



T.C.
Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME
FARKLILIKLARININ SİRTUİN ENZİMLERİ VE
NÖRODEJENERATİF VE NÖROTRANSMİTTER
SALINIMINI DÜZENLEYEN GENLER ÜZERİNDE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sevda ÇELİK

Yüksek Lisans Tezi

**BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME
FARKLILIKLARININ SİRTUİN ENZİMLERİ VE
NÖRODEJENERATİF VE NÖROTRANSMİTTER
SALINIMINI DÜZENLEYEN GENLER ÜZERİNDE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sevda ÇELİK



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME FARKLILIKLARININ
SİRTUİN
ENZİMLERİ VE NÖRODEJENERATİF VE NÖROTRANSMİTTER
SALINIMINI
DÜZENLEYEN GENLER ÜZERİNDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sevda ÇELİK
0000-0002-9968-8815

Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA – 2024
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Sevda ÇELİK tarafından hazırlanan “BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME FARKLILIKLARININ SİRTUİN ENZİMLERİ VE NÖRODEJENERATİF VE NÖROTRANSMİTTER SALINIMINI DÜZENLEYEN GENLER ÜZERİNDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ

Başkan : Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ
0000-0002-4191-0671
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

İmza

Üye : Prof. Dr. Mete YILMAZ
0000-0002-0982-727X,
Bursa Teknik Üniversitesi,
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Biyomühendislik Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Dilek PİRİM
0000-0002-0522-9432
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali KARA

Enstitü Müdürü

...../...../.....

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ☐ tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ☐ görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ☐ başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- ☐ atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ☐ kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ☐ ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

.../.../.....

Sevda ÇELİK

TEZ YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığını ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

Danışman Adı-Soyadı Tarih

Öğrencinin Adı-Soyadı Tarih

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAL ARILARINDA (*Apis mellifera*) BESLENME FARKLILIKLARININ SİRTUİN ENZİMLERİ VE NÖRODEJENERATİF VE NÖROTRANSMİTTER SALINIMINI DÜZENLEYEN GENLER ÜZERİNDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sevda ÇELİK

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ

Nörodejeneratif hastalıkların kesin tedavisi henüz bulunmamaktadır. Birçok nörodejeneratif bozuklukların araştırılmasında model organizma olarak bal arıları kullanılmaktadır. Histon deasetilaz olan sirtuinlerin nörodejeneratif hastalıklara katkı sunduğu bilinmektedir fakat hangi gen ve yollar üzerinden olduğu bilinmediğinden bu tez çalışmasında bal arılarında, *SIRT1*, *SIRT6* ve *SIRT7* aktivitesi ve bununla ilişkili nörotransmitter salınımını kontrol eden *BRP* geni, nörodejeneratif hastalıklarda rolü olduğu bilinen *BECN1*, *ATG5*, *mTOR* geni ile yaşam uzunluğunu etkileyen *Vg* ve *AmILP-2* gen ifade farklılıkları araştırılmış, istatistiksel olarak anlamlılıkları tespit edilmiştir. Deney ünitelerinin beslenmesinde kullanılan şuruplar %50 sukroz ve steril su ile hazırlanmıştır ayrıca aktivatör gruplar için 3 mg/l kurkumin, inhibitör gruplar için 1,1 g/l sodyum bütirat eklenmiştir. Kontrol grubuna yalnızca şekerli su verilmiştir. Kraliçe larvalar, işçi larvalar ve ergin arılardan oluşan 36 numunede RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve qPCR ile gen ekspresyonlarına bakılmıştır. Gen ekspresyon seviyeleri $\Delta\Delta C_p$, ANOVA test, Tukey Kramer post hoc testi ve Pearson korelasyon katsayısı istatistik yöntemleri ile hesaplanmıştır ve ifade anlamlılığı değerlendirilmiştir. Uygulanan besin diyeti ana arı larvalarında *mTOR* ve *SIRT1*, işçi arı larvalarında *ATG5*, ergin işçi arılarda *mTOR* ve *BRP* genlerinde istatistiki fark önemli bulunmuştur. Besin diyetinden bağımsız olarak çalışmamızda larva grubunda, *SIRT1* ve *SIRT6* genleri *ATG5* geni ile *SIRT7* geni ise *mTOR* ve *ILP2* genleri ile ergin işçi arı grubunda ise *SIRT1* geni *mTOR*, *ILP2*, *ATG5* ve *Vg* genleri ile *SIRT6* ve *SIRT7* genleri ise *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5* ve *Vg* genleri ile anlamlı bir korelasyon göstermiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında kurkumin ve sodyum bütirat içeren besin diyetlerinin doğrudan ya da dolaylı olarak sirtuin genleri ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişki gen üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Daha fazla örneklem grubu ve parametreler içeren gen ve etkilerinin protein düzeylerinde de araştırıldığı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, Sirtuin, *BECN1*, *ATG5*, *mTOR*, *BRP*, *Vg* ve *AmILP-2*, HDAC inhibitör, HDAC aktivatör, nörodejeneratif hastalıklar

