

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI YAŞ GRUPLARINDA HACAMAT YAPTIRAN  
KADINLARDA OKSİDATİF STRES İLE İLGİLİ miRNA'LARIN  
ARAŞTIRILMASI**

BERİVAN UNAT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. F. Hümeyra YERLİKAYA AYDEMİR

KONYA 2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI YAŞ GRUPLARINDA HACAMAT YAPTIRAN  
KADINLARDA OKSİDATİF STRES İLE İLGİLİ miRNA'LARIN  
ARAŞTIRILMASI**

BERİVAN UNAT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. F. Hümeyra YERLİKAYA AYDEMİR

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 181318002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2018

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **BERİVAN UNAT**' ın "Farklı Yaş Gruplarında Hacamat Yaptıran Kadınlarda Oksidatif Stres ile İlgili miRNA'ların Araştırılması " başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya, Türkiye/ 25 Eylül 2018

Tez Danışmanı

Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

İmzası

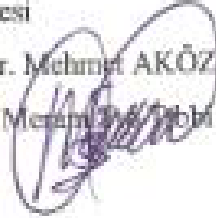


Jüri Üyesi

Prof. Dr. Melahat AKÖZ

N.E.Ü. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD

İmzası

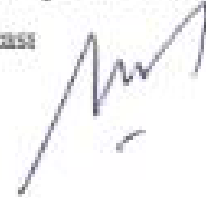


Jüri Üyesi

Doç. Dr. Sedat Abuşoğlu

S.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD

İmzası



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 17/9/2017 tarih ve 18/24. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "*The Investigation of miRNAs Related to Oxidative Stress in Women Who Have Cupping Therapy (Hijamat) in Different Age Groups*" by "Berivan UNAT" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master of Science* in the Department of "Medical Biochemistry", Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan


Konya, Turkey / 25 September 2018

Principal Advisor

Doç. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Signature



Examination Committee Member

Prof. Dr. Mehmet AKÖZ

N.E.Ü. Meram Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD

Signature



Examination Committee Member

Doç. Dr. Sedat Abuşoğlu

S.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD

Signature



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signature

## **BEYANAT**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

25 Eylül 2018

Berivan UNAT

10.09.2018

Turnitin

[Görevler](#)  
[Öğrenciler](#)  
[Not Defteri](#)  
[Kütüphaneler](#)  
[Takvim](#)  
[Tartışma](#)  
[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklanabilir durumda olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

## FARKLI YAŞ GRUPLARINDA HACAMAT YAPTIRAN KADINLARDA...

Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder Çevrimiçi Derecelendirme Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

[Sil](#) [İndir](#) [Şuraya taşı...](#)

<input type="checkbox"/>	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
<input type="checkbox"/>	Berivan Unat	FARKLI YAŞ GRUPLARINDA HACAMAT YAPTIRAN ...	%14 %14	11%	8%	6%	--	--	ödev indir	999467838	10-Eyl-2018

## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca engin bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, tez çalışmam sırasında önerileri ve yardımlarıyla tezimin şekillenmesini sağlayan saygıdeğer tez danışman hocam Doç. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR'e,

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Merkezi Anabilim Dalı'ndaki Dr. Öğr. Gör. Hayriye ALP hocama ve özellikle kan toplama esnasında yardımlarını esirgemeyen hemşire Arife SOYLUOĞLU ve GETAT polikliniği sekreteri Demet ALTINOĞLU'na ayrıca çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Laboratuvarı tüm asistan ve çalışanlarına,

Çalışmalarında beni her zaman destekleyen ve tez çalışmamda da bana desteğini esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Organik Kimya Ana Bilim Dalı'ndaki Arş. Gör. Mehmet ERŞATIR'a ve hayatımın her döneminde yanımda olan benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürler ve sevgilerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	<i>i</i>
<i>Tez Onay</i> .....	<i>ii</i>
<i>Tez Beyanatı</i> .....	<i>v</i>
<i>Önsöz</i> .....	<i>vi</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>vii</i>
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i> .....	<i>ix</i>
<i>Şekiller Listesi</i> .....	<i>x</i>
<i>Grafikler Listesi</i> .....	<i>xi</i>
<i>Tablolar Liste</i> .....	<i>xii</i>
<i>Özet</i> .....	<i>xiii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>xiv</i>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. YAŞLANMA VE YAŞLILIK</b> .....	<b>3</b>
2.1. <i>Yaşlanma ve Yaşlılık Nedir?</i> .....	3
2.2. <i>Yaşlanmaya Neden Olan Mekanizmalarla İlişkili Teoriler</i> .....	4
2.2.1.a. <i>Mitokondriyal Hasar Teorisi</i> .....	5
2.2.1.b. <i>Epifiz-Melatonin Teorisi</i> .....	5
2.2.2. <i>Telomer Kısalması Teorisi</i> .....	6
2.2.3. <i>Yaşlılıkta Oksidatif Stres</i> .....	7
<b>3. HACAMAT</b> .....	<b>7</b>
3.1. <i>Tarihten Günümüze Hacamat</i> .....	7
3.2. <i>Hacamat Faydaları Nelerdir ve Hacamat İşlemi Nasıl Yapılır?</i> .....	11

3.3. Hacamatla Kupa Tedavisi Etki Mekanizmaları ve Yan Etkileri.....	13
<b>4. OKSİDATİF STRES.....</b>	<b>15</b>
<b>5. miRNA'lar.....</b>	<b>20</b>
5.1. miRNA Yapısı ve Özellikleri.....	20
5.2. miRNA'ların Oluşumu ve Fonksiyonları.....	21
5.3. miR-21, miR-34a ve miR-200a'nın Oksidatif Streste Rollerini.....	24
<b>6. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>28</b>
6.1. Gereç.....	28
6.1.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması.....	28
6.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler.....	29
6.1.2.a. MDA ve GSH ELISA Kit İçeriği.....	29
6.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçlar.....	29
6.2. Yöntem.....	30
6.2.1. Plazma Eldesi ve miRNA Analizi.....	30
6.2.2. miRNA İzolasyonu.....	31
6.2.3. miRNA'lardan cDNA Eldesi.....	31
6.2.4. Real Time PCR.....	33
6.2.5. MDA Ölçümü.....	36
6.2.6. Glutasyon Ölçümü (GSH).....	37
6.3. İstatistiksel Analiz.....	37
<b>7. BULGULAR.....</b>	<b>38</b>
<b>8. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>47</b>
<b>9. KAYNAKLAR.....</b>	<b>54</b>

## **KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ**

ARE: Antioksidan Yanıt Elementi

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

GSH: Glutasyon

MDA: Malondialdehid

mRNA: Mesajcı RNA

nt: Nükleotit

PARS: Poli- ADP (poli-Adenozin difosfat)

Pre-miRNA: Prekürsör miRNA

Pri-miRNA: Primer miRNA

RNA pol-II: RNA polimeraz-II

RNA: Ribo Nükleik Asit

ROS: Serbest Oksijen Radikalleri

SIRT: Silent information regulator

Slc25a3: Mitokondriyal membran fosfat taşıyıcısı

SOD: Süperoksit dismutaz

TERT: Telomeraz Ters Transkriptaz

TRF: Telomerik Tekrar Bağ Faktörü

UTR: Translasyon olmayan bölge (Untranslated Region)

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : Yaşlanma ve hücrel yaşlanma sürecine giren faktörler.....	4
Şekil 2: Telomerin yapısı.....	6
Şekil 3: Hacamat işlemi.....	12
Şekil 4: Serbest radikallere kaynaklık eden faktörler.....	17
Şekil 5: Vücutta bulunan önemli serbest radikaller ve hasarları.....	17
Şekil 6: Oksidan-Antioksidan Denge.....	18
Şekil 7: Brassica oleracea 'dan bir pre-microRNA'nın sap-ilmik yapısı.....	20
Şekil 8: miRNA biyogenezi.....	23
Şekil 9: Hücrel yaşlanma ve yaşlanmayı çevreleyen olaylar sırasında görülen miRNA ekspresyonundaki değişiklikler.....	24

## **GRAFİKLER LİSTESİ**

Grafik 1: miR-21 aplikasyon eğrisi.....	35
Grafik 2: miR-34a aplikasyon eğrisi.....	35
Grafik 3: miR-200a aplikasyon eğrisi.....	36
Grafik 4: Gruplara ait plazma miR-21 düzeyleri.....	44
Grafik 5: Gruplara ait plazma miR-34a düzeyleri.....	45
Grafik 6: Gruplara ait plazma miR-200a düzeyleri.....	45
Grafik 7: Gruplara ait serum MDA düzeyleri.....	46
Grafik 8: Gruplara ait serum GSH düzeyleri.....	46

## **TABLolar LİSTESİ**

Tablo 1: Poly (A) mix içeriği.....	32
Tablo 2: Poly (A) ‘nın bağlanması için gereken süre.....	32
Tablo 3: cDNA mix 1’in içeriği.....	32
Tablo 4: cDNA mix 2’nin içeriği.....	33
Tablo 5: BrightGreen Mastermix ve SNORD44 primer mastermix içeriği.....	34
Tablo 6: Real time PCR ısı protokol.....	34
Tablo 7: Grup 1 ve Grup 2’nin demografik özellikleri.....	38
Tablo 8: Grup 1 ve Grup 2’nin biyokimyasal parametrelerinin seviyeleri.....	39
Tablo 9: Gruplara ait plazma miRNA düzeyleri.....	40
Tablo 10: Gruplara ait glutatyon ve MDA düzeyleri.....	41
Tablo 11: Grup 1’e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar.....	41
Tablo 12: Grup 2’ye ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar.....	42
Tablo 13: Grup-3’e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar.....	43
Tablo 14: Grup-4’e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar.....	44

## ÖZET

### T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

#### Farklı Yaş Gruplarında Hacamat Yaptıran Kadınlarda Oksidatif Stres İle İlgili miRNA'ların Araştırılması

Berivan Unat

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2018

**Amaç:** Çalışmamızın amacı hacamat yaptıran farklı yaşlardaki kadınlardan, eş zamanda alınan kupa kanı ve venöz kanda oksidatif stres ile ilişkili olduğu düşünülen miR-21, miR-34a ve miR-200'ün ekspresyon seviyelerini ve oksidatif stresin biobelirteci olarak tanımlanan malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeylerini tespit etmektir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışma Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Merkezine başvuran hacamat yaptırmak isteyen kadın katılımcılar üzerinde gerçekleştirildi. Katılımcılar 20-45 yaş aralığında 30 kadın ve 45-75 yaş aralığında 30 kadın, toplamda 60 kadından oluşturuldu. Çalışmamızda gruplandırma şu şekilde yapıldı; grup 1, venöz kanında 25-45 yaş arası kadınlar, grup 2, venöz kanında 45-75 yaş arası kadınlar, grup 3, hacamat kanında 25-45 yaş arası kadınlar, grup 4, hacamat kanında 45-75 yaş arası kadınlar. Çalışmaya dahil edilen katılımcılardan kâhil noktası hacamat kanı ve rutin amaçla alınan venöz kanı alındı. Hem hacamat hem venöz kandan elde edilen serum örneklerinde MDA ve Glutatyon ölçümleri ELISA yöntemi ile yapıldı. Yine hem hacamat hem venöz kandan elde edilen plazma örneklerinde ise miR-21, miR-34a ve miR-200 ölçümleri Real Time PCR yöntemi ile yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda yapılan ANOVA testi sonucuna göre grupların plazma miR-21 ( $p<0.001$ ), miR-34a ( $p<0.001$ ) ve plazma miR-200a ( $p<0.029$ ) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. Grup 2'e ait plazma miR-21 düzeyi grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yine, grup 3'e ait plazma miR-21 düzeyi grup 4 ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Grup 1'e ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Grup 2'ye ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Grup 3'e ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Grup 1'e ait plazma miR-200a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bunun yanında, gruplar arasında serum MDA ve glutatyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçların mevcut bilgilere önemli katkı sağladığını, miRNA'ların biyolojik aktivitesinin ve fonksiyonlarının tanımlanmasına yardımcı olacağını ve hacamatın özellikle oksidatif stres kaynaklı hastalıklarda terapötik rolünün olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar Sözcükler:** Hacamat; miRNA; Oksidatif Stres.

## ABSTRACT

T. C. NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The Investigation of miRNAs Related to Oxidative Stress in Women Who Have Cupping Therapy (Hijamat) in Different Age Groups

Berivan Unat

Department of Medical Biochemistry

MASTER'S THESIS / KONYA-2018

**Objective:** The aim of this study was to determine the levels of expression of miR-21, miR-34a and miR-200, which are thought to be associated with oxidative stress and the levels of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) which are known as bio-markers of oxidative stress in the cupping blood and venous blood taken from women of different ages.

**Material and Method:** This study was carried out on the women participants who wanted to have cupping therapy, applied to Konya Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Traditional and Complementary Medical Center. Participants included a total of 60 individual; 30 women in the 20-45 age range and 30 women in the 45-75 age. In our study, grouping was done as follows; group 1, in the venous blood of women aged 25-45 years, group 2, in venous blood of women aged 45-75 years, group 3, in cupping therapy blood of women aged 25-45 years, group 4, in cupping blood of women aged 45-75 years. The blood samples were collected from the cupping blood of participants and venous blood was taken for routine purposes. MDA and Glutathione measurements were performed by ELISA method in serum samples obtained from both cupping and venous blood. Also miR-21, miR-34a and miR-200 measurements were performed by Real Time PCR method in plasma samples obtained from cupping and venous blood.

**Results:** According to the ANOVA test performed in our study, a statistically significant difference was found between the plasma miR-21 ( $p < 0.001$ ), miR-34a ( $p < 0.001$ ) and plasma miR-200a ( $p < 0.029$ ) levels of the groups. When plasma miR-21 level of group 2 compared with group 4, the plasma miR-21 level of group 2 was significantly lower than group 4 ( $p < 0.05$ ). Plasma miR-21 level of group 3 was statistically significantly lower than group 4 ( $p < 0.001$ ). Plasma miR-34a levels of group 1 were significantly lower than group 4 ( $p < 0.001$ ). Plasma miR-34a levels of group 2 were significantly lower than group 4 ( $p < 0.001$ ). Plasma miR-34a levels of group 3 were significantly lower than group 4 ( $p < 0.01$ ). Plasma miR-200a levels in group 1 were significantly lower than group 4 ( $p < 0.05$ ). In addition, no statistically significant difference was found between the groups in terms of serum MDA and glutathione levels.

**Conclusion:** We believe that the results obtained, make a significant contribution to current information, will help to identify the biological activity and functions of miRNAs and cupping therapy has a therapeutic role especially in oxidative stress-induced diseases.

**Key words:** Cupping therapy; miRNA; Oxidative Stress

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Antik çağlardan süre gelen, tamamlayıcı ve geleneksel tedavi, insan sağlığı için büyük bir öneme sahiptir (Okumuş, 2016). Kökleri dört bin yıl öncesine uzanan kupa, hacamat ve sülük ile tedavi tamamlayıcı ve geleneksel tedavi uygulamalarıdır. Modern Tıp, Cumhuriyetin ilanı ve sağlık alanındaki yenilikler ile birlikte tamamlayıcı ve geleneksel tedavi, toplumda sadece halkın uyguladığı tedavi olarak sürdürülmüştür (Kılınç, 2015). Tarih boyunca kan alma ile tedavi yöntemi olan bu uygulamalar, en etkili tedavi olarak kabul görülmektedir (Akdağ, 2014). Son yıllarda tamamlayıcı ve geleneksel tedavi yöntemi olan vücuttan kan alma yöntemi, yine popüler hale gelerek uygulanmaktadır (Okumuş, 2016).

Tamamlayıcı ve geleneksel tedavi yöntemi olan hacamat Hz.Muhammed (sav) döneminde övülmüştür. Hacamat, hastalıkların tedavisinde önerilmiş, özellikle İslam hekimlerince tercih edilen bir tedavi yöntemidir (Kılınç, 2015). İslamî gelenekte kan aldırma yöntemi “hacamat” Arapça kökenli olup “emmek” anlamına gelmektedir. Hacamatın çeşitli yöntemleri olup vücudun farklı, belirli bölgelerine uygulanan, vücuttaki kirli ve fazla kanı temizleme yöntemidir. Vücut içerisindeki kirli kan ve kan fazlalığı birçok hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalıkları gidermek amacıyla fazla ve kirli kan vücuttan atılması gerekmektedir (Akdağ, 2014).

Mitokondride ATP sentezi sırasında serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Bilinen başlıca serbest oksijen radikalleri hidrojen peroksit, süper oksit anyonu, hidroksil radikali, nitrik oksit, lipid peroksitlerdir (Cankurtaran, 2005). Metabolizma sonucunda meydana gelen serbest oksijen radikalleri sağlıklı bireylerde vücudun savunma mekanizması olan antioksidan sistem ile uzaklaştırılmaktadır (Kurt, 2008). Oksijen radikalleri ve antioksidan savunma mekanizması sağlıklı bireylerde tam denge halinde çalışmaktadır. Bu dengenin bozulması ile vücutta oksijen radikallerinin artması sonucu ortaya çıkan duruma “oksidatif stres” denir (Kurt, 2008). Vücutta artan oksijen radikalleri DNA, protein, lipidler ve neredeyse tüm yapılarıdaki moleküllere saldırılmaktadır. DNA molekül yapısının oksidasyonu ile genetik mesenger DNA hasarı, hücre bölünmesinin durması, kontrolsüz büyüme, hücre membran hasarı ve ateroskleroz hızlanması gibi vücutta birçok metabolik hasar gerçekleşmektedir (Cankurtaran, 2005). Oksidatif stres ve mikroRNA (miRNA)'lar,

biyolojik molekülleri etkilemesinden kaynaklı yaşlanma ve/veya yaşlılıkta önemli bir olgu olarak düşünülmektedir (Kurt, 2008).

miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen ifadesini düzenleyen, protein kodlamayan, ortalama 18-24 nükleotid uzunluğunda RNA molekülleridir (Saydam ve ark., 2010; Yaroğlu, 2011; Öner, 2012). miRNA'lar hedef genlerin ifadelerini baskılayarak, protein miktarının azalmasına neden olmaktadır. Vücudumuzdaki genlerin miRNA'lar tarafından kontrol edildiği düşünülmektedir. Yaşlanma ve hastalıkların oluşumunda, miRNA'lar büyük öneme sahiptir. Ayrıca miRNA'lar hücrel yaşlanmayı tetikleyen süreçte, oksidatif stres, mitokondriyal hasar, telomeraz kısalması ve daha birçok olayda rol oynamaktadır (Şar, 2013). Oksidatif stres ile vücutta artan serbest oksijen radikallerinin vücuttan kan aldırma yöntemi, hacamat ile dengelenebileceği düşünülmektedir (Okumuş, 2016).

Bu bağlamda yapılan tez çalışmasının amacı hacamat yaptıran farklı yaş grupları kadınlardan, eş zamanda alınan kupa kanı ve venöz kanda oksidatif stres ile ilişkili olduğu düşünülen miR-21, miR-34a ve miR-200'ün ekspresyon seviyelerini tespit etmektir. Böylece elde edilen sonuçların mevcut bilgilere katkı sağlayacağı ve miRNA'ların biyolojik aktivitesinin ve fonksiyonlarının tanımlanmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

## 2.YAŞLANMA VE YAŞLILIK

### 2.1.Yaşlanma Yaşlılık Nedir?

Organizmada canlılık birimi olan hücrenin metabolik ve fizyolojik ihtiyacı karşılanmadığı zaman veya yetersiz kaldığı durumda yaşam döngüsü yaşlanma ve ölümlle sonuçlanmaktadır (Akbulut ve ark., 2014). Yaşlanma süreci, her canlıda görülen ve genetik bir programla düzenlenen, dış faktörlerin etkisiyle tüm işlevlerin yavaşlamasına neden olan, yapısal ve işlevsel değişimlerle ölüme giden olayların toplamıdır. Yaşlanma veya yaşlılık, zamana bağlı aşamalı değişim sürecidir ve her canlı türü için normal, kaçınılmaz bir süreçtir. Evrensel bir süreç olarak da tanımlanmaktadır (Cankurtaran, 2005; Kurt, 2008).

Genel olarak, organizmanın zamanla, yavaş yavaş dış uyarılara yeterince uyum gösterememesidir. Yaşlanma canlının her noktasında görülmektedir. Saçların ağarması, görmenin zayıflaması, hareketlerin yavaşlaması gibi (Kurt, 2008). Tüm hücreler kaçınılmaz şekilde ölüme doğru ilerliyorken, birçok hastalık yaşlanma sürecini hızlandırmaktadır. Huntington hastalığı, alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı cilt hastalıkları, kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi hastalıklar düzensiz yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir (Williams ve ark., 2016).

Yaşlılık algılama, bellek ve yaratıcılık yeteneklerinin azalması veya yitirilmesi gibi sorunları beraberinde getirmektedir (Kurt, 2008).

