. 'Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota', *Nature*, 489: 220-30.
- Mackowiak, P. A. 1982. 'The Normal Microbial-Flora', *New England Journal of Medicine*, 307: 83-93.
- Magoc, T., and S. L. Salzberg. 2011. 'FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies', *Bioinformatics*, 27: 2957-63.
- Maslowski, K. M., A. T. Vieira, A. Ng, J. Kranich, F. Sierro, D. Yu, H. C. Schilter, M. S. Rolph, F. Mackay, D. Artis, R. J. Xavier, M. M. Teixeira, and C. R. Mackay. 2009. 'Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43', *Nature*, 461: 1282-U119.
- Mazzoni, R., E. Mannucci, S. M. Rizzello, V. Ricca, and C. M. Rotella. 1999. 'Failure of acupuncture in the treatment of obesity: a pilot study', *Eat Weight Disord*, 4: 198-202.
- Mechanick, J. I., S. Zhao, and W. T. Garvey. 2018. 'Leptin, An Adipokine With Central Importance in the Global Obesity Problem', *Global Heart*, 13: 113-27.
- Mole, Peter. 2014. *Acupuncture for body, mind and spirit* (Singing Dragon: London ; Philadelphia).
- Montague, C. T., I. S. Farooqi, J. P. Whitehead, M. A. Soos, H. Rau, N. J. Wareham, C. P. Sewter, J. E. Digby, S. N. Mohammed, J. A. Hurst, C. H. Cheetham, A. R. Earley, A. H. Barnett, J. B. Prins, and S. ORahilly. 1997. 'Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans', *Nature*, 387: 903-08.
- Moreno, B., D. Bellido, I. Sajoux, A. Goday, D. Saavedra, A. B. Crujeiras, and F. F. Casanueva. 2014. 'Comparison of a very low-calorie-ketogenic diet with a standard low-calorie diet in the treatment of obesity', *Endocrine*, 47: 793-805.
- Muccioli, G. G., D. Naslain, F. Backhed, C. S. Reigstad, D. M. Lambert, N. M. Delzenne, and P. D. Cani. 2010. 'The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis', *Mol Syst Biol*, 6: 392.
- Nallu, A., S. Sharma, A. Ramezani, J. Muralidharan, and D. Raj. 2017. 'Gut microbiome in chronic kidney disease: challenges and opportunities', *Transl Res*, 179: 24-37.

- Neu, J. 2016. 'The microbiome during pregnancy and early postnatal life', *Semin Fetal Neonatal Med*, 21: 373-79.
- Neu, J. 2017. 'Dysbiosis in the Neonatal Period: Role of Cesarean Section', *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 88: 57-66.
- Odamaki, T., K. Kato, H. Sugahara, N. Hashikura, S. Takahashi, J. Z. Xiao, F. Abe, and R. Osawa. 2016. 'Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study', *Bmc Microbiology*, 16.
- Okorodudu, D. O., M. F. Jumean, V. M. Montori, A. Romero-Corral, V. K. Somers, P. J. Erwin, and F. Lopez-Jimenez. 2010. 'Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity: a systematic review and meta-analysis', *International Journal of Obesity*, 34: 791-99.
- Olszak, T., D. D. An, S. Zeissig, M. P. Vera, J. Richter, A. Franke, J. N. Glickman, R. Siebert, R. M. Baron, D. L. Kasper, and R. S. Blumberg. 2012. 'Microbial Exposure During Early Life Has Persistent Effects on Natural Killer T Cell Function', *Science*, 336: 489-93.
- Ondrejkcovicova, A., G. Petrovics, K. Svitkova, B. Bajtekova, and O. Bangha. 2016. 'Why acupuncture in pain treatment?', *Neuro Endocrinol Lett*, 37: 163-68.
- Oswal, A., and G. Yeo. 2010. 'Leptin and the control of body weight: a review of its diverse central targets, signaling mechanisms, and role in the pathogenesis of obesity', *Obesity (Silver Spring)*, 18: 221-9.
- Parnell, J. A., and R. A. Reimer. 2012. 'Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR:LA-cp rats', *Br J Nutr*, 107: 601-13.