2024, vii +83 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIETARY DIFFERENCES ON SIRTUIN ENZYMES AND GENES REGULATING NEURODEGENERATIVE AND NEUROTRANSMITTER RELEASE IN HONEYBEES (*Apis mellifera*)

Sevda ÇELİK

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ

There is currently no cure for neurodegenerative diseases. Honey bees are used as a model organism in the research of many neurodegenerative disorders. The sirtuins, which are histone deacetylases, are known to contribute to neurodegenerative diseases but it is not known in which genes and pathways they are involved. Therefore, in this thesis study, the activities of *SIRT1*, *SIRT6*, and *SIRT7* were investigated in honeybees, and expression of related genes including the *BRP* gene that controls neurotransmitter release, *BECN1*, *ATG5*, and *mTOR* genes, which are known for their roles in neurodegenerative diseases, *Vg* and *AmILP2* genes, which affect life span, were investigated and their statistical significance was determined. The syrups used in the feeding of the test units were prepared with 50% sucrose and sterile water, to which were added 3 mg/l curcumin for activator groups, and 1,1 g/l sodium butyrate for inhibitor groups. The control group was given only sugar water without additives. In 36 samples of queen larvae, worker larvae and adult bees, gene expression levels were examined by RNA isolation, cDNA synthesis and qPCR. Gene expression levels were calculated using $\Delta\Delta C_p$, and the significance of the expression levels assessed using ANOVA test, Tukey Kramer post hoc test and Pearson correlation coefficient statistical methods. Statistically significant differences were found between nutrient diet applications in *mTOR* and *SIRT1* in the queen bee larvae, *ATG5* in worker bee larvae, *mTOR* and *BRP* in adult worker bees. In our study, regardless of the nutrient diet, the *SIRT1* and *SIRT6* genes showed a significant correlation with the *ATG5* gene and the *SIRT7* gene showed a significant correlation with the *mTOR* and *ILP2* genes in the larval group, the *SIRT1* gene was significantly correlated with the *mTOR*, *ILP2*, *ATG5*, and *Vg* genes, and the *SIRT6* and *SIRT7* genes, such as *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, and *Vg* genes in the adult worker bee group. Our result, this thesis has shown the effects of food diets containing curcumin and sodium butyrate directly or indirectly on the expression of sirtuin genes and genes associated with neurodegenerative diseases. It is thought that it would be useful to carry out studies including more sample groups and parameters and in which genes and their effects are also investigated at the protein level.

Key words: Honey bee, Sirtuin, *BECN1*, *ATG5*, *mTOR*, *BRP*, *Vg* and *AmILP2*, HDAC inhibitor, HDAC activator, neurodegenerative diseases

2024, vii +83 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans yaptığım dönem içerisinde desteğini esirgemeyen, bilimsel araştırma ve laboratuvar uygulamaları açısından bilgimi zenginleştiren danışman hocam Sayın; Prof. Dr. Aydın TÜRKEÇ'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez projemi gerçekleştirirken bilgisi ve tecrübesiyle destek sağlayan Sayın; Dr. Stuart James LUCAS'a teşekkürlerimi sunarım.