Bu sorunlarla birlikte;

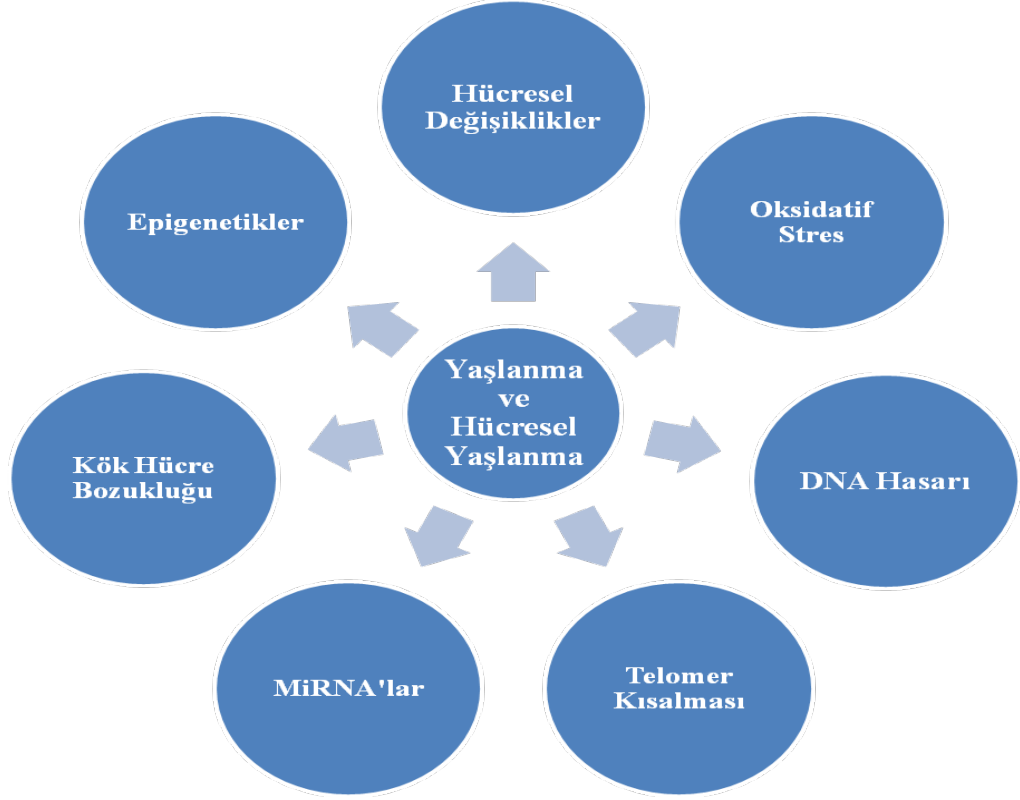
- İskelet yapısı bozulmakta, kemikler incelmekte ve kırılma eğilimindedir
- Damarlarda sertlik, eklemlerde dejenerasyon oluşmaktadır
- Refleksler yavaşlamaktadır
- Boşaltım olayları, yürüme ve koşma yavaşlamaktadır
- Üreme faaliyetleri, hormon metabolizması durmaktadır
- Kan damarları, sinirler ve vücut derisi elastikiyetini yitirmektedir
- Bellek kaybı ve unutkanlık hızla başlamaktadır (Kurt, 2008).

Henüz tek bir teori ile yaşlanma süreci açıklanamamaktadır (Akbulut ve ark., 2014). Yaşlanma, geniş kapsamlı ve çok önemli bir konu olmasına rağmen şimdiye kadar pasif bir süreç olmakla birlikte, yeni gelişmekte günümüzde yeni ele alınan bir konudur (Şar, 2013).

## 2.2.Yaşlanmaya Neden Olan Mekanizmalarla İlişkili Teoriler

Yaşlanma temel özellik ve prensiplerini açıklamaya çalışan biyolojik mekanizmalar genellikle teori seviyesindedir, neredeyse hiçbiri tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir (Kurt, 2008).

Şekil 1: Yaşlanma ve hücrel yaşlanma sürecine giren faktörler (Willims ve ark., 2016).



Şekil 1’de yaşlanma ve hücrel yaşlanma sürecine etki eden bazı faktörler gösterilmektedir. Ele alacağımız yaşlanmaya neden olan mekanizmalar ve ilgili başlıca teoriler;

- 1) Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller İle İlişkili Olan
  - a) Mitokondriyal Hasar Teorisi
  - b) Epifiz-Melatonin Teorisi
- 2) Telomer Kısalması Teorisi
- 3) Oksidatif Stres (Yaşlılıkta Oksidatif Stres)

### *2.2.1.a. Mitokondriyal Hasar Teorisi*

Yaşlanma ile birlikte solunumsal enzim aktiviteleri azalmaktadır. Böylece elektron transport zincirinde elektron artışı gözlenmektedir. Elektron artışı akışına karşılık mitokondride reaktif oksijen türlerinde de artış meydana gelmektedir. Mitokondriyal DNA'da artan reaktif oksijen türleri oksidatif hasara karşı duyarlıdır (Cankurtaran, 2005). İlerleyen yaş ile beraberinde beyinde, diyaframda, çizgili kaslarda ve kalp kasında, mitokondriyal DNA serbest oksijen radikal hasarı gelişmektedir. Bu hasarın kalp kasında 129 yaştan daha ileri bir yaşla bağdaşmadığı hesaplanmaktadır. Sadece dokularda değil Parkinson, Alzheimer ve ilerleyen yaşla hareket bozukluklarında da mitokondriyal solunum hasarı artmaktadır. Lakin kalori kısıtlaması ile mitokondriyal solunum hasarının azaldığı görülmektedir (Kurt, 2008).

### *2.2.1.b. Epifiz – Melatonin Teorisi*

Nöroendokrin bir organ olan pineal bez (epifiz) beyinde bulunmaktadır. Dış çevrenin aydınlık veya karanlık oluşuna göre organizmanın başta endokrin sistemi olmak üzere birçok sistemin fonksiyonundaki değişiklikleri epifiz düzenlemektedir (Kurt, 2008).

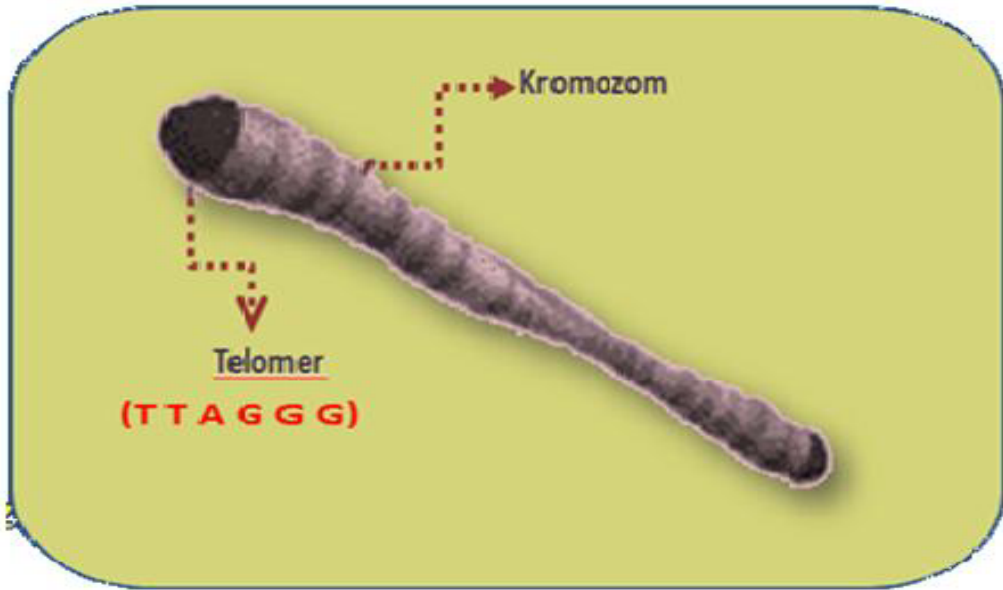
Melatonin, sirkadiyen ritimler, ruhsal durum, uyku, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok metabolik olayı düzenlediğine dair bulgulara sahiptir (Kurt, 2008). Yaşlanma ile gece yarısı melatonin düzeyi azalır, melatonin eksikliği yaşlanmayı hızlandırdığı düşünülmektedir. Melatonin serbest radikallere bağlı hücre hasarını azaltarak yaşlanma karşıtı olarak rol oynamaktadır (Cankurtaran, 2005).

Melatonin güçlü bir serbest radikal süpürücü ajan olmasından hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda yer almaktadır. Melatonin makro molekülleri özellikle DNA'yı aşırı toksik özellikli hidroksil radikalleri ve diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan koruyabilmektedir. DNA hasarına neden olan radikaller hücre içinde nükleer enzim olan poli-ADP (PARS) riboz sentazı aktif hale getirmektedir. DNA tek zincirinin kırılması ile poli-ADP (PARS) riboz sentaz enzimi aktive olmaktadır. Bu enzim hücrelerde şiddetli enerji tüketimi ile hücre ölümüne sebep olmaktadır. Melatonin ise bütün bu olumsuzlukları engelleyen maddedir (Kurt, 2008).

### 2.2.2. Telomer Kısalması Teorisi

Telomer, kromozomun fiziksel yapısını koruyan her bir kromozomun iki ucunda bulunan ve kromozom uçlarında altı tane bazın tekrarından oluşan DNA dizinlerdir (Cankurtaran, 2005; Kurt, 2008). İnsanlardaki bu altı baz TTAGGG şeklinde ve 5-7 bin kez tekrarlanmaktadır (Kurt, 2008). Şekil 2'de telomerin yapısı gösterilmektedir.

Şekil 2: Telomerin yapısı (Geyikli ve ark., 2007)



Telomerler kromozomların birbiriyle birleşimini önleyen ve genom yapısının kromatin iplikler halinde ayrılmasını sağlayan ve kromozom oluşumunda katkısı olan yapılardır (Cankurtaran, 2005). Eğer hücreler telomerlerini kaybeder üzerine hala çoğalmaya devam ederlerse kromozom uçları diğer kromozomlarla birleşerek, anormalliklerin oluşmasına yol açmaktadır (Cankurtaran, 2005).

Telomerler, her hücre bölünmesinde boyları biraz daha kısalmış ve kritik uzunluğa erişerek hücre bölünmesinin durmasına neden olmaktadır (Geyikli ve ark., 2007). Telomerler, hücrelerden meydana gelen organizmanın yaşlanmasını tetiklemektedir. Çünkü telomeraz enzimi, yapısı bozulmuş telomerleri onarsa da tam anlamıyla yapıyı düzeltmemektedir. Belirli bir kısalığa gelmiş telomerler, hücrenin bölünmesini tamamen durdurup yıkım sürecine geçmektedir (Kurt, 2008).

Genetikçiler, küçük DNA dizinlerinin, kanser ve yaşlanmada rolleri olabileceğini düşündükleri için araştırmalarında telomer konusunu ele almaktadır (Kurt, 2008).

### 2.2.3. Yaşlılıkta Oksidatif Stres

Hidrojen peroksit, süperoksit anyonu, hidroksil radikali, nitrik oksit, lipid peroksit, bilinen başlıca serbest oksijen radikalleri (ROS)'lardır. Hücrede oksijenin %90'ı mitokondrilerde tüketilmektedir. Oksidatif fosforilasyonun merkezi mitokondridir (Cankurtaran, 2005). Metabolizma sonucunda meydana gelen serbest oksijen radikalleri sağlıklı bireylerde vücudun savunma mekanizması olan antioksidan sistem ile uzaklaştırılmaktadır. Oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizması sağlıklı bireylerde tam bir denge halinde çalışmaktadır. Bu dengenin bozulması ile vücutta oksijen radikallerinin artması sonucu ortaya çıkan duruma "oksidatif stres" denir (Kurt, 2008).

Oksidatif stresle birlikte vücutta artan ROS'ların etisiyle, vücutta birçok metabolik hasar ortaya çıkmaktadır. Yaşlanma ile azalan hormonlar, enzimler ve yavaşlayan metabolizma ile artan ROS'ların elimine edilişi zorlaşır ve böylece oksidatif stres etkinliği artış göstermektedir (Cankurtaran, 2005).

## 3. HACAMAT

### 3.1. Tarihten Günümüze Hacamat

Antik çağlardan süre gelen tamamlayıcı ve geleneksel tedavi, halk sağlığı açısından büyük bir öneme sahiptir (Okumuş, 2016). Geleneksel tıp, tarihi açıdan uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Geleneksel tıp; toplumsal ve kültürel değerlere dayanan, teori, inanç, deneyimleri kapsayan, yerel bilgi, beceri ve uygulamaların bütünüdür. Bu uygulamalar hastalıkları önlemeyi, sağlığın devamlılığını, akıl ve bedenle ilişkili hastalıkları tedavi etmeyi amaçlamaktadır (World Health Organization, WHO 2002). Tamamlayıcı ve geleneksel tedavi uygulamalarından olan kupa tedavisi tarihi geçmişe dayanan evrensel yöntemlerdendir (Kılınç, 2015; Okumuş, 2016).

İlk çağlarda insanlar, doğayı ve hayvanları gözlemleyerek hastalıklara çare aramaları ve yerleşik hayata geçmeleri ile tıp tarihinde farklı tedavi yöntemleri geliştirmişlerdir. Yazılı ve arkeolojik kaynaklara bakıldığında, kaynaklardan yola

çıkarak ilk çağlarda uygulanan tedaviler Mısır'da, Mezopotamya'da Çin'de ve Hindistan'da görülmektedir. Mezopotamya tıbbına ait arkeolojik kalıntılar, muska yazmak, dua etmek, kurban kesmek, hacamatla kan almak, anason, nane, arpa gibi bitkisel ilaçların şifa bulma amaçlı kalıntılarıyla karşılaşılmaktadır. Bu kalıntılar sonucu gözlenen bazı tedavi yöntemleri günümüzde hala geçerliliğini sürdüren ve kullanılan yöntemlerdir (Kılınç, 2015). İslamî gelenekte vücuttan kan aldırma yani hacamat, Arapça kökünden var olup “hacm” karşılığı “emmek” anlamındadır (Akdağ, 2014). Orta Doğu ve arap toplumunda “hicamat” vücudun eski haline dönmesi anlamına da gelmektedir (El Sayed ve ark., 2013).

M.Ö. 3000 yılında kurulan Mısır uygarlığında şifa bulma amaçlı sülük, kupa ve hacamat sıklıkla başvurulan tedavi yöntemlerindedir. Ebers Papirus'da (Mısır'da) M.Ö. 1550'de kupa tedavisinden söz edilmiş ve Ayurveda'nın kutsal kitabında M.Ö. 1500 yıllarında Hindistan'da yaş kupa tedavisi (hacamat) uygulandığı ifade edilmektedir (Bamfarahnak ve ark., 2014). Asur ve Babil İmparatorlukları'nda, Çinde hacamat ile kupa tedavisi ve akupunktur birbiriyle kombine edilerek uygulanan bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi yöntemini Galen ve Hipokrat da kullanmıştır (Tham ve ark., 2006). Kupa, hacamat tedavilerine ait ilk yazılı kaynak antik Mısır dönemine aittir (Bondok, 2006). Neredeyse tüm uygarlıkların ortak mirası haline gelen kan alma tedavileri 3000 yıl önce ilk defa Mısır'da uygulanması ile Yunan ve Roma uygarlıklarına da taşınmıştır. Hipokrat ve Galen döneminde önem kazanmış ardından Arap ve Asya tıbbına da ulaştığı ve İbni Sina gibi büyük önem arz eden hekimler tarafından tıbbi eserlere konu olması ile Orta Çağ ve Rönesans Avrupa'sına ulaştığı düşünülmektedir (Greenstone, 2010).

İlk çağlarda Mısır ve Mezopotamya'da uygulanan şifa bulma amaçlı kan alma, bedensel ve ruhsal tedaviler, daha çok büyüsel niteliklerdeki tedavilerdir. Hipokrat, dönem tıbbını büyüsel niteliklerden arındırarak daha teorik aynı zamanda klinik uygulamaların güçlendiği bir şekle sokmuştur. Hipokrat'la birlikte yaklaşık 2500 yıl etkili olan geleneksel tıpta Ahlât-ı Erbaa yani “Dört Unsur Teorisi” veya diğer adıyla “Humoral (Hıltlar) Teorisi” ortaya çıkarmıştır. Hipokrat'ın (M.Ö. 460-377) Hıltlar Teorisine göre (ensar-ı erba) insan vücudundaki bu dört temel sıvı; kan, balgam, sevda ve safradır. İnsan bedenindeki dört sıvıya karşılık gelen, evrendeki dört temel unsur hava, su, toprak ve ateştir. İnsanların beslendiği gıdalar vücutta bu dört temel sıvıya dönüşür, vücuda alınan gıdalar kadar mevsimler de hıltlar üzerinde

etkilidir. Sonbahar sevdayı, kış balgamı, ilkbahar kanı, yaz safrayı hareketlendirdiği düşünülmektedir. Vücut sıvıların yani dört hıltın denge halinde olması sağlık, dengesiz olması ise hastalık olarak görülmektedir. Vücuttaki sıvıların denge halinde olması için müshil kullanımı, kusma tedavileri, lavmanlar, kan alma gibi yöntemlerle sağlığın geri kazanılması için arınma yöntemlerine başvurulmaktaydı (Kılınç, 2015). Tarih boyunca en etkili tedavi yöntemi kan alma yoluyla vücuttan kirli ve fazla kanın atılması yöntemi yani hacamat işlemidir (Greenstone, 2010).

Toplumların şekillenmesinde inanç sistemi büyük rol oynamaktadır. Toplumun dini inançları uyguladıkları tedaviler ile tıp kültürüne de yansımaktadır (Kılınç, 2015). Peygamber efendimiz Hz. Muhammed (sav) döneminde hastalıklara şifa bulunması üzerine, hacamatın övülmesi ve tavsiye edilmesi ile İslam toplumlarında, tercih edilmekteydi. Vücut sıvılarının, vücut içerisindeki dengesi için sağlık açısından en önemli tedavi şekli kan alma yöntemi hacamat, islam hekimleri tarafından da benimsenmektedir ( Acıduman ve Arda, 2012).

Hacamat Peygamber efendimiz (sav) tarafından da uygulanıp tavsiye edilmesi ile ilgili “*Bu nedir biliyor musun? Bu hacamattır. Bu sizin başvurduğunuz tedavi yollarının en hayırlısıdır.*” diye buyurmaktadır. Hacamat, vücudun kirli kandan temizlenip arınmasını ifade etmektedir. Hacamat işleminin uygulandığı belli mevsimler, aylar ve günler bulunmaktadır. Uzmanlar, hacamat ve kan aldırma ile ilgili tedavilerin yeni ay, dolunay ve baş harfi C ile başlayan günlerde (Çarşamba, Cuma ve Cumartesi) yapılması uygun olmayacağını öngörmektedirler (Kılınç, 2015). Pazartesi, Salı ve Perşembe günlerinin daha faydalı olduğu söylenmektedir (Akdağ, 2014). Peygamber efendimiz (sav) “ *Kim ayın on yedisinde, on dokuzunda ve yirmi birinde hacamat olursa her hastalığa karşı şifa bulur. Kim hacamatı ayın on yedi salısına rastlarsa, sakın hacamat olmayı ihmal etmesin.* ” buyrukları rivayet edilmektedir (Akdağ, 2014; Kılınç, 2015).

İbn-î Sînâ kan aldırmanın ayın on yedi, on dokuz ve yirmi birinde yapılma nedeni ile ilgili “Ayın ilk ve son birkaç günü hacamat yapılmamalıdır. İlk birkaç günde hıltları faaliyete geçirmek zordur. Bunun yanı sıra, son birkaç günde hıltların faaliyetlerinde bir hayli azalma vardır. Böylece hacamatın ay ortasında yapılması en iyisidir. O zaman ay dolunay durumunda olduğundan, hıltların gerilim ve faaliyeti dikkati çeker. Dolunayın etkisi o kadar büyüktür ki, beyin bile kafatası içinde şişer ve

nehirlerdeki ve kanallardaki su, onun (Ay) med cezir etkisi ile yükselir.” şeklinde açıklaması bulunmaktadır.

Geleneksel tıpta şifa bulmak için uygulanan hacamat, klâsik şiirimizde de birçok şair tarafından şiirlere konudur. Hacamat işleminin uygulanması için uygun görülen mevsim bahardır. Bahar mevsiminde havaların ısınması ile beraberinde insan bedenindeki kan da ısınmakta ve ısınan kan coşmaktadır. Vücuttaki coşan kanın normale dönmesi için vücuttan fazla kanın atılması, hacamat yapılması önerilmektedir.

Ahmet Talat Onay: “Mevsimlerden baharın etkisi ile vücuttaki kan dolaşımı değişir. Kanın beyindeki akıl hücrelerine fazla hücum etmesi ve bu etki ile insanda cinnetin meydana gelir, bundan kaynaklı eski tıpta mayıs ayında kirazlar çıkmadan önce vücuttan kan akıtmanın birçok hastalığın önüne geçer ve hastalığa sebep tüm maddeleri vücuttan arındırdığını” söylemektedir (Akdağ, 2014).

Geleneksel tıp, diğer adıyla halk hekimliği tedavileri tarih boyunca şifa bulma, hastalıklardan arınma amaçlı ve özellikle kronik hastalıklarda rahatlama sağlanmasından dolayı tercih edilmektedir. Tıp, hipokrat döneminde dört unsur teorisi ile etkinliğini sürdürerek 19. yüzyıla kadar önemini korumuştur. 19. yüzyılda bilimin ilerlemesi bilimsel düşünce ile kökleri inanca, eskiye ve tecrübelerine dayanan geleneksel düşünceyle çatışmasına neden olmuştur. Böylece bilimsel düşünce ve geleneksel düşünce yollarını ayırmıştır. Günümüzde kronik hastalıkların, sağlık harcamalarının artmasıyla insanlar yeni arayışlara girmiştir. Yeni arayışlar noktasında dünyada gözler geleneksel tıp uygulamalarına çevrilmiştir. Bu gelişmeye Türkiye’de kayıtsız kalmamıştır. Geleneksel halk hekimliği uygulamalarının tamamını akıl dışı uygulamalar ve batıl inanç olarak görüp reddetmek doğru olmayacağı düşüncesi ile 2002 yılında “ Geleneksel Tıp Strateji Planlaması” ile Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), geleneksel tıp uygulamalarının yasallaşmasını teşvik etmektedir. DSÖ’ nün geleneksel tıp uygulamaları teşvik çalışmalarıyla, uygulanmakta olan halk tedavilerine güvenilir standartlar getirmeyi amaçlanmaktadır. Geleneksel tıp uygulamaları güvenli halde hastalara ulaştırılması ve geleneksel tıp tedavilerini uygulayacak kişilerin yetişmesi için DSÖ bir ilk olarak 2002’de geleneksel ve tamamlayıcı tıbbın strateji planı ile teşvik çalışmaları yapmaktadır. Halk hekimliği uygulamalarından kupa, hacamat ve sülük ile tedavi

yöntemleri 2000'li yıllardan sonra daha fazla ilgi duyulmakta ve yeni gelişmeler yaşanmaktadır. Hacamat, Hz. Muhammed'in (s.a.v) önermesi ve dinen sünnet olarak kabul görülmesiyle daha çok tercih edilen tedavi yöntemi olmaktadır. Hacamat tedavisi, kupa tedavileri ve sülükle tedavi yöntemine kıyasla bilgilendirici verilere daha kolay ulaşılabilir olması, ulaşılabilir malzemelerle yapılması ve daha az risk taşınması ve dini motivasyon özelliği nedeniyle artık günümüzde daha çok tercih edilmektedir (Kılınç, 2015).