- Pathak, V., P. R. Flatt, and N. Irwin. 2018. 'Cholecystokinin (CCK) and related adjunct peptide therapies for the treatment of obesity and type 2 diabetes', *Peptides*, 100: 229-35.
- Perry, R. J., L. Peng, N. A. Barry, G. W. Cline, D. Zhang, R. L. Cardone, K. F. Petersen, R. G. Kibbey, A. L. Goodman, and G. I. Shulman. 2016. 'Acetate mediates a microbiome-brain-beta-cell axis to promote metabolic syndrome', *Nature*, 534: 213-7.
- Pirola, L., and J. C. Ferraz. 2017. 'Role of pro- and anti-inflammatory phenomena in the physiopathology of type 2 diabetes and obesity', *World J Biol Chem*, 8: 120-28.
- Ramesh, N., S. Mortazavi, and S. Unniappan. 2016. 'Nesfatin-1 stimulates cholecystokinin and suppresses peptide YY expression and secretion in mice', *Biochem Biophys Res Commun*, 472: 201-8.
- Ramirez-Perez, O., V. Cruz-Ramon, P. Chinchilla-Lopez, and N. Mendez-Sanchez. 2017. 'The Role of the Gut Microbiota in Bile Acid Metabolism', *Annals of Hepatology*, 16: S21-S26.
- Razavi, A. C., K. S. Potts, T. N. Kelly, and L. A. Bazzano. 2019. 'Sex, gut microbiome, and cardiovascular disease risk', *Biol Sex Differ*, 10: 29.
- Reyes, A., M. Haynes, N. Hanson, F. E. Angly, A. C. Heath, F. Rohwer, and J. I. Gordon. 2010. 'Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers', *Nature*, 466: 334-8.

- Ridaura, V. K., J. J. Faith, F. E. Rey, J. Y. Cheng, A. E. Duncan, A. L. Kau, N. W. Griffin, V. Lombard, B. Henrissat, J. R. Bain, M. J. Muehlbauer, O. Ilkayeva, C. F. Semenkovich, K. Funai, D. K. Hayashi, B. J. Lyle, M. C. Martini, L. K. Ursell, J. C. Clemente, W. Van Treuren, W. A. Walters, R. Knight, C. B. Newgard, A. C. Heath, and J. I. Gordon. 2013. 'Gut Microbiota from Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice', *Science*, 341: 1079-U49.
- Ryan, K. K., V. Tremaroli, C. Clemmensen, P. Kovatcheva-Datchary, A. Myronovych, R. Karns, H. E. Wilson-Perez, D. A. Sandoval, R. Kohli, F. Backhed, and R. J. Seeley. 2014. 'FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy', *Nature*, 509: 183-+.
- S. Dowie, S. 2009. "Acupuncture-An Aid to Differential Diagnosis." In, 21 St. Louis: Churchill Livingstone,;
- Santos, J. G., B. C. Alves, T. O. Hammes, and V. Dall'Alba. 2019. 'Dietary interventions, intestinal microenvironment, and obesity: a systematic review', *Nutr Rev*.
- Sarao, L. K., and M. Arora. 2017. 'Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review', *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57: 344-71.
- Savage, D. C. 1970. 'Associations of indigenous microorganisms with gastrointestinal mucosal epithelia', *Am J Clin Nutr*, 23: 1495-501.
- Scheppach, W. 1994. 'Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function', *Gut*, 35: S35-8.
- Schienkiewitz, A., G. B. Mensink, and C. Scheidt-Nave. 2012. 'Comorbidity of overweight and obesity in a nationally representative sample of German adults aged 18-79 years', *BMC Public Health*, 12: 658.
- Schmidt, J. B., N. T. Gregersen, S. D. Pedersen, J. L. Arentoft, C. Ritz, T. W. Schwartz, J. J. Holst, A. Astrup, and A. Sjodin. 2014. 'Effects of PYY3-36 and GLP-1 on energy intake, energy expenditure, and appetite in overweight men', *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 306: E1248-56.
- Schiwartz, A., D. Taras, K. Schafer, S. Beijer, N. A. Bos, C. Donus, and P. D. Hardt. 2010a. 'Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects', *Obesity (Silver Spring)*, 18: 190-5.