TUBİTAK 2210 bursu, bursiyer öğrencisi olarak yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen TUBİTAK kurumuna teşekkürlerimi sunarım.

Projeme bütçe desteği sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve Bursa Uludağ Üniversitesi rektörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Tezin bir kısım çalışmasını yapmak için laboratuvar olanağı sağlayan Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezine teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında rehberlik yapan sevgili Anıl ŞEHİRLİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Sevgisini ve anlayışını eksik etmeyen değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Sevda ÇELİK

.../.../.....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Sirtuinler (Sessiz çiftleşme tipi bilgi düzenleyiciler).....	4
2.2. Sirtuin aktive/inhibe edici moleküller	8
2.3. Vitellogenin ve Juvenil hormon.....	10
2.4. İnsülin/İnsülin Benzeri Sinyalizasyon (IIS) ve ILP genleri.....	11
2.5. Mantarsı yapı ve Bruchpilot proteini	13
2.6. <i>mTOR</i> geni.....	15
2.7. <i>ATG5</i> geni.....	16
2.8. <i>BECN1</i> geni	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Deneme materyallerin elde edilmesi.....	19
3.2. Bal arısı doku örneklerinin hazırlanması, RNA izolasyonu ve cDNA kütüphanesi sentezi.....	20
3.3. Kantitatif eş zamanlı PZR (RT-qPZR) analizi	22
3.4 Kantitatif eş zamanlı PZR (RT -qPCR) analiz sonuçlarının değerlendirilmesi	24
3.5 Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi	25
4. BULGULAR.....	27
4.1 Bal arılarında farklı besin diyetlerinin nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımı düzenleyen genler üzerindeki etkileri.....	27
4.1.1 Bal arısı doku örneklerin <i>mTOR</i> gen ifade düzeyleri.....	28
4.1.2.Bal arısı doku örneklerin <i>BECN1</i> gen ifade düzeyleri.....	32
4.1.3.Bal arısı doku örneklerin <i>ILP2</i> gen ifade düzeyler	35
4.1.4. Bal arısı doku örneklerin <i>ATG5</i> gen ifade düzeyleri.....	38
4.1.5. Bal arısı doku örneklerin <i>BRP</i> gen ifade düzeyleri.....	42
4.1.6. Bal arısı doku örneklerin <i>Vg</i> gen ifade düzeyleri.....	46
4.2. Bal arılarında farklı besin diyetlerinin sirtuin genleri üzerindeki etkileri.....	48
4.2.1. Bal arısı doku örneklerin <i>SIRT1</i> gen ifade düzeyleri	48
4.2.2. Bal arısı doku örneklerin <i>SIRT6</i> gen ifade düzeyleri	52
4.2.3. Bal arısı doku örneklerin <i>SIRT7</i> gen ifade düzeyleri	55
4.3. Sirtuin genleri ile nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımı düzenleyen genler arasındaki ilişkiler.....	59
4.3.1. <i>SIRT1</i> geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri.....	59
4.3.2. <i>SIRT6</i> geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri.....	60
4.3.3. <i>SIRT7</i> geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri.....	60
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	61
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	83

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

g/l	1 litredeki gram miktarı
mg/l	1 litredeki miligram miktarı
mg	Miligram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
rpm	1 dakika içerisinde gerçekleştirilen devir sayısı
sn	Saniye
C _P	Floresan sinyalin eşik değeri aştığı noktadaki döngü sayısı
2 ^{-ΔΔC_P}	Gen ifadelerinin kat cinsinden artan ya da azalan değerler
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