### **3.2. Hacamat Faydaları Nelerdir ve Hacamat İşlemi Nasıl Yapılır?**

Hacamat işleminde kullanılan kupalar, Orta Doğu' da M.Ö. 3500 yılında (5500 yıl öncesi) ilk kez Asurlular tarafından, bambular ve hayvan boynuzları kullanılarak uygulanmıştır (El Sayed ve ark., 2013). Antik Yunan ve Roma' da kullanılan kupalar bronz veya metal kupalardır (Kılınç, 2015). Cumhuriyet döneminde halk hekimliğinde hacamat işlemi için kullanılan kupalar cam kavanozlar veya bardaklardır. Fakat cam kupaların maliyetli oluşu ve kolay kırılmasından kaynaklı cam yerine plastik veya silikon kupalar tercih edilmiştir (Acıduman ve Arda, 2012). Eski zamanlarda hayvan boynuzları, çömlek, metal ve bambular hacamat kupası olarak kullanılmıştır. Bu kupalar 2.5-7.5 cm boyutlarda, top ve çan gibi farklı şekillerde hacamat kupası olarak tercih edilmiştir. Günümüzde ise hacamat işlemi için farklı ebattaki cam ve PVC (sert plastik) kupalar tercih edilmektedir (Zhang ve ark., 2010; Kim ve ark., 2011).

Kupa tedavisi için vücudun genellikle akupunktur noktaları, patolojik bölge ya da çevresine ve vücuttaki ağrılı bölgelere uygulanarak vücuttan hastalık yapan maddelerin atılımı sağlandığına inanılmaktadır (Sayed ve ark., 2014). Hacamat işlemi en çok sırt bölgesine uygulanmaktadır. Çünkü sırt bölgesinin, iç organlara ayna görevi gördüğü belirtilmektedir (Ahmedi ve Siddiqui, 2014). Sırt bölgesinde özellikle skapula arası paravertebral bölge, göğüs, 7. servikal bölge, karın kalça ve omuz başları hacamat için kupaların yerleştirildiği hacamat işleminin uygulandığı bölgelerdir (Zhang ve ark., 2010; Ali Al ve Rubaye, 2012). Hacamat için boyunda, "Kahel" bölgesi olarak adlandırılan 7.servikal ve "Akhdayin" olarak adlandırılan her iki kulak posteroinferior bölgeleri tercih edilmektedir (Sayed ve ark., 2014). Tıbb-i Nebevî de iki omuz başı arası, omuzdaki şahdamarı kollarından olan damardan, çene altından, ayak üzerinden, göğüs altından, koldaki damardan, koldaki atardamardan,

boyundaki şah damarı gibi vücuttaki farklı bölgelerden kan akıtmanın çeşitli hastalığa iyi geldiği belirtmektedir (Akdağ, 2014).

Hacamat ile kupa tedavisi, vücuda uygulanması ile birçok sağlık sorununu hafifletme etkisine sahiptir. Hacamat iltihaplı hastalıklara, şişliklere, vücuttaki ağrılara tedavi amaçlı uygulanır. Üşütmeye bağlı yorgunluk ve halsizlik, kas ağrıları, boyun tutulması, öksürük, sırt, omuz, bel ve boyun ağrılarında rahatlama amacıyla uygulanmaktadır. Kas kireçlenmesi, romatizma, soğuk algınlığı, sinirsel kasılmalar, selülit, migren, kulunç ve göbek düşmesi için hacamat ya da kuru kupa uygulanmaktadır (Kılınç, 2015). Vücuttan hacamat ile kan aldırarak göz ağrısı çekenler için de bir tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır. Hz. Muhammed (s.a.v) vücuttan kan aldırmanın “ *Haccâm ne iyi kuldur; (fazla) kanı giderir, beli hafifletir, gözü parlatır*” beyanı ile hacamatın göze faydası da vurgulanmaktadır (Akdağ, 2014).

Şekil 3: Hacamat İşlemi



Hacamat, ayın yer çekimi gücüne göre vücuttaki kan basıncındaki değişikliklerden kaynaklı ay takvimine göre ayın 17, 19, 21 ve 23'ü ve pazartesi, salı, perşembe günleri ön görülmektedir (Chakraborty ve Ghosh, 2013). Bölgesel ağrı ve şikayete göre, hacamat kupaları uygun görülen bölgeye yerleştirilerek, manuel pompa veya ateşle negatif basınçla deri kabartılır. Uyuşan bölge ve kabaran deri, kesici aletle derin olmaması şartıyla cilde 0.1-0.2 mm' lik kesikler atılır. Cilde atılan kesiklerin olduğu bölgeye kupalar yerleştirilerek, manuel pompa yardımıyla tekrar negatif basınçla kupanın havası alınarak kupanın vücuda yapışması ve kanın kupa içine dolması sağlanmaktadır (Sayed ve ark., 2014). Bu işlem kupa içerisinde biriken kirli

kanın renginde açılma gözlenene kadar genellikle üç defa tekrar edilmektedir. İyileşmenin hızını kolaylaştıracağı, skar dokusunu azaltacağı için cilde atılan çizikler, cild kıvrımlarına paralel olması önerilmektedir. Hacamat işleminden iki üç gün önce, işlem sonrası ise bir hafta proteinden fakir, hayvansal gıda tüketiminden uzak diyet önerilmektedir. İşlem aç karna da yapılabilir, çünkü beslenme sonrası mezenterik arter dolaşımının artması ile cilde giden kan akımı azalmaktadır. İşlem sonrası ise hacamat yaptırmış kişinin en az üç gün banyo yapmaması önerilmektedir. Hacamat işlemi 2 yaş altı ve 70 yaş üzeri kişilere uygulanması uygun görülmemektedir. (Ahmadi ve ark., 2008).

Taibah teorisine göre insan vücudunda, sistem ve organların birbiriyle uyumu vücuttaki dengeyi sağlamaktadır. Fizyolojik dengenin bozulmasıyla hastalıklar meydana gelmektedir. Hacamat ile hastalıklara neden olan potansiyel zararlı maddelerin vücuttan atılımı sağlanarak vücuttaki dengenin yeniden sağlandığı düşünülmektedir (El Sayed ve ark., 2013).

### **3.3. Hacamatla Kupa Tedavisi Etki Mekanizmaları ve Yan Etkileri**

Hacamat işlemi ile uygulanan kupaların etki mekanizmaları ile alakalı yeterli çalışma olmadığı için birden çok hipotez öne sürülmektedir (Niasari ve ark., 2007). İmmünolojik, nöral, hematolojik, metabolik ve psikolojik etkilerinden söz edilmektedir (Ahmadi ve ark., 2008; Christopoulou Aletra ve Papavramidou, 2008).

Hacamat işleminin ilk aşamasında farklı bölgelere konulan kupalar akupunktur benzeri etki göstermektedir. Uygulanan bölgede santral sinir sisteminde c-fos proteinini aktive eder, nörotransmitter, endojen opiyat benzeri maddelerin artışı ve uyarımını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2008). Etki etiği düşünülen otonomik sinir sistemi ile ağrıyı azaltabileceği belirtilmektedir (Cao ve ark., 2012). Hacamat işlemi için vücuda konulan kupaların masaj etkisi de mevcuttur (El Sayed ve ark., 2013). Vücutta derin doku masajında büyük bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Hanan ve Eman, 2013). Yapılan çalışmalar doğrultusunda boyun ağrısı olan hastalarda kas aktivitesinin arttığı tespit edilerek; kontrol grubu ve ağrısız tarafla kıyaslandığında etkilenen tarafta yetersiz kan akımı ve laktat düzeyinin arttığı, kas tonusunu azaltarak analjezik etki oluşturduğu gözlenmektedir. Ağrılı boyun kaslarında ve sağlıklı kişilerde laktat ve pirüvat düzeylerinin birbirinden farklı olduğu gözlenerek ve bu durumun glukoz metabolizmasındaki bozukluğa bağlı olabileceği düşünülmektedir

(Emerich ve ark., 2014). Yapılan başka bir çalışmada, hacamat kupalarının etkisiyle vücutta negatif basıncın uygulandığı yerlerde kan dolaşımı artmakta böylece kas ve sinirlerde esneklik sağlanmaktadır. Akupunktur noktalarına uygulanan kupa tedavisi ciltte hiperemi ve hemostaz oluşturarak terapötik etki oluşturduğu düşünülmektedir (El Sayed ve ark., 2013). Cilt viskoelastik bir yapıda olduğundan vücuda konulan kupa etkisiyle oluşturulan negatif basınçla deri, kupa içerisinde yukarı doğru kabarıp, interstisyel sıvı kupa altında birikmektedir (Tham ve ark., 2006). Deri ve deri altında biriken sıvı ile konnektif dokuda oluşan yapışıklıklar düzeltilebilmektedir. Deri ve deri altında artan sıvı şiddetli ağrı oluşturan maddelerin yeniden dağılımını sağlayabilmektedir. Bu sıvı sinir uçlarını sulayarak, nosiseptif mediatörlerin dillüsyonunu sağlamakta böylece ağrı şiddetini hafifletmektedir. Kupaların vücuttan çekilmesi ile negatif basınç azalmakta ve cilt eski haline dönmektedir. Kupa uygulanan bölgede biriken sıvıyla, şiddetli ağrıya neden olan maddelerin yoğunluğu azalarak ağırlı bölgeden dağılımı gerçekleşmektedir.

Hacamat işleminin ikinci aşaması cilde kesiklerin atılması, bununla birlikte vücuttan çıkan kirli kanda hastalıklara yol açan potansiyel zararlı maddelerin atılımı sağlanmaktadır. Ciltteki birçok ilaç metabolitleri, ağır metaller, proinflatuvar maddeler, inflamasyon hücreleri, toksinler, kimyasal endojen maddeler, zararlı kimyasallar, bakteriler ve hastalıklar hacamat ile birlikte vücuttan atıldığı düşünülmektedir (El Sayed ve ark., 2013). Hacamat cildin boşaltım görevini gerçekleştirmektedir. Globulin gibi büyük molekül ağırlıklı protein, sitokin reseptörleri, antikor, kolesterol, trigliserit ve LDL gibi hidrofobik maddelerin, ferritin ve ürik asit atılımı kolaylaşmaktadır (Ahmadi ve ark., 2008; Alshowafi, 2010). Vakumlu pompa aracılığı ile kupaların cilde yerleşimi sağlanmaktadır. Ciltte kabarma meydana gelirken kapiller etrafındaki basınç azalmakta böylece kapiller filtrasyonun artmasıyla, lenf ve interstisyel sıvının kupa altında ciltte toplanmasına neden olmaktadır. Böylece bölgede lökaleze olan kimyasal maddeler, inflamatuvar ve nosiseptif mediatörler dilüe olmakta, sinir uçları yıkanmakta, doku yapışıklıkları açılmakta ve ağrı şiddeti azalmaktadır. Kupaların kaldırılmasıyla ciltte kan akımı artmakta ve reaktif hiperemi oluşmaktadır. Bölgeye atılan kesikler deri bariyerini ortadan kaldırmaktadır. Kupaların cilde tekrar yerleştirilmesiyle kupada biriken kan patojen içerikli sıvı olup bu sıvının vücuttan atılımı sağlanmaktadır (El Sayed ve ark., 2013). Hacamatın vücuttaki etki mekanizması ile öne sürülen hipotezler ele

alındığında, hacamat cildin boşaltım görevini görmekte, vücuttaki patojen maddelerin atılımını gerçekleştirmektedir (Ullah ve ark., 2006). Oksidatif strese neden olan maddelerden vücudun arınmasını sağlamakta, böylece vücutta detoks etkisi oluşturmaktadır (Ahmed ve ark., 2011).

Hacamat işleminin ciddi yan etkileri bulunmamaktadır. Deneyimli bir hekim tarafından uygulanmadığında derin kesikler ve damar duvarlarının hasarı ile ciltte geç iyileşen yaralar, kalıcı izlerin oluşumu görülebilmektedir (Kim ve ark., 2012). Uygulama öncesi hasta kontrolü yapılmalıdır. Biyokimya ve hemogram tetkikleri incelenmeli, enfeksiyon riski açısından değerlendirme yapılmalı, anemi, demir eksikliği anemisi gibi durumlar değerlendirilmelidir (Lee ve ark., 2008). Gerekli tedbirler alınarak sağlıklı hijyenik bir ortamda işlem yapılmalıdır. Hijyenin göz ardı edilmesi durumunda enfeksiyon (hepatit B, C, HPV veya HIV) riski olan bir işlemdir (Kim ve ark., 2011).

#### 4. OKSİDATİF STRES

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron çifti içeren atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Kılınç ve Kılınç, 2002). Eşlenmemiş elektronun gösterimi, serbest radikallerde (X<sup>•</sup>) üstte nokta yazımı ile gösterilmektedir (Toy, 2012).

Serbest radikallerin oluşumu üç şekilde gerçekleşmektedir:

- Kovalent bağlı bir molekülün, kovalent bağının homolitik kopmasıyla eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile  
$$X:Y \rightarrow X^{\bullet} + Y^{\bullet}$$
- Bir molekülün bir elektron kaybına uğraması ile  
$$X \rightarrow X^{\bullet} + e^{-}$$
- Bir moleküle, bir elektron eklenmesi ile elde edilmektedir.  
$$X + e^{-} \rightarrow X^{\bullet-}$$

Serbest radikaller reaktif özellikli moleküllerdir (Özkaya, 2007). Reaktif olduklarından, karşılaştıkları atom ve moleküllerle hızlı ve kolay reaksiyona girerek moleküllerin kararsız hal almalarına yol açmaktadır (Dündar ve Aslan, 1999). Serbest radikaller kararlı yapıya dönüşebilmek için, diğer moleküllerle veya tüm

hücre bileşimleri ile etkileşime girerek, dış yörüngedeki elektron sayısını çiftelemeye çalışmaktadırlar.

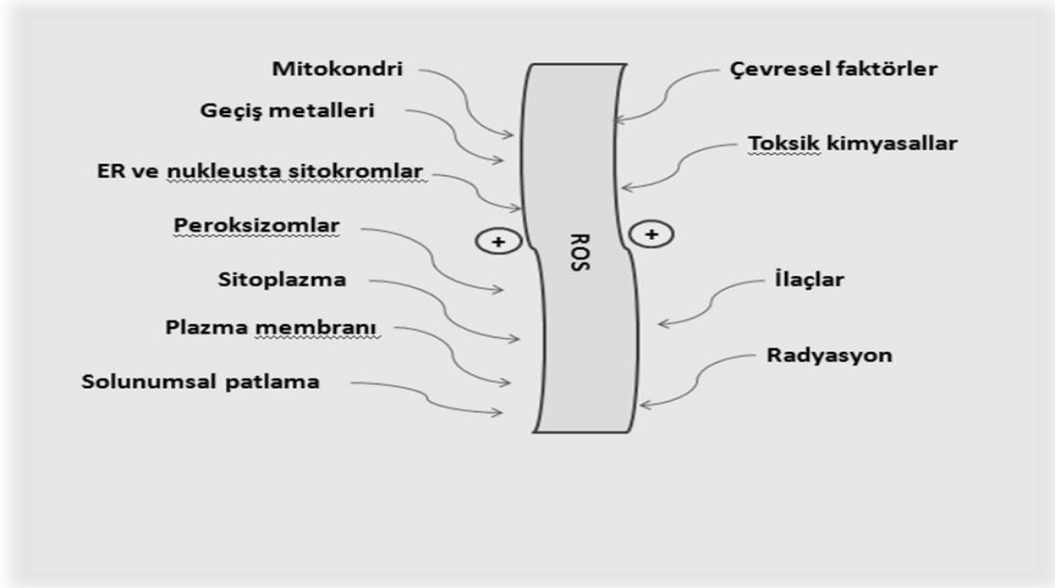
Oksijenle yaşayan bütün canlılarda metabolik olaylarla ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin oluşumu kaçınılmazdır. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu biyolojik bozukluk olmamakla birlikte zararlı olduğu gibi yararları da söz konusudur. Fagositoz olayında aktive nötrofillerden salınarak bakterilerin etkisizleştirilmesi, nonsiklooksijenaz yoluyla prostoglandinlerin oluşumu, hemoglobinin oksijen taşıması, mitokondriyal oksidasyon ve DNA replikasyonu organizma için yararlı durumlardır (Özkaya, 2007).

Serbest radikaller tüm hücre bileşenleriyle kolayca etkileşime girebilmekte, hücrenin bütün fonksiyonlarında oluşabilme özelliğine sahiptir. Hücre tiplerine göre radikal oluşumu değişiklik göstermesine rağmen aerobik hücrelerde oluşumu belirli düzeylerde gerçekleşmektedir (Özkaya, 2007).

Vücut içerisinde aşırı miktarda üretilen serbest radikaller, antioksidan savunma sistemini yavaşlatmakta, biyomoleküller ve doku komponentlerine zarar vermektedirler. Hücrenin potasyum kaybını trombosit agresyonunu artırmakta, mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller permeabiliteyi bozmaktadırlar (Toy, 2012).

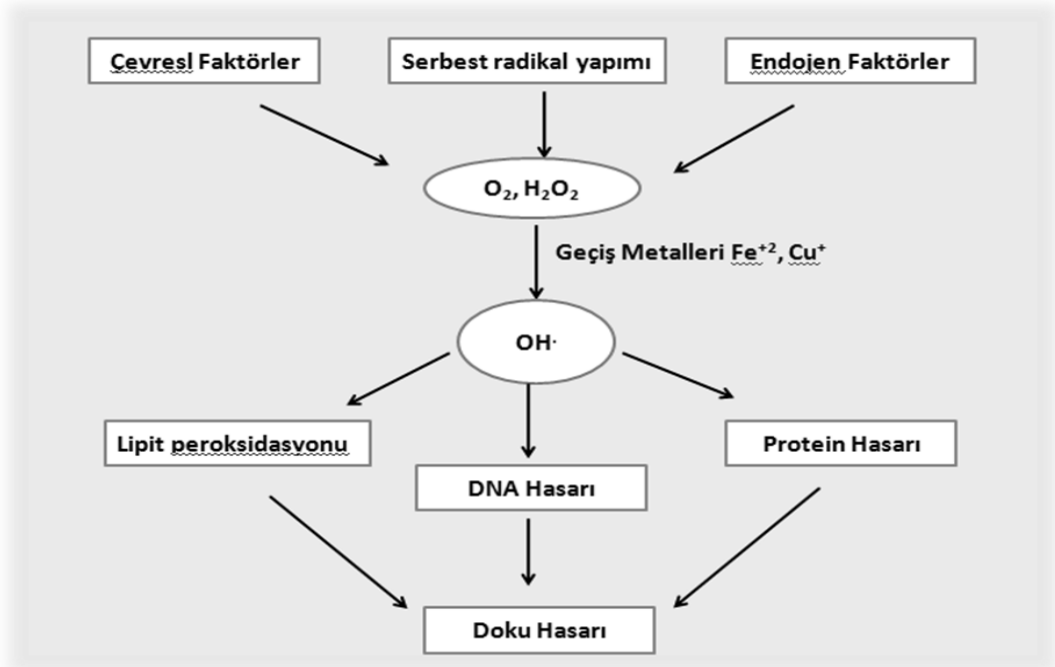
Serbest radikaller, DNA ve nükleik asitler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar, lipitler gibi tüm bileşiklere etki etmektedir. DNA'ya olan etkisi ile DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve neredeyse hücre ölümüne neden olabilmektedirler. Serbest radikallerin oluşumunda çevresel faktörler ve metabolik olaylar etkilidir. Metabolik olaylar; oksijen metabolizması, mitokondriyal sızıntı, solunumsal patlama, otooksidasyon tepkimeler, enzim reaksiyonlarıdır. Çevresel faktörler ise radyasyon, çeşitli tıbbi ilaçlar, kontamine sular, pestisitler, ultraviyole ışınları, hava kirliliği, sigara dumanıdır (Koca, 2003; Antmen, 2005).

Şekil 4: Serbest radikallere kaynaklık eden faktörler (Toy, 2012).



Oksijen türevi serbest radikallere yaygın birkaç örnek; merkezinde oksijen bulunan süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), tekli oksijen ( $^1O_2$ ), hidroksi ( $OH$ ), peroksi ( $ROO$ ) ve alkoksi ( $RO$ ) radikalleri şeklinde sıralanabilir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Şekil 5: Vücutta bulunan önemli serbest radikaller ve hasarları (Antmen, 2005).