- Seganfredo, F. B., C. A. Blume, M. Moehlecke, A. Giongo, D. S. Casagrande, J. V. N. Spolidoro, A. V. Padoin, B. D. Schaan, and C. C. Mottin. 2017. 'Weight-loss interventions and gut microbiota changes in overweight and obese patients: a systematic review', *Obes Rev*, 18: 832-51.
- Seidell, J. C., and J. Halberstadt. 2015. 'The global burden of obesity and the challenges of prevention', *Ann Nutr Metab*, 66 Suppl 2: 7-12.
- Si, Y. C., W. N. Miao, J. Y. He, L. Chen, Y. L. Wang, and W. J. Ding. 2018. 'Regulating Gut Flora Dysbiosis in Obese Mice by Electroacupuncture', *Am J Chin Med*: 1-17.
- Soh, K. S. 2009. 'Bonghan circulatory system as an extension of acupuncture meridians', *J Acupunct Meridian Stud*, 2: 93-106.
- Suzuki, Y., K. Ikeda, K. Sakuma, S. Kawai, K. Sawaki, T. Asahara, T. Takahashi, H. Tsuji, K. Nomoto, R. Nagpal, C. X. Wang, S. Nagata, and Y. Yamashiro. 2017. 'Association between Yogurt Consumption and Intestinal Microbiota in Healthy Young Adults Differs by Host Gender', *Frontiers in Microbiology*, 8.

- Tang, W. H. W., T. Kitai, and S. L. Hazen. 2017. 'Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease', *Circulation Research*, 120: 1183-96.
- Tap, J., S. Mondot, F. Levenez, E. Pelletier, C. Caron, J. P. Furet, E. Ugarte, R. Munoz-Tamayo, D. L. E. Paslier, R. Nalin, J. Dore, and M. Leclerc. 2009. 'Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core', *Environmental Microbiology*, 11: 2574-84.
- Topping, D. L., and P. M. Clifton. 2001. 'Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides', *Physiological Reviews*, 81: 1031-64.
- Turnbaugh, P. J., M. Hamady, T. Yatsunenko, B. L. Cantarel, A. Duncan, R. E. Ley, M. L. Sogin, W. J. Jones, B. A. Roe, J. P. Affourtit, M. Egholm, B. Henrissat, A. C. Heath, R. Knight, and J. I. Gordon. 2009. 'A core gut microbiome in obese and lean twins', *Nature*, 457: 480-4.
- Turnbaugh, P. J., R. E. Ley, M. A. Mahowald, V. Magrini, E. R. Mardis, and J. I. Gordon. 2006. 'An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest', *Nature*, 444: 1027-31.
- Ulett, G. A., S. P. Han, and J. S. Han. 1998. 'Electroacupuncture: Mechanisms and clinical application', *Biological Psychiatry*, 44: 129-38.
- Ural, D., M. Kilickap, H. Goksuluk, D. Karaaslan, M. Kayikcioglu, N. Ozer, C. Barcin, M. B. Yilmaz, A. Abaci, S. Sengul, T. Arinsoy, Y. Erdem, Y. Sanisoglu, M. Sahin, and L. Tokgozoglu. 2018. 'Data on prevalence of obesity and waist circumference in Turkey: Systematic review, meta-analysis and meta-regression of epidemiological studies on cardiovascular risk factors', *Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi-Archives of the Turkish Society of Cardiology*, 46: 577-90.
- Vecchie, A., F. Dallegri, F. Carbone, A. Bonaventura, L. Liberale, P. Portincasa, G. Fruhbeck, and F. Montecucco. 2018. 'Obesity phenotypes and their paradoxical association with cardiovascular diseases', *European Journal of Internal Medicine*, 48: 6-17.
- Venkataraman, A., J. R. Sieber, A. W. Schmidt, C. Waldron, K. R. Theis, and T. M. Schmidt. 2016. 'Variable responses of human microbiomes to dietary supplementation with resistant starch', *Microbiome*, 4.
- Vernay, M. 1987. 'Origin and utilization of volatile fatty acids and lactate in the rabbit: influence of the faecal excretion pattern', *Br J Nutr*, 57: 371-81.