Açıklama

AD	Alzheimer hastalığı
ADP	Adenozin difosfat
ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
AKT	Protein kinaz B
AmILP-2	Apis mellifera İnsülin Benzeri Peptit 2
AmInR-2	Apis mellifera insülin reseptörü
AMPK	Adenozin monofosfat-aktif protein kinaz
ATG5	Otofaji ile ilişkili gen 5
ATG7	Otofaji ile ilişkili gen 7
ATG8	Otofaji ile ilişkili gen 8
ATG12	Otofaji ile ilişkili gen 12
Aβ	Amiloid beta plaklarının
BECN1	Beclin-1
BRP	Bruchpilot
CAST	Aktif bölgeyle ilişkili yapısal proteindeki sitomatriks
CAZ	Sitomatriks ile ilişkili aktif bölge
CBP	p300/CREB bağlayıcı protein
CDK1	SiklinB/siklin bağımlı kinaz 1
CNS	Merkezi sinir sistemi
FOXO	Forkhead box transkripsiyon faktörleri O sınıfı protein
H1	Histon 1
H3	Histon 3
H4	Histon 4
HAT	Histon asetil transferaz
HD	Huntington hastalığı
HDACa	Histon Deasetilaz aktivatörü
HDACi	Histon Deasetilaz inhibitörü
IGF1	İnsülin/insülin benzeri büyüme faktörü 1

IIS	İnsülin/insülin benzeri sinyalizasyon
ILP1	İnsülin Benzeri Peptit 1
ILP2	İnsülin Benzeri Peptit 2
JH	Juvenil hormon
MS	Multipl Skleroz
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
Munc-13	Memeli Unc-13
NAD	Nikotinamid Adenil Dinükleotid
NF-Kb	Nükleer faktör kappa B
PD	Parkinson hastalığı
PGC-1 α	Peroksizom proliferatörüyle aktiveleştirilen reseptör-gama koaktivatörü 1 alfa
POL1	Polimeraz 1
p53	Tümör protein 53
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PI3P	Fosfatidilinositol 3 fosfat
RIM1	Rab3 etkileşimli molekül
SIRT1	Sirtuin1
SIRT2	Sirtuin2
SIRT3	Sirtuin3
SIRT4	Sirtuin4
SIRT5	Sirtuin5
SIRT6	Sirtuin6
SIRT7	Sirtuin7
Sir2	Sessiz bilgi düzenleyicisi 2
STACs	Sirtuin aktive edici bileşikler
Vg	Vitellogenin
qRT-PCR	quantitative Real Time-PCR

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>mTOR</i> gen ifade düzeyleri.....	29
Şekil 4.2. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>mTOR</i> geni ifade düzeyleri.....	30
Şekil 4.3. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>mTOR</i> gen ifade düzeyleri.....	31
Şekil 4.4. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>BECN1</i> gen ifade düzeyleri.....	33
Şekil 4.5. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>BECN1</i> gen ifade düzeyleri.....	34
Şekil 4.6. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>BECN1</i> gen ifade düzeyleri.....	34
Şekil 4.7. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>ILP2</i> gen ifade düzeyleri.....	35
Şekil 4.8. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>ILP2</i> gen ifade düzeyleri.....	36
Şekil 4.9. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>ILP2</i> gen ifade düzeyleri.....	37
Şekil 4.10. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>ATG5</i> gen ifade düzeyleri.....	39
Şekil 4.11. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>ATG5</i> gen ifade düzeyleri.....	40
Şekil 4.12. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>ATG5</i> gen ifade düzeyleri.....	41
Şekil 4.13. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>BRP</i> gen ifade düzeyleri.....	43
Şekil 4.14. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>BRP</i> gen ifade düzeyleri	44
Şekil 4.15. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>BRP</i> gen ifade düzeyleri.....	45
Şekil 4.16. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>Vg</i> gen ifade düzeyleri.....	47
Şekil 4.17. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>SIRT1</i> gen ifade düzeyleri.....	48
Şekil 4.18. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>SIRT1</i> gen ifade düzeyleri.....	50
Şekil 4.19. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>SIRT1</i> gen ifade düzeyleri.....	51
Şekil 4.20. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>SIRT6</i> gen ifade düzeyleri.....	52
Şekil 4.21. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>SIRT6</i> gen ifade düzeyleri.....	53
Şekil 4.22. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>SIRT6</i> gen ifade düzeyleri.....	54
Şekil 4.23. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında <i>SIRT7</i> gen ifade düzeyleri.....	56