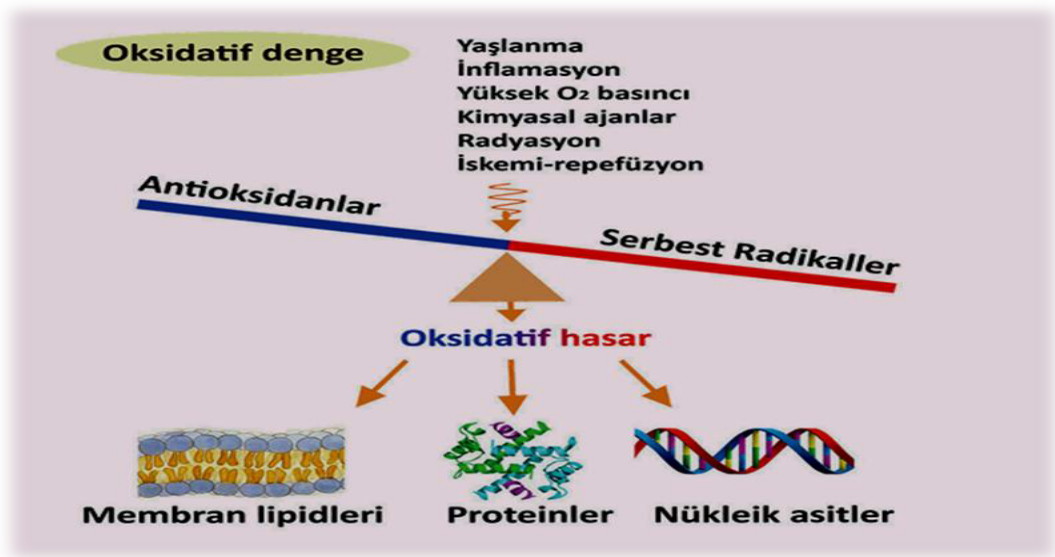


Organizmada, hücre hasarına yol açan olayların ve tepkimelerin zararlı etkilerini azaltan, serbest radikallerin neden olduğu oksidanları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme özelliğindeki maddelere “antioksidanlar” denir

(Koca, 2003; Antmen, 2005). Çeşitli reaksiyonlarda rol alan süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-Rd), glutatyon S transferaz (GST), hidroksiperoksidaz, sitokrom C oksidaz, gibi enzimler anti oksidan özelliğindedir. Ayrıca seruloplazmin, transferrin, ferritin, hemoglobin, miyoglobin gibi protein yapıları makromoleküller ve karotenler (A vitamini), askorbik asit (C vitamini), tokoferol (E vitamini), tiyol içeren bileşikler, glikoz, bilirubin gibi mikromoleküller de antioksidan özelliklidir. Antioksidan sistem, hastalıkların patogeneğinde rol almaktadır. Oksidatif stres yaratan durumlarda antioksidan sistem, vücudun savunma sistemi ile ilişkili maddelerin ve salınımını arttırmaktadır (Yerer ve Aydoğan, 2000).

Atmosferde var olan oksijen, moleküller oksijen ( $O_2$ ) diğer adıyla dioksijendir. Kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı ve insan yaşamı için gerekli gazdır. İnsan yaşamı için gerekli olan oksijen, vücut içerisinde gerçekleşen hücre metabolizma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşmektedir. Bu dönüşüm vücut için toksik etki yaratmaktadır (Koca, 2003; Özcan ve ark., 2015). Fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikallerin artışı ve savunma mekanizmasında bunlara karşı süpürücü etkideki antioksidanların yetersizliği durumunda oksidan-antioksidan denge bozulmaktadır. Vücutta artan serbest radikallerin zararlı etkisi, savunma mekanizmasının yetersizliği sonucunda oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına oksidatif stres denir (Koca, 2003; Antmen, 2005; Özcan ve ark., 2015).

Şekil 6: Oksidan-Antioksidan denge (Özcan ve ark., 2015).



Oksidatif strese yol açan maddeler, serbest radikallerdir (Özkaya, 2007). Reaktif oksijen türleri kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleri olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) ve singlet oksijendir (Özkaya, 2007; Özcan ve ark., 2015). Reaktif oksijen türlerinin çoğu biyomoleküllerle hızlı ve kolay şekilde reaksiyona girme eğilimindedir. Serbest radikallerle reaksiyona giren moleküller bir elektron kaybettikleri zaman etrafındaki molekül yapılarından bir elektron alacak derecede reaktif hale gelmektedir (Toy, 2012).

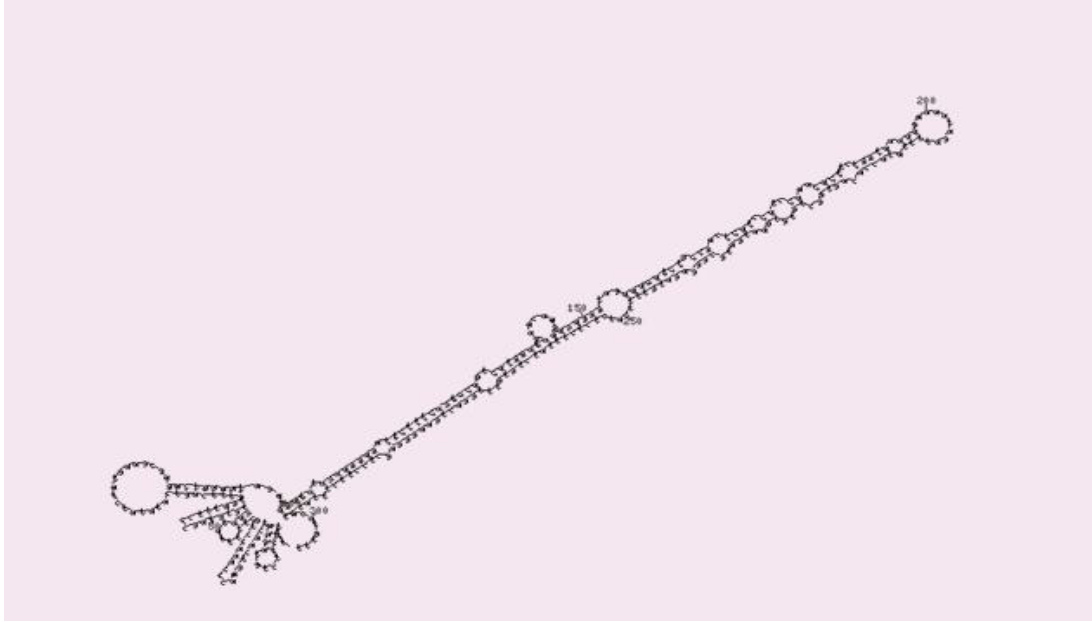
Oksidan maddeler, canlıda proteinlerin dekarboksilasyonuna, peptit bağların hidrolizine, disülfit bağların oluşumu ve çapraz bağ oluşumuna yol açmaktadır. Bu durum ise hücre içi esansiyel olan Ca-ATPaz gibi enzimlerde fonksiyon kaybına neden olarak hücre içi ve dışı iyon dağılımının bozulmasına, nükleik asit bazları modifikasyonuna, DNA şeridi kırılmalarına neden olmaktadır (Yerer ve Aydoğan, 2000). Reaktif oksijen türlerinin biyolojik metaryallere etkisi ve zararları bulunmaktadır. Yaşlanmayı hızlandırıcı etkide olup, kalp-damar hastalıkları, iskemireperfüzyon hasarı, inflamasyon, diabetes mellitus, akciğer hastalıkları, astım, böbrek bozuklukları, kas hastalıkları, göz ve cilt bozuklukları, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif gibi birçok hastalığın oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkilidir. Serbest oksijen radikalleri ve kimyasal maddelerin neden olduğu kanserin oluşumu, ilerlemesi ve gelişme evrelerinde büyük role sahiptir (Koca, 2003; Toy, 2012).

## 5. miRNA'lar

### 5.1. miRNA Yapısı ve Özellikleri

miRNA'lar, gen ifadesini özellikle transkripsiyon sonrası aşamada düzenleyen yaklaşık 18-24 nükleotit (nt) uzunluğunda tek iplikli, kodlanmayan, küçük RNA molekülleridir (Saydam ve ark., 2010; Yaroğlu, 2011; Öner, 2012).

Şekil 7: Brassica Oleracea 'dan Bir pre-microRNA'nın Sap-İlmik Yapısı (<http://www.Wikipedia.org>).



Primer transkriptler (pri-miRNA) işlenerek, önce prekürsör miRNA (pre-miRNA) şeklindeki kısa sap-ilmik yapısına daha sonra fonksiyonel miRNA'ya dönüşümü gerçekleşmektedir (Saydam ve ark., 2010). miRNA'lar genomda RNA polimeraz-II etkisiyle transkribe edildikten sonra olgun forma dönüşmektedir (Öner, 2012). Matür formundaki miRNA'lar çeşitli proteinlerle kompleks yapılar meydana getirerek hedef gen mesajcı RNA'ya (mRNA) bağlanarak, mRNA'nın yıkımına neden olmaktadır (Öner, 2012).

miRNA'lar, mRNA'nın 3'UTR (Untranslated region: translasyon olmayan bölge) bölgesinde hedef transkripti ile baz eşlenmesi yaparak, bu transkriptlerin translasyonunu farklı mekanizmalarla baskılamaktadır (Yaroğlu, 2011). miRNA'lar hedef genlerin ifadelerini baskılayarak, protein miktarının azalmasına neden olmaktadır (Şar, 2013).

İlk miRNA Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında hücrelerin gelişimi araştırıldığı çalışmada keşfedilmektedir (Saydam

ve ark., 2010; Öner, 2012). miRNA ifadesi 2001 yılından beri kullanılmaktadır (Saydam ve ark., 2010). Lee ve arkadaşları 1993 yılında yuvarlak toprak solucanı *Caenorhabditis elegans*'ı gen içeriği bakımından incelemişlerdir (Saydam ve ark., 2010). *Caenorhabditis elegans*'ın gelişim sürecinde miRNA ailesinin ilk keşfedilen üyeleri, küçük geçici RNA'lar olarak adlandırılan lineage-4 (lin-4) ve lethal-7 (let-7)'dir (Görür ve Tamer, 2011).

Keşfedilen Lin-4 geni hiçbir protein kodlamadığını ancak küçük bir RNA'yı (22-nt) transkribe ettiği kaydedilmektedir (Saydam ve ark., 2010).

2000 yılında Reinhart ve arkadaşları *C.elegans*'da 22 nükleotit uzunluğunda başka bir miRNA olan let-7'yi tanımlamışlardır (Yaroğlu, 2011). Let-7 geni ise canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı miRNA çeşididir (Saydam ve ark., 2010).

2003 yılında let-7'nin biyolojik fonksiyona sahip olduğunu ve let-7'nin insanları da içine alan türler arasında korunduğu kaydedilmektedir (Saydam ve ark., 2010). Daha sonraki çalışmalarda Lin-4 ve Lin-7'ye benzerlik gösteren çok sayıda küçük RNA molekülleri bulunmaktadır. Keşfedilen RNA'ların hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda bulunmakta ve miRNA'lar olarak adlandırılmaktadır (Saydam ve ark., 2010).

## **5.2. miRNA'ların Oluşumu ve Fonksiyonları**

miRNA'lar üç aşamalı bir işlem süreci sonucunda meydana gelmektedir (Saydam ve ark., 2010). İlk aşama miRNA genlerinden pri-miRNA'ların RNA polimeraz II (RNA pol-II) tarafından transkripsiyonu gerçekleşmektedir (Öner, 2012). İkinci aşama nükleus içerisinde pri-miRNA'lar, pre-miRNA'lara dönüştürülür böylece prekürsör miRNA'nın kısmi olgunlaşması gerçekleşmektedir (Görür ve Tamer, 2011). Üçüncü ve son aşamada sitoplazma içerisinde fonksiyonel miRNA'nın oluşumu meydana gelmektedir (Öner, 2012).

İnsanlarda miRNA oluşumu, nükleusta RNA polimeraz II enzimi yardımı ile başlamakta ve pri-miRNA formunda ilk molekül sentezlenmektedir (Hitit ve ark., 2015). Pri-miRNA (500-3000 baz), 5' cap (başlık) ve 3'poly A kuruğuna sahip karmaşık sekonder yapısındadır (Saydam ve ark., 2010).

Elde edilen pri-miRNA sonraki aşamada RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazı Droscha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8; insan DiGeorge sendromu kritik bölge 8

olarak bilinmekte) tarafından yaklaşık olarak 60-70 nükleotit uzunluğundaki öncül molekül pre-miRNA oluşumu gerçekleşmektedir (Saydam ve ark., 2010).

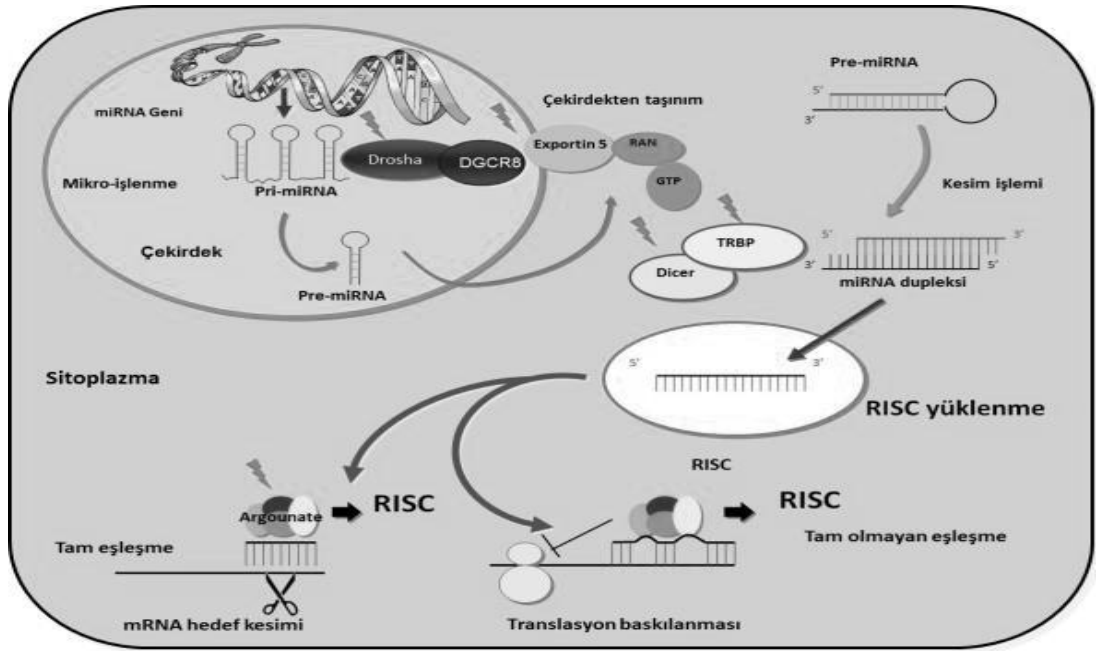
RNAaz-III enzimi olan Drosha proteini mikroişlemci kompleksinde katalitik birim olarak görev alırken, DGCR RNA yapısını tanımaktadır (Öner, 2012). Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nın meydana getirdiği komplekse mikroişlemci kompleks (Microprocessor complex) adı verilmektedir (Saydam ve ark., 2010).

Pri-miRNA'nın mikroişlemci kompleksi tarafından kesilimi aşamasında DGCR8'in tek ve çift RNA molekülünü tanımasıyla sonrasında Drosha çift iplikli saç tokası yapısındaki molekülü kesmektedir. 5' ucunda monofosfat, 3' ucunda iki nükleotid hidroksil uzantısına sahip pre-miRNA oluşumu gerçekleşmektedir (Öner, 2012).

Oluşan pre-miRNA taşıma reseptörü olan Exportin-5 (XPO-5) ve nükleer bir protein olan Ran-GTP aracılığı ile nükleustan sitoplazmaya taşınmaktadır (Saydam ve ark., 2010). RNAaz III enzimi olan Dicer tarafından pre-miRNA 21-24 nükleotid uzunluğunda miRNA dubleksine kesilmektedir (Saydam ve ark., 2010). Dicer, ayrıca RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatmaktadır (Saydam ve ark., 2010).

miRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, argonaute proteinleri dahilinde mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonun baskılanmasına neden olmaktadır (Saydam ve ark., 2010).

Şekil 8: miRNA biyogenezi (Hitit ve ark., 2015).



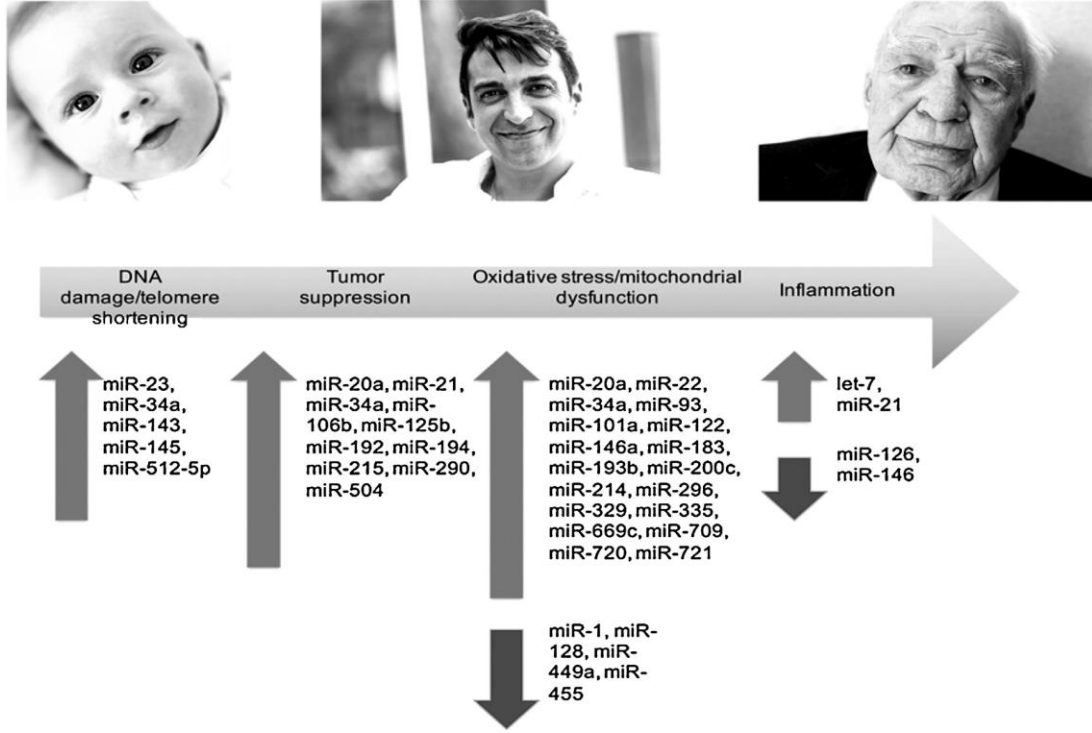
**miRNA: mikroRNA, DGCR8: DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8, Drosha:RNAaz III enzimi, GTP: guanozin trifosfat, RAN: RAS-İlişkili Nükleer protein, RISC: RNA indüklenmiş susturma kompleksi, pri-mikroRNA: primer mikroRNA, TRBP: HIV-1 TAR RNA-bağlanma proteini.**

miRNA'lar kan dolaşımında saptanabilmektedir (Yaroğlu, 2011). miRNA'lar hücre döngüsünün neredeyse her bölümünde yer almaktadır (Görür ve Tamer, 2011). Tek başına bir miRNA, farklı fonksiyonları olan yaklaşık 200 hedef gene bağlanmakta ve tek bir hücredeki yüzlerce fonksiyonu düzenleyebilme özelliğine sahiptir (Yaroğlu, 2011).

miRNA'lar, mRNA yıkımına ve transyoneel inhibisyona neden olabileceğinden gen ifadesinin kontrolünde büyük öneme sahiptir. miRNA'nın işlevlerinden biri gen düzenlenmesidir. Bir miRNA, bir veya birden çok mRNA'ya komplementerdir. miRNA'ların hedef mRNA ile komplementerliği tam ise mRNA'nın parçalanması söz konusu olmakta, komplementerliği az ise translasyonun baskılanmasıyla sonuçlanmaktadır (Görür ve Tamer, 2011).

miRNA'ların fonksiyonları arasında; gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesi, metabolik regülasyon, hafıza ve sinaptik gelişim, organizmanın gelişimi için embriyogenez, organogenez, farklılaşma, büyümenin kontrolü, yaşlanma gibi çeşitli biyolojik olaylar yer almaktadır (Yaroğlu, 2011).

Şekil 9: Hüresel yaşlanma ve yaşlanmayı çevreleyen olaylar sırasında görülen miRNA ekspresyonundaki değişiklikleri göstermektedir (Williams ve ark., 2016).



miRNA'ların kritik rollere sahip olmaları, miRNA'ların onkogen, bazılarının ise tümör baskılayıcı gen olarak işlev görmesi, tümör progresyonu, metastazı ve invazyonunda miRNA'ların düzenleyici olduğunu göstermektedir (Görür ve Tamer, 2011). miRNA'lardaki miRNA gen mutasyonları, miRNA üretimindeki bozukluklar, miRNA gen ifadesindeki değişiklikler veya miRNA gen fonksiyonlarının düzenlenmemesi çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Şar, 2013).

### 5.3. miR-21, miR-34a ve miR-200a'nın Oksidatif Streste Rollerini

Oksidatif stres hipertansiyon, diyabetik vaskülopati, hiperkolesterolemi ve ateroskleroz gibi farklı vasküler hastalıklarda nedensel bir rol oynadığı gösterilmektedir. Fazla derecede ROS üretimi, endotelial ve vasküler düz kas hücresi fonksiyonlarını bozduğu, kardiyovasküler hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. miRNA'lar, hedef mesajcı RNA'ların stabilitesini veya translasyonel verimliliğini modüle eden kodlayıcı olmayan RNA molekülleridir. Redoks dengesizliğine hüresel yanıtlar da dahil olmak üzere çoğu biyolojik işlemde modüle edildiği gösterilmektedir. Özellikle miR-200 aile üyeleri, oksidatif strese

bağlı endotelial disfonksiyonda, diyabet ve obezitenin kardiyovasküler komplikasyonlarında önemli bir rol oynamaktadır. Ek olarak, miR-210 gibi farklı miRNA'ların mitokondriyal metabolizmada önemli rol oynadığı, dolayısıyla ROS üretimini ve duyarlılığını modüle ettiği gösterilmektedir (Magenta ve ark., 2013).