- Vodyanoy, V., O. Pustovyy, L. Globa, and I. Sorokulova. 2015. 'Primo-Vascular System as Presented by Bong Han Kim', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Wang, H. Y., Q. Wang, C. M. Liang, M. X. Su, X. Wang, H. Li, H. Hu, and H. J. Fang. 2019. 'Acupuncture Regulating Gut Microbiota in Abdominal Obese Rats Induced by High-Fat Diet', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Wang, W. Y., F. X. Liang, A. Q. Song, Q. Huang, and R. Chen. 2019. '[Current situation and thinking on the intestinal microflora regulation with acupuncture and moxibustion]', *Zhen Ci Yan Jiu*, 44: 71-4.
- Wei, D., L. Xie, Z. Zhuang, N. Zhao, B. Huang, Y. Tang, S. Yu, Q. Zhou, and Q. Wu. 2019. 'Gut Microbiota: A New Strategy to Study the Mechanism of

- Electroacupuncture and Moxibustion in Treating Ulcerative Colitis', *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019: 9730176.
- Weinsier, R. L., G. R. Hunter, A. F. Heini, M. I. Goran, and S. M. Sell. 1998. 'The etiology of obesity: relative contribution of metabolic factors, diet, and physical activity', *Am J Med*, 105: 145-50.
- Wenhe, Z., and S. Yucun. 1981. 'Change in Levels of Monoamine Neurotransmitters and Their Main Metabolites of Rat-Brain after Electric Acupuncture Treatment', *International Journal of Neuroscience*, 15: 147-49.
- Wolever, T. M. S., F. Brighenti, D. Royall, A. L. Jenkins, and D. J. A. Jenkins. 1989. 'Effect of Rectal Infusion of Short Chain Fatty-Acids in Human-Subjects', *American Journal of Gastroenterology*, 84: 1027-33.
- Xu, H., G. T. Barnes, Q. Yang, G. Tan, D. Yang, C. J. Chou, J. Sole, A. Nichols, J. S. Ross, L. A. Tartaglia, and H. Chen. 2003. 'Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance', *J Clin Invest*, 112: 1821-30.
- Xu, Z., R. Li, C. Zhu, and M. Li. 2013. 'Effect of acupuncture treatment for weight loss on gut flora in patients with simple obesity', *Acupunct Med*, 31: 116-7.
- Yan, H., E. Aziz, G. Shillabeer, A. Wong, D. Shanghavi, A. Kermouni, M. Abdel-Hafez, and D. C. Lau. 2002. 'Nitric oxide promotes differentiation of rat white preadipocytes in culture', *J Lipid Res*, 43: 2123-9.
- Yatsunencko, T., F. E. Rey, M. J. Manary, I. Trehan, M. G. Dominguez-Bello, M. Contreras, M. Magris, G. Hidalgo, R. N. Baldassano, A. P. Anokhin, A. C. Heath, B. Warner, J. Reeder, J. Kuczynski, J. G. Caporaso, C. A. Lozupone, C. Lauber, J. C. Clemente, D. Knights, R. Knight, and J. I. Gordon. 2012. 'Human gut microbiome viewed across age and geography', *Nature*, 486: 222-+.
- Yu, Y. H., C. Deng, and X. F. Huang. 2009. 'Obese reversal by a chronic energy restricted diet leaves an increased Arc NPY/AgRP, but no alteration in POMC/CART, mRNA expression in diet-induced obese mice', *Behavioural Brain Research*, 205: 50-56.
- Zhang, R. Q., J. Tan, F. Y. Li, Y. H. Ma, L. X. Han, and X. L. Yang. 2017. 'Acupuncture for the treatment of obesity in adults: a systematic review and meta-analysis', *Postgraduate Medical Journal*, 93: 743-51.
- Zhao, J. 2017. '[Interpretation of acupuncture theory from acupuncture application]', *Zhongguo Zhen Jiu*, 37: 1115-8.
- Zhao, M., Z. Liu, and J. Su. 2000. 'The time-effect relationship of central action in acupuncture treatment for weight reduction', *J Tradit Chin Med*, 20: 26-9.
- Zhuang, Y., J. J. Xing, J. Li, B. Y. Zeng, and F. R. Liang. 2013. 'History of Acupuncture Research', *Neurobiology of Acupuncture*, 111: 1-23.