Şekil 4.24.	Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında <i>SIRT7</i> gen ifade düzeyleri.....	57
Şekil 4.25.	Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda <i>SIRT7</i> gen ifade düzeyleri.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 3.1	qPZR amplifikasyonu için tasarlanan primerlerin bilgisi.....	23
Çizelge 3.2.	qPZR için uygulanan reaksiyon şartları.....	24
Çizelge 4.1.	Farklı besin diyeti ile beslenen ana ve işçi arı larvaları ile ergin işçi arıların gen ifade düzeyler.....	28
Çizelge 4.2.	Ana arı larvarında <i>mTOR</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	29
Çizelge 4.3	İşçi larvarında <i>mTOR</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	31
Çizelge 4.4.	İşçi arılarda <i>mTOR</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	32
Çizelge 4.5.	Ana arı larvarında <i>ILP2</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları	36
Çizelge 4.6.	İşçi arı larvarında <i>ILP2</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları	37
Çizelge 4.7.	İşçi arılarda <i>ILP2</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	38
Çizelge 4.8.	Ana arı larvarında <i>ATG5</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.9.	İşçi arı larvarında <i>ATG5</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.10.	İşçi arılarda <i>ATG5</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.11.	Ana arı larvarında <i>BRP</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	43
Çizelge 4.12.	İşçi arı larvarında <i>BRP</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.13.	İşçi arılarda <i>BRP</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	46
Çizelge 4.14.	İşçi arılarda <i>Vg</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları	47
Çizelge 4.15.	Ana arı larvalarında <i>SIRT1</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	49
Çizelge 4.16.	İşçi arı larvalarında <i>SIRT1</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	50
Çizelge 4.17.	İşçi arılarda <i>SIRT1</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	51
Çizelge 4.18.	Ana arı larvalarında <i>SIRT6</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	53
Çizelge 4.19.	İşçi arı larvalarında <i>SIRT6</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	54
Çizelge 4.20.	İşçi arılarda <i>SIRT6</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	55
Çizelge 4.21.	Ana arı larvalarında <i>SIRT7</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	56
Çizelge 4.22.	İşçi arı larvalarında <i>SIRT7</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	57

Çizelge 4.23.	İşçi arılarda <i>SIRT7</i> gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları.....	58
---------------	--	----

1.GİRİŞ

Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar günümüzde milyonlarca insanı etkileyen kompleks hastalıklardır. Nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde farklı yaklaşımlar bulunsa da kesin bir tedavi yöntemi hala bulunmamaktadır (Hanoğlu et al., 2015). Bu hastalıkların tanısı bazı nöropsikiyatrik testler, kan veya beyin omurilik sıvısında (BOS) analiz edilen bazı biyobelirteçler ile konabilmektedir. Fakat yinede post-mortem beyin otopsisinde amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklar gibi patolojik oluşumların tespit edilmesiyle kesin tanıya varılır. Bu hastalıkların kesin tedavisi ise henüz bulunmamaktadır. Hastalara kısmen yardımcı olabilen tedaviler bulunmaktadır. Bu anlamda Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (Food and Drug Administration; FDA) onayladığı sadece dört ilaç bulunmaktadır: bunlardan üç tanesi (donepezil, rivastigmin, galantamin) kolinesteraz inhibitörü grubunda olup hafif-orta şiddetli hastalıkta işe yaramaktadır, bir tanesi ise (memantin) N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti olup orta-ağır şiddetli Alzheimer'da kullanılır (Gezici & Koçum, 2021). Bu ilaçlar vücuda yabancı kimyasallar olduğu için uzun vadeli kullanımda ciddi yan etkilere neden olurlar (Toman et al., 2018). Bu nedenle nörodejeneratif hastalıklara karşı bilişsel bozulmayı önleyebilecek, geciktirecek, uygun maliyetli, güvenli ve kolay uygulanabilir, alternatif müdahale stratejileri geliştirmek oldukça önemlidir. Araştırmacılar çoğunlukla nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili genomik değişikliklere odaklanmaktadır ancak nöroepigenetik ile ilgili değişiklikler çoğunlukla ihmal edilmektedir. Nörodejeneratif hastalıkların yeni terapötik tedavisi, epigenetik değişiklikler ile mümkün olabilmektedir. Nöronların işlevi ve farklılaşması, genom ve epigenoma yoluyla büyük oranda düzenlenmektedir. Normal koşullar sırasında, histon asetilazların (HAT) ve histon deasetilazların (HDAC) dengeli protein konsantrasyonu nöronal homeostazı sağlamaktadır. Bu denge uzun vadeli nöronal güçlenme, öğrenme ve hafıza gibi normal nörofizyolojik süreçlere yol açan gen ekspresyonundan sorumludur (Boutillier et al., 2003). Histon asetilazlar ile gerçekleşen histon asetilasyonu, epigenom olarak adlandırılan kromatini modüle eden histonlardan ve DNA modifikasyonlarından biridir. Kromatindeki bu değişikliklere HAT'ler ve HDAC'ler aracılık etmede önemli rol oynamaktadır.