Mitokondriyal disfonksiyonun, tip 1 diyabetik kalp ile ilişkili kardiyak anormalliklerde de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Shen ve ark., 2004; Rolo ve Palmira, 2006). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, diyabetik farelerde kontrol grubu ile kıyaslandığında miR-200c ve miR-141 seviyelerinin artış gösterdiği tespit edilmektedir (Baseler ve ark., 2012). Araştırmacılar, miR-141'in mitokondriyal matrikse inorganik fosfat sağlayan ve ATP üretimi için gerekli olan "mitokondriyal membran fosfat taşıyıcısını" (Slc25a3) hedeflediklerini göstermektedir. Buna göre, Slc25a3'ün tip 1 diyabette ekspresyonunda önemli ölçüde azalma olduğu gösterilmektedir (Baseler ve ark., 2011). Ayrıca, Slc25a3 azalmasının ATP üretimi ve hücre canlılığı üzerinde zararlı etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Alcala ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda miR-200 ailesinin diyabet ve obezite ile ilişkili ve kalp hastalıkları ile ilgili mitokondriyal cevaplarda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu bağlamda miR-200' lerin vasküler hücreler ile ilgisi göz önüne alındığında, benzer mekanizmaların endotel hücreler ve kültürlü vasküler kas hücrelerde de mevcut olabileceğini tahmin etmek mümkündür (Magenta ve ark., 2013).

miRNA'lar arasında miR-21, kanser hücresi apoptozu, migrasyon, invazyon, proliferasyon ve anjiyogenezin düzenlenmesinde çoklu sinyalleşme yollarını hedefleyerek geniş bir şekilde açıklanmış onkojenik fonksiyona sahiptir (Zang ve ark., 2007; Olson ve ark., 2009). Tersine miR-34a, kanser hücresi sağkalımını, proliferasyonu, invazyonu ve metastaz oluşumunu inhibe etmektedir (Guo ve ark., 2011; Sun ve ark., 2012). Bu nedenle miR-21, bir onkojen olarak işlev görürken, miR-34a, bir tümör baskılayıcı görevi görmektedir. Bununla birlikte, miR-34a ve miR-21 hücresel yaşlanmayı teşvik etmekte, yaşlanma ve kanser gelişiminin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Chao ve ark., 2017).

miR-21, süperoksit dismutazın (SOD2 / SOD3) azalış göstermesi ile ROS üretimini uyararak tümör ilerlemesini teşvik etmektedir (Zang ve ark., 2012). miR-21'in inhibisyonu kalp, böbrek ve akciğerlerdeki fibrozu azalttığı için, miR-21,

oksidatif stresle ilişkisinin yanı sıra fibroziste potansiyel bir role sahiptir (Liu ve ark., 2010; Zhong ve ark., 2011). ROS oluşumunun stimülasyonu yoluyla transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ 1), organ fibrozuna yol açan miR-21 artışını indüklemektedir (Fernandez ve ark., 2016). Ayrıca miR-21, karsinomla ilişkili fibrozis ve fibrotik hastalığa katkıda bulunan bir süreç olan TGF- $\beta$  ile indüklenen endotelial-tomesenkimal geçişte önemli bir rol oynamaktadır (Kumarswamy ve ark., 2012). Bu nedenle miR-21, tümörjenez ve fibrozis sırasında oksidatif stres ile fonksiyonel bir etkileşim sergilemektedir. Dahası, miR-21, endotelial progenitör hücrelerde yüksek mobilite grubu A2' yi baskılayarak hücrel yaşlanmayı arttırmaktadır (Zhu ve ark., 2013). Bunun tersine, miR-34a, bir tümör baskılayıcı ve bir yaşlanma indükleyicisi olarak işlev gördüğü için kanser gelişiminde ve yaşlanma sürecinde tartışmalı fonksiyonlar uygulamaktadır (Hermeking, 2010; Ito ve ark., 2010). miR-34a, kanser hücresi sağkalımını, proliferasyonunu, invazyonunu ve metastaz oluşumunu inhibe ederek, kanser progresyonunu inhibe etmektedir (Guo ve ark., 2011; Sun ve ark., 2012), Böbrek hücresi yaşlanmasını teşvik ederek antioksidan enzimleri inhibe etmektedir (Bai ve ark., 2011). miR-34a, endotelial hücrelerde uzun ömürlü gen sirtuin1'in (SIRT1) bastırılmasıyla hücrel yaşlanmayı indüklemektedir (Ito ve ark., 2010). miR-34a'nın aşırı ekspresyonu, SOD2'nin azalış göstermesi ile genç mezanjiyal hücrelerin prematüre yaşlanmasını indükleyerek ROS oluşumunda bir artışa neden olurken, antisens miR-34a, SOD2'nin artış göstermesi ve ROS' ta azalması eski mezangial hücrelerin yaşlanmasını inhibe etmektedir (Bai ve ark., 2011). Genel olarak, bu bulgular miR-21 ve miR-34a' nın yaşlanma ve tümör progresyonunda önemli rollerinin olduğunu göstermektedir (Chao ve ark., 2017).

Kallistatin, iki yapısal elementi olan bir aktif bölge ve bir heparin bağlayıcı alan olan diferansiyel sinyal yollarını ve geniş bir biyolojik aktiviteyi düzenleyen endojen bir proteindir. Kallistatin, heparin bağlanma alanı aracılığıyla, endotelial hücrelerde TNF- $\alpha$ -indükleyici, NADPH oksidaz aktivitesini ve inflamatuvar gen ekspresyonunu antagonize ederek vasküler inflamasyonu ve oksidatif stresi engellemektedir. Dahası, kallistatin aktif bölgesi aracılığıyla miR-34a sentezini inhibe eder ve endotelial progenitör hücrelerde eNOS ve SIRT1 ekspresyonunu uyarmaktadır. Bununla birlikte heparin bağlama bölgesi TNF- $\alpha$ -indüklü miR-21 ekspresyonunu ve oksidatif stresi bloke etmek için çok önemlidir. Böylece hücrel yaşlanmayı azaltmaktadır. miR-34a ve miR-21 ekspresyonunu azaltarak, kallistatin

tedavisi streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik farelerde oksidatif hasarı ve aortik yaşlanmayı zayıflatır ve *Caenorhabditis elegans* ömrünü stres koşulları altında uzatmaktadır. Benzer şekilde, heparin bağlayıcı alandan kallistatin, endotelial hücrelerde TGF- $\beta$  ile indüklenen miR-21 sentezini ve oksidatif stresi inhibe ederek, endotelial-mezenşimal geçişin engellenmesine, fibrozise ve kansere katkıda bulunmasına neden olmaktadır. Ayrıca, kallistatinin aktif bölgesi miR-34a ve p53 ekspresyonunu stimüle etmek ve miR-21-Akt-Bcl-2 sinyal yolunu inhibe etmek için gereklidir (Chao ve ark., 2017).

## 6.GEREÇ VE YÖNTEM

### 6.1. Gereç

#### 6.1.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Bu çalışma Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Merkezine başvuran hacamat yaptırmak isteyen kadın katılımcılar üzerinde gerçekleştirildi. Katılımcılar 20-45 yaş aralığında 30 kadın ve 45-75 yaş aralığında 30 kadın, toplamda 60 kadından oluşturuldu. Katılımcılara işlem öncesi ve sonrasında tansiyon ölçümü yapıldı. İşleme tansiyonu uygun olan hastalar alındı. İşlem öncesi gönüllülerin hemoglobin düzeyi kontrol edildi; hemoglobin seviyesi 9,5 ve üzeri değerde ise hacamat işlemine alındı. Çalışmamıza antioksidan, vitamin, element takviyesi alan, diyabet, kardiyovasküler rahatsızlık, kronik böbrek rahatsızlığı olan ve gebe kadınlar dahil edilmedi. Bunun yanında bulaşıcı hastalıkları (HIV, Hepatit B), iyot alerjisi olan ve kan sulandırıcı (Antiagregan, salisilik asit, coumadin) her hangi bir ilaç kullanan kadınlar da çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmamızda gruplandırma; grup 1, venöz kanında 25-45 yaş arası kadınlar, grup 2, venöz kanında 45-75 yaş arası kadınlar, grup 3, hacamat kanında 25-45 yaş arası kadınlar, grup 4, hacamat kanında 45-75 yaş arası kadınlar şekilde yapıldı. Çalışmaya dahil edilen katılımcılardan kâhil noktası hacamat kanı ve rutin amaçla alınan venöz kanı alındı. Demografik özellikleri (yaş, boy, vücut kitle indeksi) özenle kaydedildi. Tüplere alınan kan örnekleri çok bekletilmeden santrifüj edilerek, plazma ve serum halinde ayrıldı.

Kan örnekleri çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Toplanan serum örneklerinde (venöz kanda) glikoz, kolesterol, LDL, HDL, trigliserid, üre, kreatinin, ALT ve AST düzeyleri çalışıldı. Hem hacamat hem venöz kandan elde edilen serum örneklerinde MDA ve glutatyon ölçümleri yapıldı. Yine hem hacamat hem venöz kandan elde edilen plazma örneklerinde ise miR-21, miR-34a ve miR-200 ölçümleri yapıldı.

### 6.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

- RTA total miRNA izolasyon kiti
- RTA total miRNA izolasyon kitinin içeriği
  - o Proteinaz K+
  - o Lysis Buffer
  - o Wash Buffer
  - o Binding Buffer
  - o DNase 1
  - o DNase Working Buffer
  - o Elution Buffer
- Applied Biological Materials (abm) cDNA izolasyon kiti
- BrightGreen miRNA qPCR mastermix
- SNORD 44 Referans Gen Primerleri
- Applied Biological Materials (abm) Polly (A) kiti
- Hedef miRNA Primerleri

### 6.1.2.a. MDA ve GSH ELISA Kit İçeriği

- Micro ELISA plate
- Reference Standard
- Concentrated Biotinylated Detection Ab (100×)
- Concentrated HRP Conjugate (100×)
- Reference Standart & Sample Diluent
- Biotinylated Detection Ab Diluent
- HRP Conjugate Diluent
- Concentrated Wash Buffer (25×)
- Substrate Reagent
- Stop Solution
- Plate Sealer
- Manual
- Certificate Of Analysis

### 6.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Araçları

- Santrifüj
- Real Time PCR (LightCycler® 96)

- Roche LightCycler 96 Multiwell Plate
- Etüv
- Mikrosantrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- (DNase & RNase free) ddH2O
- 96-100% Etanol
- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, 2.0 ml)
- Mikropipet seti ve steril filtreli mikropipet uçları
- Spin Kolonlar
- Toplama Tüpleri
- Elüsyon Tüpleri

## **6.2. Yöntem**

### *6.2.1. Plazma Eldesi ve miRNA Analizi*

- Venöz ve hacamat kan örnekleri EDTA'lı tüplere, düz tüplere alındıktan sonra 5-10 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırıldı.
- Kan örneklerinin 2 saat içerisinde serum ve plazma olmak üzere ayrıldı.
- Tüpler 2.000 xg de 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj işlemi sonunda tüpler sarsılmadan dikkatlice santrifüjden çıkarıldı ve yavaşça kapakları açıldı. Plazmanın üst kısmından 200µl'lik pipetlerle (DNase, RNase free, filtreli pipet uçları kullanılarak) 5 kez pipetleme yapıldı. Toplamda 1000 µl örnek temiz eppendorflara aktarıldı.
- Toplanan 1.000 µl'lik bu plazma örneği 2.000 xg' de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmanın üst kısmından (en üstte bir miktar zor görülen lipid birikir ona değmeden) 250 µl'lik kısım steril eppendorf tüpe alındı. Bu işlem alttaki hücresel kısım rahatsız edilmeden (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları kullanılarak) pipet ile çekildi.
- Ayrılmış olan plazma ve serum örnekleri çalışma yapılacağı güne kadar -80 de saklandı.

### 6.2.2. miRNA İzolasyonu

- Plazma örneklerinden 200 µl'lik kısım DNase, RNase free eppendorf tüplere aktarıldı.
- 200 µl plazma örneği üzerine 350 µL Lysis Buffer ve 20 µL Proteinaz K çözeltisi ilave edildi, pipetaj yapıldı, ardından 60 ° C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Kalıntı DNA istenmemesi için tüpe aktarılan sıvının üzerine Binding Buffer tamponu eklemeyen önce 20 µL DNase I Working Tamponu ve 10 µL DNase I eklendi ve pipetaj yapılarak karıştırıldı, oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Üzerine 350 µL Binding Buffer tamponundan eklendi ve dikkatlice pipetaj yapılarak karıştırıldı.
- Lizatın tamamını miRNA Spin Kolonuna (2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş) aktarıldı, kapak kapatılıp ve 1 dakika boyunca 11000 xg'de santrifüj yapıldı.
- Filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Filtreli kolona 500 uL Wash Buffer eklendi ve 11000 xg'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
- Sıvı içeren toplama tüpü atılarak filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Kalan etanolu uzaklaştırmak için 1 dakika süreyle 11000 xg'de santrifüj edildi.
- Sıvı içeren toplama tüpü atılarak miRNA Spin Kolonu temiz 1.5 mL'lik santrifüj tüpüne yerleştirildi.
- miRNA Spin Kolonun filtresinin merkezine önceden 65 ° C'de ısıtılmış Elution Buffer'den 40 uL aktarılıp ve oda sıcaklığında 1-3 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında tüpler 1 dakika boyunca 8000 xg'de santrifüj edildi.
- Tüpte kalan sıvı miRNA içermiş olup ve kullanıma hazır hale getirildi.
- Elde edilen miRNA'lar -20 de saklandı.

### 6.2.3. miRNA'lardan cDNA Eldesi

- Elde edilen miRNA'lardan abm cDNA izolasyon kiti içeriğinde yer alan poly-A mixi kullanılarak miRNA'lara poly-A kuyruğu takıldı.

- Kitin içeriğinde yer alan tüm bileşenler her bir örnek için Tablo1’de belirtilen miktarlarda hazırlandı. Son hacim 25 µl olacak şekilde kitin çalışma protokolüne uygun olarak çalışıldı.

*Tablo 1: Poly (A) mix içeriği*

RNA	15,25 µl
ATP 10 mM	1,25 µl
Poly(A) polymerase, yeast (1 U/µL)	1 µl
5x Poly(A) polymerase, yeast reaction buffer	5 µl
25 mM MnCl <sub>2</sub>	2,5 µl (2,5 mM)
Toplam	25 µl

- Yapılan bu işlemlerin ardından ısı protokolü tablo 2 de belirtilen şekilde Light Cycler cihazında uygulandı.

*Tablo 2: Poly (A) ‘nın bağlanması için gereken süre*

37° C	20 dakika
65° C	20 dakika

- Poly-A takılı olan miRNA’lar +4 te bekletildi ve bu sürede cDNA eldesi için yine aynı firmanın cDNA mix protokolü uygulanarak mixler hazırlandı. Öncelikle cDNA mix 1 hazırlandı ve içeriği tablo 3 de belirtildiği gibidir.

*Tablo 3: cDNA mix 1’in içeriği*

RNA (poly a kuyruklu)	10 µl
Mirna oligo (dT) adapter (10 µM)	2 µl
Toplam	12 µl

- Hazırlanan mix 65° C’de 5 dakika bekletildi, sonrasında +4 te tutuldu.
- Hemen sonrasında cDNA mix 2 hazırlandı. Mix hazırlanırken kullanılan bileşenler ve hacimler tablo 4 te belirtildiği gibi uygulandı.

Tablo 4: cDNA mix 2’nin içeriği

dTNPs (10 mM)	1 µl
5x rt buffer	4 µl
RNase off ribonuclease inhibitör	0,5 µl
Onescript Rtase	1 µl
RNase free water	1,5 µl
Toplam	20 µl

- Mix 1 ve mix 2 birbirine karıştırıldı. Hazırlanan cDNA sentez mix ve RNA karışımları yine üretici firmanın miRNA onescript cDNA sentez kiti için hazırlanmış olduğu kılavuzda ki tavsiyelerine uyularak aşağıdaki ısı ve sürelerde işlem görmek üzere Light Cyclus 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate yüklendi.
  - o 42 C de 15 dk
  - o 72 °C de 10 dk.
  - o +4 °C de saklandı
- Uygulanan protokol sonrasında cDNA’lar elde edildi. Elde edilen cDNA lar PCR aşaması öncesi nanodropp ile ölçümleri yapılarak her cdna 250 ng düşürülecek şekilde PCR grade water ile seyreltildi. Hazırlanan karışımlar Light Cyclus 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plate yüklendi.

#### 6.2.4. Real Time PCR

- cDNA’ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla BrightGreen Master Mix ve SNORD44 PCR Primer Mix’leri üretici firmanın tavsiyelerine uyularak tablo 5’de belirtilen hacimlere göre hazırlandı.

Tablo 5: BrightGreen Mastermix ve SNORD44 primer mastermix içeriği

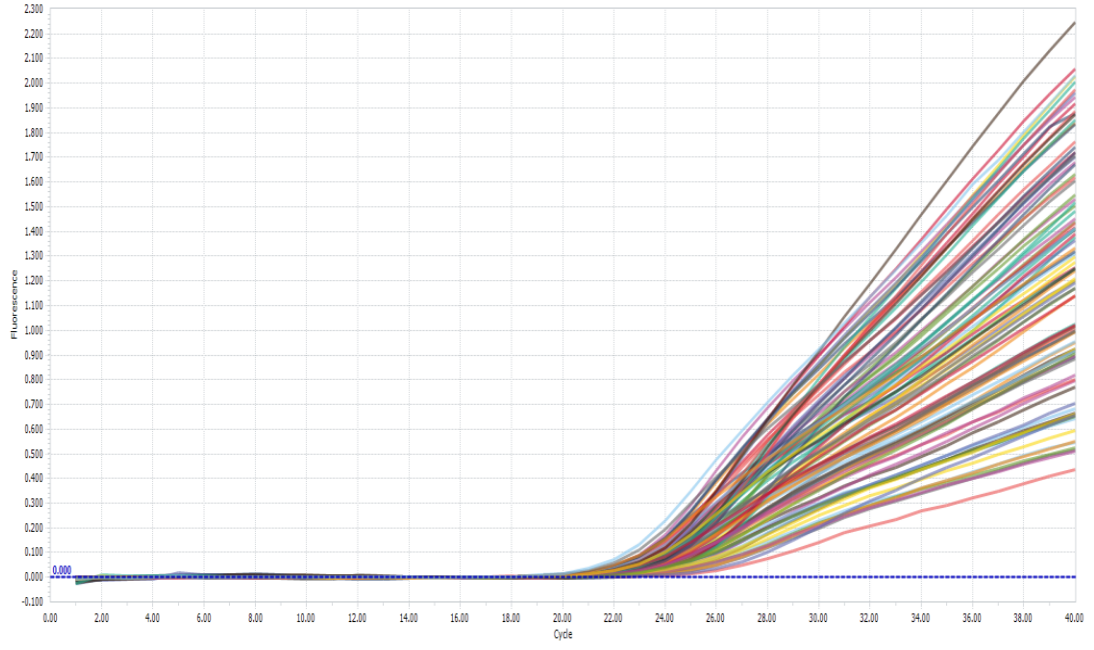
Bright Green Master Mix	10 µl
miRNA forward Primer 300 nM	1 µl
miRNA reverse primer 300 nM	1 µl
cDNA 250 ng	2 µl
H <sub>2</sub> O	6 µl
Total Volume	20 µl

- Hazırlanan referans gen real time PCR mix'leri ve hedef gen (miR-21, miR-34a, miR-200a) real time PCR mix'leri uygun cDNA'lar ile Light Cycler 96 sistemine ait 96 kuyucuklu plateler üzerinde bir araya getirildikten sonra tablo 6' da belirtilen ısı protokolü uygulanarak Light Cycler 96 sisteminde real time PCR işlemine alındı.

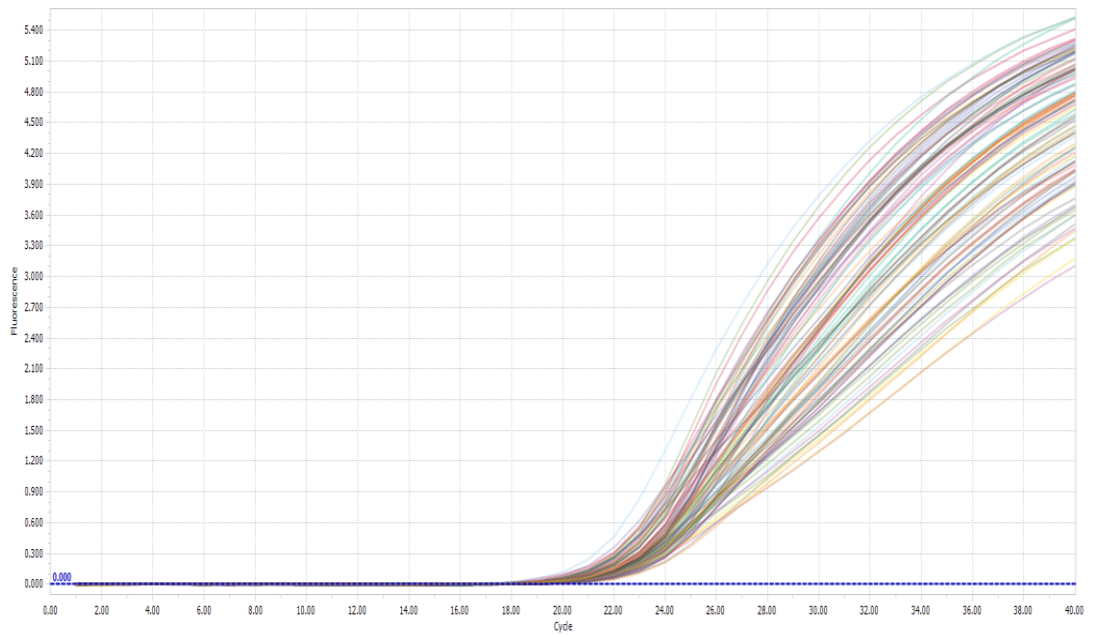
Tablo 6: Real time PCR ısı protokolü

<b>Denaturasyon</b>	95°C de 10 dk.
<b>Amplifikasyon</b> Bu döngü 40 kez sağlanır. (40 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	95°C de 10 sn. 60°C de 15sn 72 °C de 30 sn Okuma
<b>Melting Curve</b>	95°C de 30 sn. 50 °C de 1 dk. 90 °C de continue (Acquisitions 3 per/°C)
<b>Cooling</b>	40 °C de 1 dk.

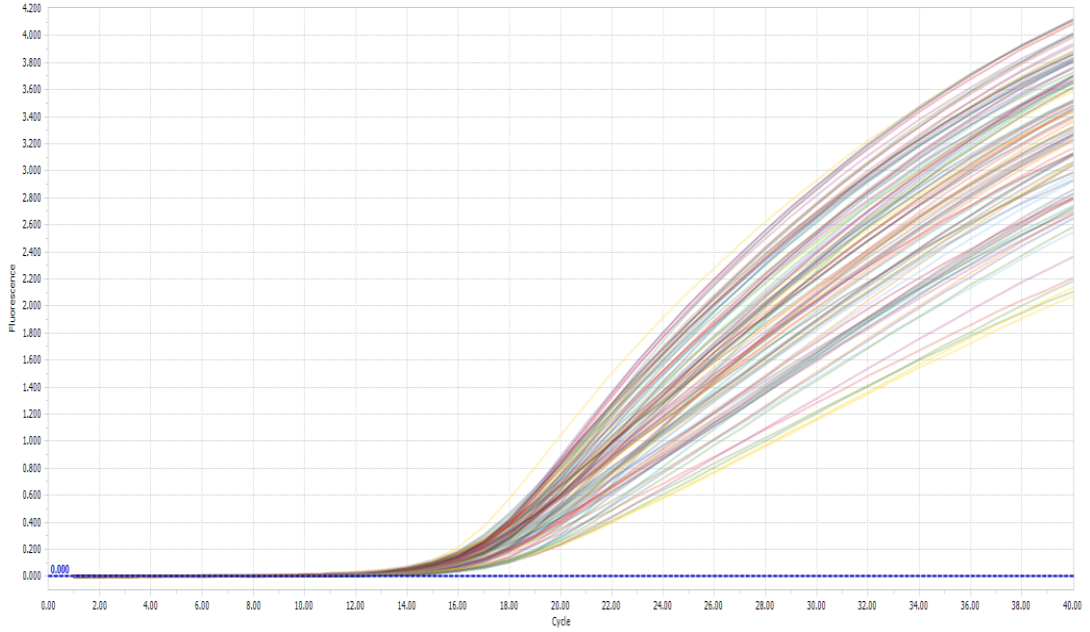
Grafik 1: miR-21 Aplikasyon Eğrisi



Grafik 2: miR-34a Aplikasyon Eğrisi



Grafik 3: miR-200a Aplikasyon Eğrisi



### 6.2.5. MDA Ölçümü

MDA ölçümü, ticari kit kullanılarak ( Elabscience ) ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Testin prensibi, insan MDA'sının farklı epitoplarına bağlanan iki anti-MDA poliklonal antikorunu kullanılarak yapılan sandviç ELISA yöntemidir.

ELISA kuyucuklarına konulan serumdaki MDA, kuyucuklardaki katı faza bağlı bulunan anti-MDA antikorunu ile reaksiyona girer. İlk inkübasyon periyodundan sonra reaktif olmayan plazma komponentleri yıkama ile uzaklaştırılır. Sonra her bir mikro plate kuyusuna Horseradish Peroksidaz'a (HRP) bağlı 2. antikor eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra her bir göze bir TMB substrat çözeltisi eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk değişimi, spektrofotometrik olarak  $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$  dalga boyunda ölçülür. Çalışma sonunda standartların grafiğinden MDA konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans değerleri ile numelerin konsantrasyonu hesaplanır.

### **6.2.6. Glutasyon Ölçümü (GSH)**

GSH ölçümü, ticari kit kullanılarak ( Elabscience ) ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Testin prensibi, insan GSH'nın farklı epitoplarına bağlanan iki anti-GSH poliklonal antikor kullanılarak yapılan sandviç ELISA yöntemidir.

ELISA kuyucuklarına konulan serumdaki GSH, kuyucuklardaki katı faza bağlı bulunan anti-GSH antikor ile reaksiyona girer. İlk inkübasyon periyodundan sonra reaktif olmayan plazma bileşenleri yıkama ile uzaklaştırılır. Sonra her bir mikro plate kuyusuna Horseradish Peroksidaz'a (HRP) bağlı 2. antikor eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra her bir göze bir TMB substrat çözeltisi eklenir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk değişimi, spektrofotometrik olarak 450 nm  $\pm$  2 nm dalga boyunda ölçülür. Çalışma sonunda standartların grafiğinden GSH konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans değerleri ile numuların konsantrasyonu hesaplanır.

### **6.3. İstatiksel Analiz**

İstatistiksel analiz SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışma grupları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Veriler ortalama değerleri  $X \pm SD$  standart sapma olarak verildi. Test sonuçlarında  $p < 0.05$  anlamlı olarak değerlendirildi. Çalışmamıza ait parametreler arası korelasyon “ Spearman korelasyon testi ” ile yapıldı.

## 7. BULGULAR

Grup 1 ve Grup 2'ye ait demografik özellikler tablo 7'de verilmiştir. Tablo 7'de görüldüğü gibi grup 1'e ait yaş ( $p<0.001$ ) ve VKİ ( $p<0.05$ ) değerleri grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur. Bunun yanında, grup 1'e ait boy ve kilo değerleri grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Tablo 7: Grup 1 ve Grup 2'nin demografik özellikleri

<b>Demografik Özellikler</b>	<b>Grup 1 (n=30)</b>	<b>Grup 2 (n=30)</b>	<b>P</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	34.80 ± 6.81	54.63 ± 6.62	p<0.001
<b>Boy (cm)</b>	1.62 ± 0.06	1.61 ± 0.05	0.623
<b>Kilo (kg)</b>	69.04 ± 10.94	74.15 ± 12.07	0.091
<b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.83 ± 4.13	28.00 ± 4.03	0.045

**VKİ: Vücut Kitle İndeksi**

Grup 1 ve grup 2'ye ait biyokimya parametrelerinin düzeyleri tablo 8' de gösterilmiştir. Tablo 8' de görüldüğü gibi grup 1'e ait serum glukoz düzeyleri grup 2 ile karşılaştırıldığında, istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ). İlâveten, grup 1'e ait serum kolesterol, LDL, HDL, VLDL, TG, kreatinin, ALT, AST, üre ve hemoglobin düzeyleri grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Tablo 8: Grup 1 ve Grup 2'nin biyokimyasal parametrelerinin seviyeleri

<b>Biyokimyasal Parametreler</b>	<b>Grup 1 (n=30)</b>	<b>Grup 2 (n=30)</b>	<b>P</b>
<b>Glukoz (mg/dL)</b>	94.48 ± 11.15	106.74 ± 16.23	0.002
<b>Kolesterol (mg/dL)</b>	202.23 ± 38.10	206.77 ± 33.33	0.626
<b>LDL (mg/dL)</b>	115.57 ± 32.58	119.97 ± 25.26	0.561
<b>HDL (mg/dL)</b>	53.99 ± 11.49	51.18 ± 11.10	0.340
<b>VLDL (mg/dL)</b>	28.83 ± 12.64	30.83 ± 14.66	0.574
<b>TG (mg/dL)</b>	146.23 ± 62.85	156.07 ± 73.36	0.579
<b>Üre (mg/dL)</b>	26.87 ± 6.94	30.71 ± 10.03	0.091
<b>Kreatinin (mg/dL)</b>	0.79 ± 0.08	0.78 ± 0.08	0.610
<b>ALT (mg/dL)</b>	16.36 ± 6.26	19.50 ± 10.12	0.156
<b>AST (mg/dL)</b>	16.73 ± 5.05	18.34 ± 4.21	0.189
<b>Hemoglobin (mg/dL)</b>	13.08 ± 0.92	13.15 ± 1.17	0.818

**LDL: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), HDL: High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein, VLDL: Very Low Density Lipoprotein (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), TG: Trigliserid, ALT: Alanin Amino Transferaz, AST: Aspartat Amino Transferaz.**

Grupların miRNA düzeyleri tablo 9’ da ve grafik 4, grafik 5 ve grafik 6 da gösterilmiştir. Tablo 9’dan ve grafiklerden görüldüğü gibi yapılan ANOVA testi sonucuna göre grupların plazma miR-21 (p=0.001), miR-34a (p<0.001) ve plazma miR-200a (p=0.029) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. Grup 2’ e ait plazma miR-21 düzeyi grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0.05). Yine, grup 3’ e ait plazma miR-21 düzeyi grup 4 ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı düşük bulunmuştur (p<0.001). Grup 1’ e ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0.001). Grup 2’ ye ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0.001). Grup 3’ e ait plazma miR-34a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0.01). Grup 1’ e ait plazma miR-200a düzeyleri grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p<0.05).

Tablo 9: Gruplara ait plazma miRNA düzeyleri

	<b>Grup 1</b> (n=30)	<b>Grup 2</b> (n=30)	<b>Grup 3</b> (n=30)	<b>Grup 4</b> (n=30)	<b>P</b>
<b>miR-21</b>	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.11 ± 0.13	0.001
<b>miR-34a</b>	0.54 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.31 <sup>c</sup>	1.17 ± 0.95	p < 0.001
<b>miR-200a</b>	18.27 ± 11.38 <sup>a</sup>	26.96 ± 12.44	27.77 ± 19.67	31.25 ± 21.60	0.029

a; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.05), b; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.001), c; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.01).

Grupların serum MDA ve serum glutasyon düzeyleri tablo 10’ da ve grafik 7 ve grafik 8 de gösterilmiştir. Tablo 10’ dan ve grafiklerden görüldüğü gibi gruplar arasında serum MDA ve glutasyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 10: Gruplara ait glutatyon ve MDA düzeyleri

	<b>Grup 1</b> <b>(n=30)</b>	<b>Grup 2</b> <b>(n=30)</b>	<b>Grup 3</b> <b>(n=30)</b>	<b>Grup 4</b> <b>(n=30)</b>	<b>P</b>
<b>GSH</b>	136.21 ± 32.48	135.57 ± 37.43	136.2 ± 22.32	127.5 ± 29.30	0.735
<b>MDA</b>	2397.1 ± 818.9	2531.4 ± 980.1	2883.7 ± 1371.5	3035.7 ± 1878.8	0.360

Grup 1'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar tablo 11' de verilmiştir. Tablo 11' de görüldüğü gibi plazma miR-21 düzeyleri ile plazma miR-34a ( $r=0.556$   $p=0.001$ ) ve miR-200a ( $r=0.458$   $p=0.011$ ) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunmaktadır.

Tablo 11: Grup 1'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar

	<b>miR-21</b>	<b>miR-34a</b>	<b>miR-200a</b>	<b>GSH</b>	<b>MDA</b>
<b>miR-21</b>	-	$r=0.556$ $p=0.001$	$r=0.458$ $p=0.011$	$r=0.058$ $p=0.798$	$r=0.024$ $p=0.914$
<b>miR-34a</b>	$r=0.556$ $p=0.001$	-	$r=0.307$ $p=0.099$	$r=-0.004$ $p=0.985$	$r=0.082$ $p=0.718$
<b>miR-200a</b>	$r=0.458$ $p=0.011$	$r=0.307$ $p=0.099$	-	$r=-0.083$ $p=0.714$	$r=-0.012$ $p=0.957$

Grup 2'ye ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar tablo 12' de verilmiştir. Tablo 12' de görüldüğü gibi plazma miR-21 düzeyleri ile plazma miR-34a düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunmaktadır ( $r=0.466$ ,  $p=0.009$ ). Plazma miR-200a düzeyleri ile serum glutasyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunmaktadır ( $r=0.413$ ,  $p=0.050$ ).

*Tablo 12:* Grup 2'ye ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar

	<b>miR-21</b>	<b>miR-34a</b>	<b>miR-200a</b>	<b>GSH</b>	<b>MDA</b>
<b>miR-21</b>	-	$r=0.466$ $p=0.009$	$r=0.031$ $p=0.872$	$r=0.081$ $p=0.713$	$r=-0.171$ $p=0.436$
<b>miR-34a</b>	$r=0.466$ $p=0.009$	-	$r=0.234$ $p=0.213$	$r=0.171$ $p=0.434$	$r=0.054$ $p=0.806$
<b>miR-200a</b>	$r=0.031$ $p=0.872$	$r=0.234$ $p=0.213$	-	$r=0.413$ $p=0.050$	$r=0.156$ $p=0.478$

Grup 3'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar tablo 13'te verilmiştir. Tablo 13' te görüldüğü gibi plazma miR-21 düzeyleri ile plazma miR-34a ( $r=0.676$   $p<0.001$ ), miR-200a ( $r=0.389$   $p=0.034$ ) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunurken, serum glutasyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır ( $r=-0.591$   $p=0.004$ ). Plazma miR-34a düzeyleri ile serum glutasyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır ( $r=-0.421$   $p=0.050$ ). Plazma miR-200a düzeyleri ile serum glutasyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır ( $r=-0.554$ ,  $p=0.007$ ).

Tablo 13: Grup 3'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar

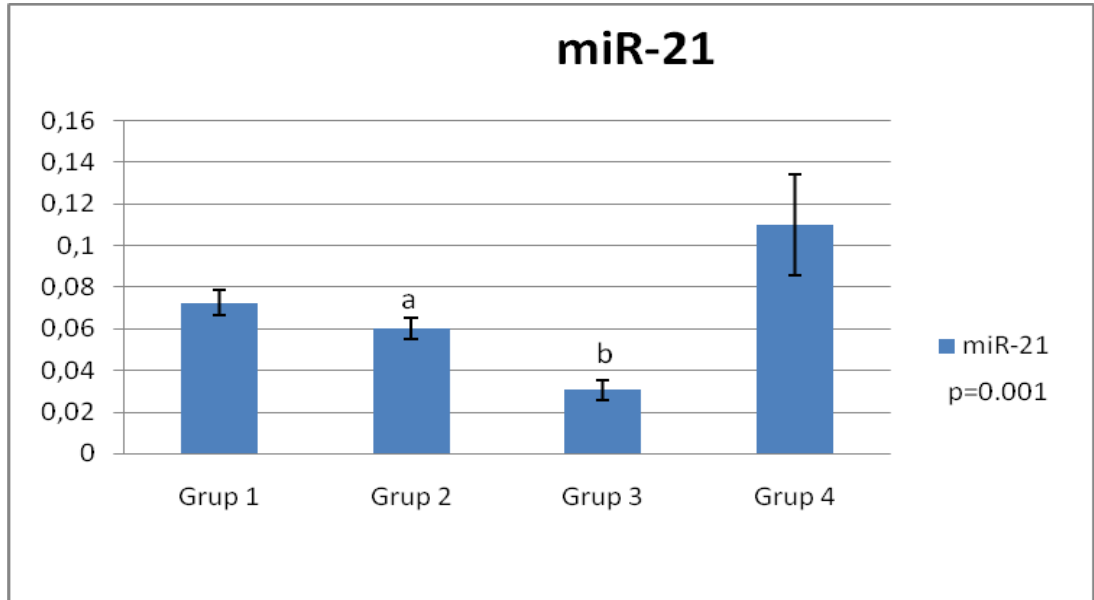
	<b>miR-21</b>	<b>miR-34a</b>	<b>miR-200a</b>	<b>GSH</b>	<b>MDA</b>
<b>miR-21</b>	-	r=0.676 p<0.001	r=0.389 p=0.034	r=-0.591 p=0.004	r=0.253 p=0.256
<b>miR-34a</b>	r=0.676 p<0.001	-	r=0.111 p=0.559	r=-0.421 p=0.050	r=0.269 p=0.225
<b>miR-200a</b>	r=0.389 p=0.034	r=0.111 p=0.559	-	r=-0.554 p=0.007	r=-0.117 p=0.603

Grup 4'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar tablo 14' te verilmiştir. Tablo 14' te görüldüğü gibi plazma miR-21 düzeyleri ile plazma miR-34a (r=0.586 p=0.001), miR-200a (r=0.579 p=0.001) düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunurken, serum glutatyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır (r=-0.433 p=0.039). Plazma miR-34a düzeyleri ile plazma miR-200a düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı pozitif korelasyon bulunurken (r=0.870 p<0.001), serum glutatyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır (r=-0.473 p=0.023). Plazma miR-200a düzeyleri ile serum glutatyon düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı negatif korelasyon bulunmaktadır (r=-0.426, p=0.042).

Tablo 14: Grup 4'e ait plazma miRNA düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasında korelasyonlar

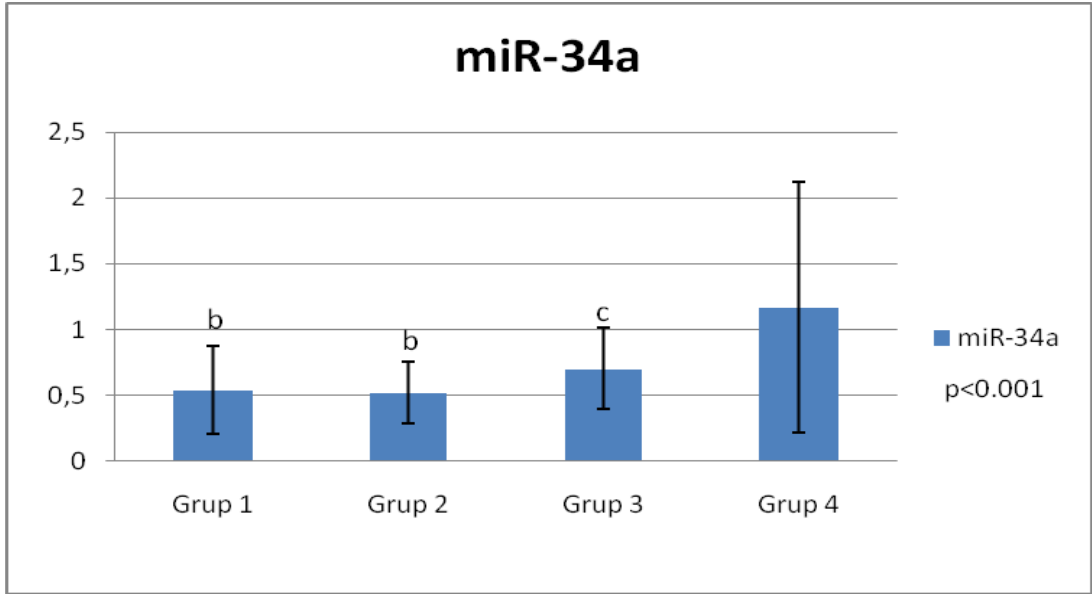
	miR-21	miR-34a	miR-200a	GSH	MDA
miR-21	-	r=0.586 p=0.001	r=0.579 p=0.001	r=-0.433 p=0.039	r=0.071 p=0.746
miR-34a	r=0.586 p=0.001	-	r=0.870 p<0.001	r=-0.473 p=0.023	r=0.062 p=0.780
miR-200a	r=0.579 p=0.001	r=0.870 p<0.001	-	r=-0.426 p=0.042	r=0.022 p=0.920

Grafik 4: Gruplara ait plazma miR-21 düzeyleri



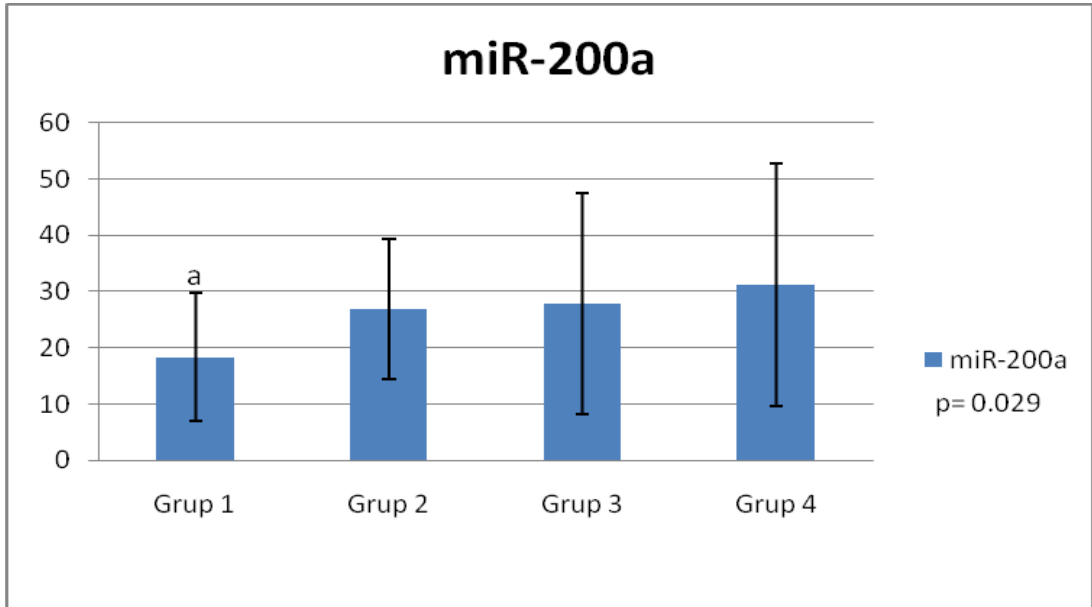
a; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.05), b; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.001).