HDAC inhibitörleri (HDACi) epigenetik mekanizmalar ile nörodejeneratif hastalıklarda iyileşme sunmaktadır (Bürli et al., 2013; Didonna et al., 2015). Kurkumin gibi HDAC aktivatörleri (HDACa), depresyon Parkinson, Alzheimer, demans gibi hastalıklarda koruyucu etkileri bilinmektedir (Kulkarni et al., 2008; Bhutani et al., 2009; Qualls et al., 2014; singla et al., 2010; Hamaguchi et al., 2010; Yang et al., 2013).

İnsanlarda görülen yaşlanma, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve enflamasyon gibi epigenetik temelli hastalıkların anlaşılmasına yönelik çalışmalarda bal arıları kullanılmaktadır (Bergman vd., 2016; Mukherjee vd., 2015). İşçi ve ana arılar (kraliçe arı) aynı genoma sahiptir fakat ana arıların ömrü epigenetik faktörlerin etkisiyle 10-20 kat daha uzundur. Gelişme süresi boyunca sadece arı sütü ile beslenen bal arısı larvaları epigenetik düzenlemeler yoluyla ana arı olmaktadır (Maori vd., 2019). Bu durum *Sirtuin* genleri ile de ilişkilendirilmiştir (Hsu et al., 2014). Özellikle *Sirtuin*'lerin *SIRT1*, *SIRT6* ve *SIRT7* gibi formları, gen ekspresyonunu baskılayan transkripsiyonel düzenleyiciler olarak görev yapar. Yaşam uzunluklarını etkiler ve yaşlanmayla ilişkili gen ekspresyonunu değiştirebilir (Toiber et al., 2011; Rimmele et al., 2014; Chen et al., 2012). Aynı zamanda *Vitellogenin (Vg)*'in bal arılarının yaşam uzunluklarını artıran fonksiyonları vardır (Corona vd., 2007). *Sirtuinler* nöronal sağkalımı otofaji yoluyla sağlayabilir. *SIRT1*, *otofaji ile ilişkili gen 5 (ATG5)*'i deasetilleyerek bazal otofajiyi artırır (Lee vd., 2008) ve *Beclin-1 (BECN1)* genini inhibe ederek otofajiyi düzenleyebilir (Nopparat et al., 2017). *SIRT1* aktivasyonu otofajiyi pozitif olarak düzenlerken, *memeli rapamisin hedefi (mTOR)*'nin aktivasyonu otofajiyi negatif olarak düzenler (Parmar vd., 2022). Ayrıca bal arıları ile aynı sınıfa ait olan *Drosophila* da *İnsülin Benzeri Peptit 2 (ILP2)* ekspresyonunda azalma, daha fazla *Sirtuin* aktivitesi gösterir (Stefanatos vd., 2012). HDAC6 *Bruchpilot (BRP)* dahil olmak üzere birden fazla hedefi deasetiller (Miskiewicz vd., 2014, Hubbert vd., 2002).