Grafik 5: Gruplara ait plazma miR-34a düzeyleri



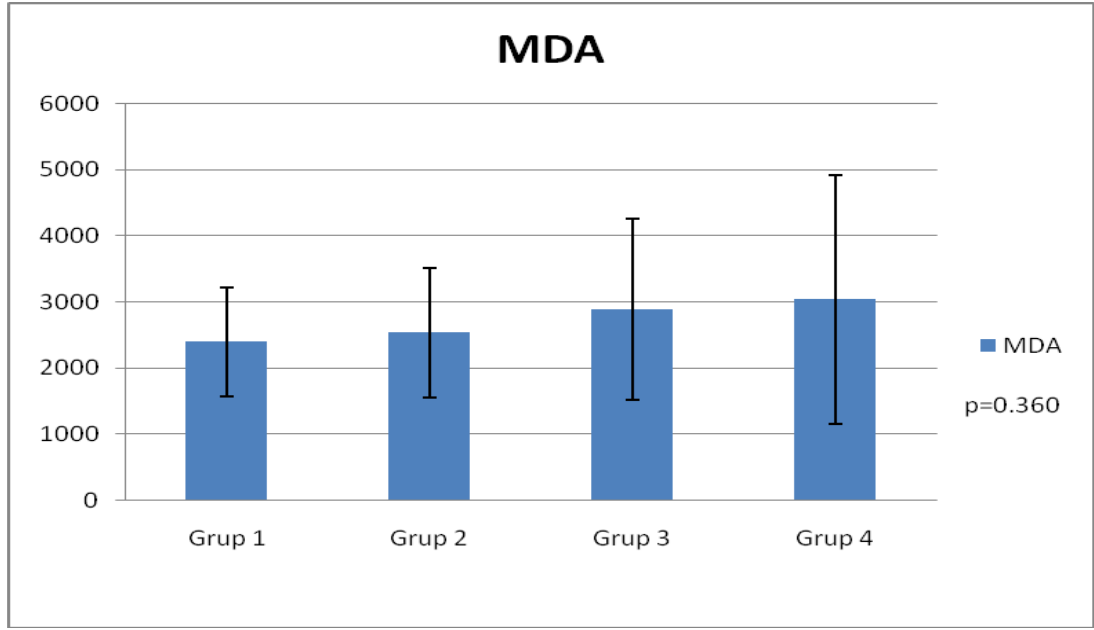
**b; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.001), c; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.01).**

Grafik 6: Gruplara ait plazma miR-200a düzeyleri

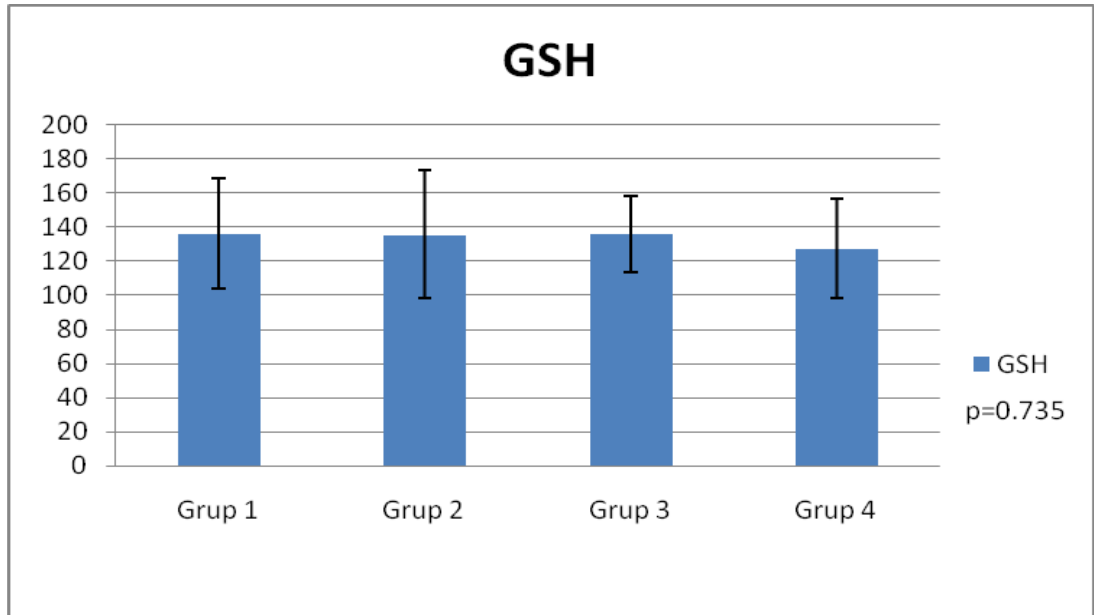


**a; Grup 4 ile karşılaştırıldığında (p<0.05).**

Grafik 7: Gruplara ait serum MDA düzeyleri



Grafik 8: Gruplara ait serum GSH düzeyleri



## 8. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hacamat, kirli kan ile yabancı maddeleri vücuttan atma işlemi olarak tanımlanmaktadır. Tamamlayıcı ve geleneksel tedavi uygulamalarından olan hacamat yani kupa ile tedavi en eski tedavi yöntemlerinden biridir. Uygulamada vücudun belirli bölgelerine yerleştirilen kupalar, negatif basınç oluşturacak şekilde cilde yerleştirilir, basınçla cilt kabarır. Vücuda yerleştirilen kupa etkisiyle uyuşan, negatif basınçla kabaran deriye kesici bir aletle derin olmayan kesikler atılarak kanın dışarı atılımı sağlanır. Vücuttan atılan kan, kirli kan olarak bilinir (Akdağ, 2014; Kılınç, 2015; Okumuş, 2016). Hacamatla, hastalıklara yol açan potansiyel zararlı maddelerin vücuttan atılımı sağlanarak, vücuttaki dengenin yeniden sağlanması amaçlanır. Ayrıca, vücuttaki var olabilecek ilaç metabolitleri, kimyasal maddeler, ağır metaller ve vücut içi toksik maddelerin atılımının sağlandığı da düşünülür (El Sayed ve ark., 2013). Yapılan diğer bir araştırmada hacamat, metabolizma sonucu açığa çıkan metabolik atıkları vücuttan atılımını kolaylaştırdığı ve tedavi amaçlı kullanılan birçok ilacın zararlı etkisini azalttığı belirtilmiştir (Sayed ve ark., 2014).

Hücreler metabolik sürecin bir parçası olarak devamlı serbest radikal ve reaktif oksijen türlerini oluştururlar. Vücutta oksijen radikallerinin artması sonucu ortaya çıkan duruma “oksidatif stres” denir. Oksidatif strese kaynaklık eden bütün etkilere karşı vücutta savunma görevini antioksidanlar göstermektedir (Koca, 2003; Antmen, 2005; Özcan ve ark., 2015). Antioksidan sistem, hasar öncesi radikal oluşumunu kısıtlar ve antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek radikallerin hücrelere zarar vermelerini önlemektedir. Hücre ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı korur, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler ve mutasyonları önlemektedir (Sorg, 2004). Antioksidan sistemin yetersiz kaldığı durumda oksidan maddeler DNA polimeraz aktivitesini de inhibe ederek, hücre hasarı ve ölümüne neden olmakla birlikte biyolojik membranlara zarar vermektedir (Yerer ve Aydoğan, 2000). ROS, oksidatif stres, hipertansiyon, diyabetik vaskülopati, hiperkolesterolemi ve ateroskleroz gibi farklı vasküler hastalıklarda nedensel bir rol oynamaktadır. Endotelial ve vasküler düz kas hücresi fonksiyonlarını bozduğu, kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda da rol oynadığı bilinmektedir (Koca, 2003; Toy, 2012).

miRNA'lar, hedef mesajcı RNA'ların stabilitesini veya translasyonel verimliliğini modüle eden kodlayıcı olmayan RNA molekülleridir. Redoks dengesizliği, hücrel yanıtlar da dahil olmak üzere çoğu biyolojik işlemde modüle edildiği görülmektedir (Magenta ve ark., 2013). Oksidatif stres ve miRNA'lar, biyolojik molekülleri etkilemesinden kaynaklı yaşlanma ve hastalıkların oluşumunda, önemli olgulardır. Vücudumuzdaki genler miRNA'lar tarafından kontrol edilmektedir. Ayrıca miRNA'lar hücrel yaşlanmayı tetikleyen süreçte, oksidatif stres, mitokondriyal hasar, telomeraz kısalması ve daha birçok olayda rol oynamaktadır (Şar, 2013). Oksidatif stres ile vücutta artan serbest oksijen radikallerinin vücuttan kan aldırma yöntemi, hacamat ile azaltılabileceği ifade edilmektedir (Okumuş, 2016).

Literatür taramamıza göre daha önce hacamat ile miRNA arasındaki ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu yüzden çalışmamızın daha ileriki araştırmalar için yeni bir kapı aralayacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda baktığımız miRNA'ların venöz kanda ve hacamat kanında farklı düzeylerde çıktığını gözlemledik. Dahası bu farklılık oksidatif streste etkili olduğu ve bir oksidatif stres parametresi olarak lanse edilen ilgili miRNA'ların (miR-21, miR-34a, miR-200) seviyelerinin hacamat kanında venöz kana göre seviyelerinin daha yüksek olduğunu gözlemledik (tablo 9). Bu bulgular hacamatla, hastalıklara yol açan potansiyel zararlı maddelerin vücuttan atılımının sağlanması tanımını doğrulamaktadır. Yine çalışmamızda MDA düzeylerinin venöz kana kıyasla hacamat kanında daha yüksek seyrettiğini ve GSH düzeylerinin ise hacamat kanında venöz kana göre azalma eğilimi gösterdiği gözlemledik. Fakat bu sonuçlar istatistiki anlamlılık ifade etmemektedir. Yaptığımız literatür taramasında oksidatif stres temelli bir çok hastalıkta hacamatın potansiyel yararlı etkilerinden bahsedilen bir çok çalışmaya rastladık. Bizim sonuçlarımızı da dolaylı olarak destekleyen bu bulguları aşağıda derledik.

Yaraların iyileşmesinde rolü olan nitrik oksidin sentezi, oksidatif stresle azalmaktadır. Nitrik oksit yaraların onarımı için büyük bir etkiye sahiptir fakat diyabet hastalarında nitrik oksit miktarı azalır, hacamat işlemi ile nitrik oksit seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (El Sayed ve ark., 2013). Romatoid artrit hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, farmakolojik tedaviye destek amaçlı uygulanan hacamatın, hastalarda immün sistemde immünomodülatör etki oluşturarak farmakolojik tedavilerin yan etkilerinde ve VAS, şiş eklem sayısında, hastalık

aktivite skorlarında dramatik azalma görülmüştür (Ahmed ve ark., 2005). Migren hastalarında şiddetli baş ağrısı ve migren ataklarının, hacamat uygulamasından sonra ağrıda azalmaya sebep olduğu bildirilmektedir (Ahmadi ve ark., 2008). Yine astımlı hastalarda, hacamat uygulamasından sonra solunum fonksiyon testleri incelendiğinde düzelme meydana geldiği tespit edilmiştir (Abd al-Jawad ve ark., 2011).

Kore’de yapılan bir çalışmada sürekli bilgisayar kullanımından kaynaklı boyun ağrısı olan kişilerde hacamat sonrasında ağrı şiddetinde azalma ve boyunda rahatlama görülmüştür (Kim ve ark., 2012). Hacamat sonrası fibromiyaljili hastalarda, bel ağrısı olan hastalarda ağrı skorlarında anlamlı bir şekilde düzelme tespit edilmiş, herhangi bir yan etkisi ile karşılaşılmamıştır (Farhadi ve ark., 2009). Ranaei-Siadat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hacamatın lipid paneline olan etkisi araştırmışlar ve hacamat sonrası kolesterol, HDL, LDL seviyelerinde düzelme olduğu kaydedilmiştir (Ahmed ve ark., 2011).

P53 hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve tümörigenezin önlenmesinde önemli bir proteindir. Genomun koruyucusu olarak da adlandırılacak kadar büyük bir önem taşımaktadır. P53 benzer özellikteki p16 ve p21 proteinleri ile birlikte miRNA’lar ile etkileşim halindedirler. miR-34a, p53 tarafından artış gösterebilmektedir. Bununla beraber P53’ün bir inhibitörü olan SIRT1 ile (silent information regulator) bağlandığında inaktif hale geçebilmektedir (Chang ve ark., 2007; Yamakuchi ve ark., 2008). Aynı zamanda p53’ü inhibe eden protein ailesinden E2F tarafından da bu miRNA’nın sentezi baskılanabilmektedir. miRNA’ların miR-106b ailesi, p21 transkriptinin 3’ UTR’sini hedeflemekte ve translasyonunu önlemekte böylece tümör baskılayıcı gen olarak işlev görmektedir. miR-21, p21’i hedefleyebilir, çünkü genelde yaşlanmaya yol açan Drosophila, yardımcı proteini olan DGCR8’in silinmesinin etkilerini tersine çevirdiği görülmüştür (Bonifacio ve Jarstfer, 2010). Çalışmamızda venöz kana göre hacamat kanında miR-34a yükselme, GSH ise azalma eğilimi göstermekte ve miR-34a hem grup 3 de hemde grup 4 de GSH ile negatif korelasyon göstermekte idi. Buda gösteriyor ki oksidatif stres temelli bir durumda antioksidan seviyelerinin azalmasına paralel koruyucu etki adına miR-34a seviyeleri artış gösterebilmektedir. Yine bizim çalışmamızı destekler mahiyette Bai ve ark. (2011), yılında yaptıkları çalışmalarında miR-335 ve miR-34a gibi miRNA’ların ROS üretimini artırmakta olduğunu ve

mitokondriyal antioksidatif enzimlerin ekspresyonunu azaltarak etki etmekte olduğunu ifade etmişlerdir.

Yaşlanmayla birlikte görülen ortak bir durum, birçok organda, bazı miRNA'ların ifadeindeki değişimin gözlenmesidir (Maes ve ark., 2008). miR-34a'nın, hTERT yolağının inaktivasyonuna yol açarak, c-myc yolağının inhibisyonu yoluyla hepatoselüler karsinom hücrelerinde yaşlanmayı teşvik ettiği gösterilmektedir. C-myc'nin inaktivasyonu, miRNA'lar dahil tüm RNA'ların transkripsiyonunu inhibe eden bir miRNA örneği sağlar (Xu ve ark., 2015).

Yaşlanmaya mitokondriyal hasarın neden olduğu bilinmektedir. miRNA'lar mitokondrinin otofajisini kontrol ederek, yaşlanma indüksiyonunu modüle etmektedir. miR-210, miR-376a, miR-486-5p, miR-494 ve miR-542-5p, birçok farklı mekanizma yoluyla otofajiyi kontrol etmektedir (Faraonio ve ark., 2011). Öte yandan, miR-101'in otofajiyi, bir dizi pro-otofajik proteini hedefleyerek inhibe ettiği gösterilmektedir (Frankel ve ark., 2011). miR-34a'nın *C.elegans*'taki ve yüksek organizmalarda otofajiyi inhibe ettiğini gösteren kanıtlar da bildirilmiştir (Yang ve ark., 2011). Dahası, miR-34a, fare modellerinde beyin yaşlanmasının biyolojik belirteci olarak tanımlanmıştır (Li ve ark., 2011).

Telomerler, ilerleyen yaş neticesinde kısalırlar ve kısalma süreci miRNA ifadesi ve yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir. Telomerik tekrar bağ faktörleri olan TRF1 ve TRF2, telomerlerin bakımı için gerekli proteinlerdir. miR-23a'nın, TRF2 transkriptinin 3' UTR'sini doğrudan hedefleme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Luo ve ark., 2015). miR-23a'nın aşırı ekspresyonu, telomer işlev bozukluğuna ve yaşlanmanın daha hızlı başlamasına neden olmaktadır. Yan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, insan fibroblastlarında doğal maya proteininin TRF2'nin artışına neden olduğu ve aynı zamanda miR-29a-3p, miR-30a-5p ve miR-34a-5p'nin de azalışına yol açtığı gösterilmiştir (Yan ve ark., 2015). Yukarıdaki bilgiler ışığında şu yorumu yapabiliriz ki, bizimde çalışmamızda yaş almaya bağlı olarak artan miR-34a seviyelerinin yüksekliğinin aynı miR-23a da olduğu gibi telomer işlev bozukluğuna sebep olarak gerçekleştirdiğini düşünebiliriz.

İnflamasyon (iltihaplanma), kızarıklık şişme ve ağrı ile karakterize immünolojik bir süreçtir. İnflamasyon, yaşlanmanın tetiklenmesinde rol oynar ve yaşla birlikte artma eğilimi göstermektedir. miR-21'in yaşlanmaya bağlı

iltihaplanmanın, “iltihaplanma-yaşlanma” olarak bilinen bir sürecin yanı sıra kardiyovasküler hastalık için bir biyo belirteç olduğu gösterilmektedir (Olivieri ve ark., 2012a ). İnflamatuvar sitokinlere maruz kalmaya yanıt olarak pankreasın beta hücrelerinde miR-21 seviyelerinde artmış ve insülin sekresyonunda rol alan proteinlerin ekspresyonunda azalma meydana gelmiştir (Roggli ve ark., 2010). miR-146a, miR-21 gibi pankreasın beta hücrelerindeki pro-inflamatuvar sitokinlere tepki olarak modüle edilmektedir (Roggli ve ark., 2010). Bizim de çalışmamızda yaş almayla ve hacmat kanında venöz kana göre miR-21 seviyeleri artış göstermiştir. Yukarıdaki araştırmacının bulguları bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Yaşlanma ile fare karaciğerinde, miR-93, miR-214 ve miR-669c ve miR-709 daha yüksek seviyelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (Maes ve ark., 2008). Dahası, çok yaşlı farelerin karaciğerlerinde, spesifik olarak miR-93 ve miR-214'ün yüksek seviyelerde eksprese edildiği bildirilmiştir. Topluca bu miRNAların, normalde hücreleri oksidatif proseslerden koruyan glutatyon-S-transferazları aşağı seviyede düzenledikleri tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların artış göstermesi yaşlanmış hepatositlere özgü bir profil sağlayabilir. Bu çalışmaya benzer şekilde bizimde çalışmamızda oksidatif stresle ilişkilendirilmiş ilgili miRNA'ların yaş almayla seviyesinin arttığı ve GSH seviyelerinin azaldığı dahası GSH ile negatif korelasyon gösterdiğini gözlemledik.

İnsan umbilikal endotel hücrelerinin, 200  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 8 ve 24 saat boyunca tedavi edilen miRNA profili, miR-200 aile üyelerinin artışı göstermektedir (Magenta ve ark., 2011). Bu miRNA ailesi, kromozom 12 üzerinde kümelenmiş miR-200c ve miR-141 ve miR-200a, miR-200b ve kromozom 1 üzerinde kümelenmiş miR-429 ile birlikte beş üyeden oluşur (Brabletz ve Brabletz, 2010). Yapılan çalışmalar kanser de, apoptoz ve yaşlanmada miR-200 aile üyelerinin rolünün altını çizmektedir. Örneğin, miR-200c' nin pro-apoptotik bir rolü keşfedilmiştir, bu miRNA'nın apoptoz inhibitörü FAP1'i hedeflediğini ve böylece tümör hücrelerini apoptosise duyarlı hale getirdiğini ortaya çıkarmıştır (Schickel ve ark., 2010). miR-200c' nin insan fibroblastlarında ve insan trabeküler ağ örgülü hücrelerinde kronik oksidatif stres kaynaklı yaşlanma da seviyesinin artış gösterdiği bildirilmiştir (Li ve ark., 2010).

Wang ve ark. (2010), yılında yaptıkları çalışmalarında yukarıdaki araştırmacının ve bizim bulgularımızı destekler mahiyette oksidatif stres üzerine miR-200 ailesinin seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada miR-200c ve miR-141 seviyelerindeki artışı gözlemlemişlerdir. Çalışma içeriği, farklı konsantrasyonlarda tertbütül hidroperoksit (t-BHP) olan House Ear Institute-Organ Corti 1 (HEI-OC1) hücrelerinin tedavisi ile oksidatif stresin bir hücre modelinde gözlemlenmiştir (Whang ve ark., 2010).

Mateescu ve ark. (2011), yılında yaptıkları çalışmalarında birçok kanser çeşidinde miR-200 aile üyelerinin seviyesinin artış gösterdiğini bildirmiştir. Şüphesiz bugün kanserin oluşumunda oksidatif stresinde rol oynadığı kanıtlanmış bir bilgidir (Mateescu ve ark., 2011). Bir başka çalışmada, miR-141 ve miR-200a'nın, p38 $\alpha$  mitojenle aktive edilmiş protein kinazını hedefleme yeteneği araştırılmıştır. p38 $\alpha$ , birçok hücre tipinin proliferasyonunun ve hayatta kalmanın kontrolünde olduğu gibi strese (Dolando ve ark., 2007) hücrel tepkilerin düzenlenmesinde yer alan geniş biçimde ifade edilen bir sinyalleme molekülüdür (Hui ve ark., 2007). Gerçekten de p38 $\alpha$ , oksidatif stresin bir sensörü gibi davranır (Dolando ve ark., 2007) ve redoks algılama fonksiyonu, tümör gelişiminin kontrolünde önemlidir (Kennedy ve ark., 2007). miR-200 ailesinin miRNA' larının geliştirilmiş ifadesi, p38 $\alpha$  eksikliğini taklit eder ve fare modellerinde tümör büyümesini artırır, fakat aynı zamanda kemoterapötik ajanlara yanıtı da geliştirir. İnsan yumurtalık adenokarsinomları aslında bir oksidatif stres belirtisi ile ilişkilidir ve yüksek miR-200a seviyeleri ve düşük konsantrasyonlarda p38 $\alpha$  sergilerler (Mateescu ve ark., 2011). P38 $\alpha$  inaktivasyonunun, farmakolojik veya genetik olarak ROS birikimini ve antioksidan savunma aktivasyonunu indüklediği bilinmektedir (Dolando ve ark., 2007; Naidu ve ark., 2009). miR-200' ler ve oksidatif stres cevabı arasındaki etkileşim, insan yumurtalık karsinogenezisini ve prognozunu etkileyebilir. Buradan da anlaşılıyor ki çalışmamızda yaşa bağlı miR-200a seviyelerinde artış, miR-200a ile GSH arasında gruptaki negatif korelasyon literatür tarafından desteklenen bulgulardır.

Geçmişteki araştırmalar, miRNA'ların belirli hastalıkların saptanması için biyolojik belirteç olarak potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Özellikle de miRNA'ların kolay tespit ve yüksek özgüllüğü göz önüne alındığında, yaşlanma ile nörodejeneratif hastalıklar arasındaki bağlantı noktasında bu hastalıkların patolojilerinin saptanması için miRNA 'ların bir araç olarak kullanması, muhteşem

bir fırsat sunmaktadır (Grasso ve ark., 2014). Literatür taramamızın sonucunda hacamat yaptıran bayanların iki kâhil noktasından alınan kupa hacamat kanı ve venöz kanı karşılatırılıp oksidatif stres ile ilişkili olduğu düşünölen miR-21, miR-34a ve miR-200'ün üzerinde herhangi bir çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir. Dahası, bu parametrelerin farklı yaş gruplarında nasıl değışebileceğinin bu çalışmada ortaya konulmuştur. Sonuç olarak, çalışmamızın mevcut bilgilere katkı sağlayacağını ve miRNA'ların biyolojik aktivitesinin tanımlanmasına yarar sağlayacağını, hacamatın özellikle oksidatif stres kaynaklı hastalıklarda terapötik rolünün olduğunu düşünmekteyiz.

## 9. KAYNAKLAR

- Abd al-Jawad MEM, Mohamed SA, Elsayed BA, Mohamed ANM. Evaluation of Wet Cupping Therapy (Hijama) as an Adjuvant Therapy in the Management of Bronchial Asthma. *Indian Journal of Physiotherapy and Occupational Therapy* 2011; 5: 122-6.
- Acıduman A, Arda B. Çocuk hastalıkları perspektifinden Razi ve “vaka temelli eseri” Kitâbü't-Tecârib. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2012; 55: 216-34.
- Ahmadi A, Schwebel DC, Rezaei M. The Efficacy of Wet-Cupping in the Treatment of Tension and Migraine Headache. *The American Journal of Chinese Medicine* 2008; 36(1): 37-44.
- Ahmed A, Khan RA, Ali AA, Ahmed M, Mesaik MA. Effect of wet cupping therapy on virulent cellulitis secondary to honey bee sting—a case report. *Journal of Basic and Applied Sciences* 2011; 7: 123-5.
- Ahmed SM, Madbouly NH, Maklad SS, Abu-Shady EA. Immunomodulatory effects of blood letting cupping therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Egypt J Immunol* 2005; 12(2): 39-51.
- Ahmedi M, Siddiqui MR. The value of wet cupping as a therapy in modern medicine-An Islamic Perspective. *Webmed Central Alternative Medicine* 2014; 5(12): WMC004785 (doi: 10.9754/journal.wmc.2014.004785).
- Akbulut GK, Elmacı NT, Öztürk G. Yaşlanma Teorileri ve Yaşlanma Sürecinde Oksidan ve Antioksidan Sistemler Üzerindeki Rolü. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi 2014; Kayseri, Türkiye.
- Akdağ A. Bir Tedavi Yöntemi Olarak “Kan Aldırmak” ve Klasik Türk Şiirindeki Kullanımı. *Gazi Türkiyat, Bahar* 2014; 4: 169-87.
- Alcala S, Klee M, Fernandez J, Fleischer A, Pimentel-Muinos FX. A high-throughput screening for mammalian cell death effectors identifies the mitochondrial phosphate carrier as a regulator of cytochrome c release. *Ongogene* 2008; 27: 44-54.
- Ali Al KQ, Rubaye KQ. The Clinical and Histological Skin Changes After the Cupping Therapy (Al-Hijamah). *J Turk Acad Dermatol* 2012; 6 (1): 1261a1.
- Alshowafi FK. Effect of Blood Cupping on Some Biochemical Parameter. *Med J Cairo Univ.* 2010; 78: 311-15.
- Antmen ŞE. Beta talasemide oksidatif stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilimdalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2005 (Tez Danışmanı; Prof. Dr. Levent Kayrın).
- Bai XY, Ma Y, Ding R, Fu B, Shi S, Chen XM. miR-335 and miR-34a promote renal senescence by suppressin mitochondrial antioxidative enzymes. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2011; 22 (7): 1252-61.
- Bamfarahnak H, Azizi A, Noorafshan A, Mohagheghzadeh A. A tale of Persian cupping therapy: 1001 potential applications and avenues for research. *Forsch Komplementmed.* 2014; 21(1): 42-7.
- Baseler WA, Dabkowski ER, Williamson CL, Croston TL, Thapa D, Powell MJ, Razunguzwa TT, Hollander JM. Proteomic alterations of distinct mitochondrial subpopulations in the tybe 1 diabetic heart: Contribution of protein import dysfunction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300: 186-200.
- Baseler WA, Thapa D, Jagannathan R, Dabkowski ER, Croston TL, Hollander JM. miR-141 as a regulator of the mitochondrial phosphate carrier (Slc25a3) in the type 1 diabetic heart. *Am J Physiol* 2012; 303: 1244-51.
- Bondok SM. Cupping: Great Missing Threapy, Cairo, Dar Al- Salam. 2006.

- Bonifacio LN, Jarstfer MB. MiRNA profile associated with replicative senescence, extended cell culture, and ectopic telomerase expression in human foreskin fibroblast. *Plos One* 5, e12519; 2010.
- Brabletz S, Brabletz T, The ZEB/mir-200 feedback loop-A motor of cellular plasticity in development and cancer?. *EMBO Rep.* 2010; 11: 670-77.
- Cankurtaran M. Yaşlılık, yaşlanma mekanizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri. 7. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi 2005; Ankara, Türkiye.
- Cao H, Li X, Liu J. An updated review of the efficacy of cupping therapy. *PloS one* 2012; 7(2): e31793 (doi:10.1371/journal.pone.0031793).
- Chakraborty U, Ghosh T. A study on the physical fitness index, heart rate and blood pressure in different phases of lunar month on male human subjects. *Int J Biometeorol* 2013; 57: 769-74.
- Chang TC, Wentzel EA, Kent OA. Transactivation of miR-34a by p53broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell.* 2007; 26, 745–752.
- Chao J, Guo Y, Li P, Chao L. Role of kallistatin treatment in aging and cancer by modulating miR-34a and miR-21 expression. *Hindewi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2017; 7.
- Christopoulou-Aletra H, Papavramidou N. Cupping: an alternative surgical procedure used by Hippocratic physicians. *J Altern Complement Med New York, NY.* 2008; 14(8): 899-902.
- Dolado I, Swat A, Ajenjo N, Vita G, Cuadrado A, Nebreda AR. p38alpha MAP kinase as a sensor of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Cell* 2007; 11: 191-205.
- Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküller statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilim Dergisi.* 1999; 2: 134-42.
- El Sayed SM, Mahmoud HS, Nabo MMH. Medical and Scientific Bases of Wet Cupping Therapy (Al-hijamah): in Light of Modern Medicine and Prophetic Medicine. *Altern Integ Med.* 2013; 2: 5.
- El Sayed SM, Mahmoud HS, Nabo MMH. Methods of Wet Cupping Therapy (Al-Hijamah): In Light of Modern Medicine and Prophetic Medicine. *Altern Integ Med.* 2013; 2: 3.
- Emerich M, Braeunig M, Clement HW, Lütke R, Huber R. Mode of action of cupping--local metabolism and pain thresholds in neck pain patients and healthy subjects. *Complementary therapies in medicine* 2014; 22(1): 148-58.
- Faraonio R, Salerno P, Passaro F, Sedia C, Iaccio A, Bellelli R, Nappi TC, Comegna M, Romano S, Salvatore G, Santoro M, Cimino F. A set of miRNAs participates in the cellular senescence program in human diploid fibroblasts. *Cell Death Differ* 2011; 19: 713–21.
- Farhadi K, Schwebel DC, Saeb M, Choubsaz M, Mohammadi R, Ahmadi A. The effectiveness of wet-cupping for non specific lowback pain in Iran: a randomized controlled trial. *Complement Ther Med.* 2009; 17(1): 9-15.
- Frankel LB, Wen J, Lees M, Høyer-Hansen M, Farkas T, Krogh A, Jäättelä M, Lund AH, microRNA-101 is a potent inhibitor of autophagy. *EMBO J.* 2011; 30: 4628–41.
- Geyikli İ, Bayıl S, Çiçek H. Yaşlanma ve Telomerez. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2007; 5(3): 111-5. Gaziantep, Türkiye.
- Görür A, Tamer L. MikroRNA'ların Terapötik Kullanımı. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg.* 2011; 4(2).
- Grasso M, Piscopo P, Confaloni A, Denti M A. Circulating miRNAs as biomarkers for neurodegenerative disorders. *Molecules* 2014; 19: 6891-9910.

Greenstone G. The History of Blood-Letting. BCMJ, 2010; 52 (1): 12-14.

Guo Y, Li S, Qu J et al. Mir-34a inhibits lymphatic metastasis potential of Mouse hepatoma cells. Molecular and Cellular Biochemistry 2011; 354 (1-2): 275-82.

Hanan S, Eman S. Cupping Therapy (Al-Hijama): it's impact on persistent non-specific lower back pain and client disability. Life Sci J. 2013; 10: 631-42.

Hermeking H. The miR-34a family in cancer and apoptosis. Cell Death Differentiation. 2010; 17 (2): 193-99.

Hitit M, Kurar E, Güzeloğlu A. MikroRNA Biyogenezi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2015; 10 (3): 211-18 Konya, Türkiye.

[http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2002.1.pdf?ua=1](http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf?ua=1) Who Traditional Medicine Strategy (WHO) 2002-2005.

<http://www.Wikipedia.org> (17 Eylül 2017).

Hui L, Bakiri L, Mairhorfer A, Schweifer N, Haslinger C, Kenner L, Komnenovic V, Scheuch H, Beug H, Wagner EF. p38alpha suppresses normal and cancer cell proliferation by antagonizing the JNK-c-Jun pathway Nat Genet. 2007; 39: 741-49.

Ito T, Yagi S, Yamakuchi M. MicroRNA-34a regulation of endothelial senescence. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2010; 398 (4): 735-40.

Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. Int. J. Food Sci. Tech. 2001; 36: 703-725,.

Kennedy NJ, Cellurale C, Davis RJ. A radical role for p38 MAPK in tumor initiation. Cancer Cell. 2007; 11: 101-3.

Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002; 33: 110-8.

Kılınç SM. Cumhuriyet Dönemi Kaynaklarına Göre Kupa, Hacamat ve Sülükle Tedavi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Tıp Tarihi ve Etik Programı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2015 (Tez Danışmanı; Doç. Dr. İnci Hot).

Kim JI, Kim TH, Lee MS, Kang JW, Kim KH, et al. Evaluation of wetcupping therapy for persistent non-specific low back pain: a randomised, waiting-list controlled, open-label, parallel-group pilot trial. Trials 2011; 12: 146.

Kim KH, Kim TH, Hwangbo M, Yang GY. Anaemia and skin pigmentation after excessive cupping therapy by an unqualified therapist in Korea: a case report. Acupunct Med 2012; 30: 27-8.

Kim T, Kang JW, Kim KH, et al. Cupping for Treating Neck Pain in Video Display Terminal (VDT) Users: A Randomized Controlled Pilot Trial. Journal of Occupational Health 2011; 54 (6): 416-26.

Koca N. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. 16. Sayı, Gıda Mühendisliği Dergisi 2003; 32-7.

Kumarswamy R, Volkman I, Jazbutyte V, Dangwal S, Park D H, Thum T. Transforming growth factor-beta-induced endothelial-to-mesenchymal transition is partly mediated by microRNA-21. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. 2012; 32 (2): 361-9.

Kurt N. Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve Malondialdehit (MDA) Seviyesinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2008 (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ramazan Bilgin).

- Lee B, Song Y, Lim H. Literature investigation regarding cupping therapy and analysis of current professional's cupping treatment. *J Oriental Rehab Med* 2008; 18: 169–91.
- Li N, Bates DJ, An J, Terry DA, Wang E. Up-regulation of key microRNAs, and inverse down-regulation of their predicted oxidative phosphorylation target genes, during aging in mouse brain. *Neurobiol. Aging* 2010; 32: 944–55.
- Li X, Khanna A, Li N, Wang E. Circulatory miR34a as an RNA based, noninvasive biomarker for brain aging. *Aging (Milano)* 2011; 3: 985–1002. (b).
- Liu G, Friggeri A, Yang Y et al. Mir-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis. *The Journal of Experimental Medicine*. 2010; 207 (8): 1589-97.
- Luo Z, Feng X, Wang H. Mir-23a induces telomere dysfunction and cellular senescence by inhibiting TRF2 expression. *Aging Cell* 2015; 14: 391–99.
- Maes OC, An J, Sarojini H, Wang E. Murine microRNAs implicated in liver functions and aging process. *Mech. Ageing. Dev.* 2008; 129: 534–41.
- Magenta A, Cencioni C, Fasanaro P, Zaccagnini G, Greco S, Sarra FG, Antonini A, Martelli F, Capogrossi MC. miR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition. *Cell. Death Differ.* 2011; 18: 1628-39.
- Magenta A, Greco S, Gaetano C, Martelli F. Oxidative stress and microRNAs in vascular diseases. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 17319-46.
- Mateescu B, Batista L, Cardon M, Gruosso T, Feraudy Y, Mariani O, Nicolas A, Meyniel J P, Cottu P, Sastre-Garau X, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response. *Nat. Med.* 2011; 17: 1627-35.
- Naidu S, Vijayan V, Santoso S, Kietzmann T, Immenschuh S. Inhibition and genetic deficiency of p38 MAPK up-regulates heme oxygenase-1 gene expression via. Nrf2. *J. Immunol.* 2009; 182: 7048-57.
- Niasari M, Kosari F, Ahmadi A. The effect of wet cupping on serum lipid concentrations of clinically healthy young men: a randomized controlled trial. *J Altern Complement Med* 2007; 13(1): 79–82.
- Okumuş M. Kupa Tedavisi ve Hacamat. *Ankara Med J*, 2016; (4): 370-82 DOI: 10.17098/amj.68279.
- Olivieri F, Spazzafumo L, Santini G. Age-related differences in the expression of circulating microRNAs: miR-21 as a new circulating marker of inflammation. *Mech. Ageing Dev.* 2012; 133: 675–85 (a).
- Olson P, Lu J, Zhang H, et al. MicroRNA dynamics in the stages of tumorigenesis correlate with hallmark capabilities of cancer. *Genes Development*, 2009; 23 (18): 2152-65.
- Öner MG. Alzheimer Hastalığında Yeni Biyomarkır Geliştirilmesi: Serumdan MiroRNA Analizi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilimler Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 35340, İnciraltı, İzmir, 2012 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şermin Genç).
- Özcan O, Yönden Z, Çakırca G, Erdal H. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2015; 6 (3): 331-6.
- Özkaya A. Oksidatif strese maruz kalan ratların bazı biyokimyasal parametrelerine hesperetin ve ellagik asidin etkisi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Elazığ, 2007 (Tez Yöneticisi; Prof. Dr. Sait Çelik).
- Rogli E, Britan A, Gattesco S. Involvement of microRNAs in the cytotoxic effects exerted by proinflammatory cytokines on pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2010; 59: 978–986.

- Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi* 2010; 38(1): 113-20, Eskişehir, Türkiye.
- Sayed SM, Al-quliti AS, Mahmoud HS et al. Therapeutic Benefits of Al-hijamah: in Light of Modern Medicine and Prophetic. *American Journal of Medical and Biological Research*, 2014; 2 (2): 46-71.
- Schickel R, Park SM, Murmann AE, Peter ME. miR-200c regulates induction of apoptosis through CD95 by targeting FAP-1 *Mol. Cell* 2010; 38: 908-15.
- Shen X, Zheng S, Tongboonkerd V, Xu M, Pierce WM, Klein JB, Epstein PN. Cardiac mitochondrial damage and biogenesis in a chronic model of type 1 diabetes. *Am. J. Pshysiol Endocrinol. Metab.* 2004; 287: 896-905.
- Sorg O. Oxidative stres: a theoretical model or biological reality?. *C.R. Biologies*, 2004; 327: 649-62.
- Sun L, Wu Z, Shao Y et al. MicroRNA-34a suppresses cell proliferation and induces apoptosis in U87 glioma stem cells. *Technology in Cancer Research Treatment*. 2012; 11 (5): 483-90.
- Şar F. miRNA'lar ve Yaşlılık: Uzun ve Sağlıklı Yaşamın Sırrı Nedir? *Koç Üniversitesi Fener Dergisi* S(8). 2013.
- Tham LM, Lee HP, Lu C. Cupping: from a biomechanical perspective. *J Biomech* 2006; 39: 2183-93.
- Toy A. Meme kanseri hastalarda tedavi öncesi ve sonrası total antioksidan kapasite eser elementler ve lipit peroksidasyonu. *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2012 (Tez Danışmanı; Yrd. Doç. Dr. Tevfik Gülyaşar).*
- Ullah K, Younis A, Wali M. An investigation into the effect of Cupping Therapy as a treatment for Anterior Knee Pain and its potential role in Health Promotion. *The Internet Journal of AlternativeMedicine* 2006; 4: 1-9.
- Wang SM, Kain ZN, White P. Acupuncture Analgesia: I. The Scientific Basis. *Anesth Analg* 2008; 106(2): 602-10.
- Wang Z, Liu Y, Han N, Chen X, Yu W, Zhang W, Zou F. Profiles of oxidative stress-related microRNA and mRNA expression in auditory cell. *Brain Res.* 2010; 1346: 14-25.
- Williams J, Smith F, Kumar S, Vijayan M. Are microRNAs true sensors of ageing and cellular senescence? 2016; 728: 14.
- Xu X, Chen W, Miao R. miR-34a induces cellular senescence viamodulation of telomerase activity in human hepatocellular carcinoma bytargeting FoxM1/c-Myc pathway. *Oncotarget* 2015; 6: 3988–4004.
- Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ. miR-34a repression of SIRT1regulates apoptosis. *PNAS* 2008; 105: 13421–26.
- Yan X, Serre C, Bergeron L, Mur L, Busutti V, Botto JM, Domlogeet N. Modulation of a specific pattern of microRNAs, including miR-29a, miR-30aand miR-34a, in cultured human skin fibroblasts, in response to the applicationof a biofunctional ingredient that protects against cellular senescence in vitro. *JCDSA* 2015; 05: 332–42.
- Yang J, Chen D, He Y, Meléndez A, Feng Z, Hong Q, Bai X, Li Q, Cai G, Wang J, Chen X. MiR-34 modulates Caenorhabditis elegans lifespan viarepressing the autophagy gene atg9. *Age* 2011; 35: 11–22.
- Yaroğlu HY, Görür A, Ayaz L, Fidancı ŞB, Akbayır S, Ünal ND, Kaplan E, Serin MS, Buğdaycı R, Ateş NA, Gümüş LT. Mersin İlinde Sağlıklin Bireylerde MikroRNA Ekspresyon Profili. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg.* 2011; 4(3).

Yerer MB, Aydoğan S. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E. Ü. Journal of Health Sciences). 2000; 9(1): 49-53.

Zang B, Pan X, Cobb GB, Anderson TA. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Developmental Biology*, 2007; 302 (1): 1-12.

Zhang SJ, Liu JP, He KQ. Treatment of acute gouty arthritis by bloodletting cupping plus herbal medicine. *J Tradit Chin Med* 2010; 30: 18-20.

Zhang X, Ng WL, Wang P et al. MicroRNA-21 modulates the levels of reactive oxygen species by targeting SOD3 and TNFalpha, *Cancer Research* 2012; 72 (18): 4707-13.

Zhong X, Chung AC, Chen H Y, Meng X M, Lan H Y. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2011; 22 (9): 1668-81.

Zhu S, Deng S, Ma Q, et al. MicroRNA-10A and microRNA-21 modulate endothelial progenitor cell senescence via suppressing high-mobility group A2. *Circulation Research*. 2013; 112 (1): 152-64.

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**  
**ÖZGEÇMİŞ**

<b>Adı Soyadı:</b>	Berivan Unat	<b>İMZA</b>	
<b>Doğum Yeri:</b>	Diyarbakır		
<b>Doğum Tarihi:</b>	31.05.1990		
<b>Medeni Durumu:</b>	Bekar		

**Öğrenim Durumu**

<b>Derece</b>	<b>Okul Adı</b>	<b>Program</b>	<b>Yıl</b>
İlköğretim	Turgut İçgören İlköğretim Okulu	İlköğretim	2003
Ortaöğretim	Turgut İçgören İlköğretim Okulu	Ortaöğretim	2005
Lise	Cengiz Topel Lisesi	Sayısal	2007
Lisans	Mersin Üniversitesi	Kimya	2014
Yüksek Lisans	N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	2018
Becerileri			
İlgi Alanları	Deneysel çalışmalar.		
İş Deneyimi	Tarsus Medical Park Hastahanesi Biyokimya-Mikrobiyoloji Laboratuvarı Stajı		
Aldığı Ödüller			
Hakkında bilgi almak için önerebileğim şahıslar ve Tel:	Doç. Dr. F. Hümeysra Yerlikaya Aydemir 0505-4664231 Arş. Gör. Mehmet Erşatır 0506 880 69 88		

Tel:	0536 450 26 58
Adres	Öğretmenler Mah. 2960. Sokak Torun İrfan Arıkan Apt. Kat:3 No:7 Tarsus/MERSİN
E-mail:	berivanunat033@gmail.com