Bu tez kapsamında uygulanacak olan farklı beslenme diyetlerinin, sirtuinler ve sirtuinlerin belirlediğimiz genlerle birlikte ifadesinin artıp artmadığına dair vereceği sonuçlar; hastalığın önlenmesini sağlayan, ilerleme sürecini yavaşlatan veya hastanın yaşam kalitesini artırabilen, sirtuinleri hedef alan yeni tedavi yaklaşımları için ışık tutacaktır.

Tüm bunlardan dolayı nörodejeneratif hastalıklar için model organizma olarak tercih edilen bal arılarında, nörodejeneratif hastalıklara katkısı olduğu düşünülen genlerin ifadesinin incelenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez çalışmasında genç ergin işçi bal arıları, işçi ve kraliçe bal arı larvaları HDACi ve HDACa içeren diyet rejimleri ile beslenmiştir. Bal arılarında sirtuin aktivitesi ve bununla ilişkili nörotransmitter salınımını kontrol eden *BRP* geni ile nörodejeneratif hastalıklarda rolü olduğu bilinen *BECN1*, *ATG5* ve *mTOR* genlerinin ifade seviyeleri belirlenmiştir. Ayrıca proje kapsamında yaşam uzunluğunu ve gelişmeyi etkileyen *Vg*, *AmILP-2* gen ifade farklılıkları da quantitative Real Time-PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Tez kapsamında sirtuinlerin nörodejeneratif hastalıklarla ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Farklı diyet içeriklerinin sirtuin yolağındaki etkileri doğrudan ve bütüncül bir şekilde araştırılması ve nörotransmitter salınımı ve nörodejeneratif hastalıklarla rolü olan genlerle ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Apis cinsine ait zar kanatlı (hymenopteran) olan bal arısı (*A. mellifera* L.); karşılaştırmalı genomik, tarımsal ve biyomedikal çalışmalarda oldukça yaygın olarak kullanılan, sosyal böcek olarak tanımlanan bir model organizmadır (Viuda-Martos et al., 2008). Bal arıları, insanlarda görülen yaşlanma, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve enflamasyon gibi epigenetik temelli hastalıkların anlaşılmasına yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır (Bergman et al., 2016; Mukherjee et al., 2015). İşçi ve ana arılar aynı genoma sahiptir fakat ana arıların ömrü epigenetik faktörlerin etkisiyle 10-20 kat daha uzundur. Döllenen tüm bal arısı yumurtaları ana arı olma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte gelişme süresi boyunca sadece arı sütü ile beslenen bal arısı larvaları epigenetik düzenlemeler yoluyla ana arı olmaktadır (Maori et al., 2019). Bu epigenetik düzenlemeler DNA metilasyon, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar olmak üzere üç temel mekanizma ile gerçekleşir ve geri dönüşümlü olabilmektedir. Bu mekanizmalar birbirleri ile sıkı bir etkileşim halindedir. Histon modifikasyonları, kromatin yapısını değiştirerek kromatin yeniden yapılanmasını etkilemektedir. Kodlamayan RNA'lar ise diğer iki mekanizmanın üzerine etki göstermektedir (Federoff, 2012).

2.1. Sirtuinler (Sessiz çiftleşme tipi bilgi düzenleyiciler)

Transkripsiyon aşamasının kontrolünde, asetilasyon/deasetilasyon aracılığıyla histon ve transkripsiyon faktörlerinin (örneğin p53, nükleer faktör kappa B (NF- κ B), p65 ve peroksizom proliferatörüyle aktiveleştirilen reseptör-gama koaktivatörü 1 alfa (PGC-1 α)) modifikasyonu merkezi bir rol oynamaktadır. Histon asetilasyonu, histon asetil transferaz enzimleriyle (HAT) katalize edilirken bu reaksiyonun tersi ise histon deasetilaz enzimleri (HDAC) tarafından gerçekleştirilmektedir. Mayalardan insana kadar farklı canlı türlerin korunmuş olarak bulunan HAT ve HDAC'lar çeşitli sınıflarda gruplandırılır. HDAC'ler filogenetik korumaya dayalı olarak dört sınıfa ayrılır. Sınıf I (HDAC1, 2, 3, 8), Sınıf II (HDAC4, 5, 6, 7, 9, 10) ve Sınıf IV (HDAC11) HDAC'ler çinkoya bağımlıdır.

Sirtuinler olarak da bilinen Sınıf III (SIRT1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) HDAC'ler, Nikotinamid Adenil Dinükleotid (NAD⁺) bağımlıdır, hücrel NAD/NADH oranını kontrol etmektedir (Gregoret et al., 2004; Milazzo et al., 2020).

SIRT1, *SIRT6* ve *SIRT7* çekirdek; *SIRT2* sitoplazmik; *SIRT3*, *SIRT4* ve *SIRT5* mitokondriyal lokalizasyona sahiptir. Deasetilaz aktivitesine ek olarak bu proteinlerin; adenosin difosfat (ADP) ribozilasyonu (*SIRT1*, *SIRT4* ve *SIRT6*), desuksinilasyon ve demalonilasyonu (*SIRT5*), delipolilasyonu (*SIRT4*), demristolasyon ve depalmitolasyonu (*SIRT6*) gibi alternatif enzimatik işlevlere sahiptir (Budayeva et al., 2016). *Sirtuinler* HDACI ve HDACII'lerden farklıdır ve maya sessiz bilgi düzenleyicisi 2 (Sir2)'nin homologlarıdır (Blander ve Guarente, 2004). Sirtuinlerin histon proteinlerinin deasetilasyonunun yanı sıra histon olmayan (tümör protein 53 (p53), p300/CREB bağlayıcı protein (CBP)) sirtuin bileşiklerin deasetilasyonun yapıldığının gösterilmiş olması, sirtuinlerin biyolojik önemini artırmaktadır. Sirtuin hedefleri olan bu proteinlerin aktivitesi, hücrel lokalizasyonları veya diğer proteinlerle olan ilişkileri adenilasyon ile modifiye edilmektedir (Dai et al., 2016). Sirtuin protein aktivitesi, birçok amino asit üzerindeki fosforilasyonu ile değişmektedir (Yang et al., 2022). Sirtuin işlevlerindeki bu çeşitlilik, farklı hücre içi yerleşimlerinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla bu durum sirtuinlerin önemlerini artırmaktadır (Budayeva et al., 2016). Sirtuinlerin lizin kalıntılarının aminlerinin propionile veya bütirile edilebileceğine dair artan kanıtlar vardır. Histon lizin kalıntılarının yanı sıra histon olmayan proteinlerin, propionile edilmiş ve bütirillenmiş olduğunu ortaya koyan çalışmalar vardır (Chen et al., 2008; Cheng et al., 2008).

Ağırlıklı olarak bir çekirdek proteini olan *SIRT1*, histon 1 (H1), histon 3 (H3) ve histon 4 (H4) histonlarının deasetilasyonunu yapmaktadır (Toiber et al., 2011). Ayrıca *SIRT1* transkripsiyon faktörleri ve DNA onarım proteinlerini (Bonkowski & Sinclair, 2016) içeren 50'den fazla histonun hedefini değiştirmektedir (Gertz & Steegborn, 2016). *SIRT1* bir transkripsiyon regülatörüdür (Bonkowski & Sinclair, 2016, Inoue et al., 2014). *SIRT1*'in ifadesi çeşitli küçük aktivatör ve inhibitör moleküller tarafından değiştirilmektedir. Bu nedenle *SIRT1* önemli bir terapötik hedef olarak bilinmektedir (Dai et al., 2018).

SIRT1 stres tepkilerinin düzenleyicisi olan Forkhead box (FOX) transkripsiyon faktörleri, O sınıfı FOX proteinleri (FOXO) deasetilasyonunu kontrol etmektedir. *SIRT1* deasetilasyonun yalnızca FOXO'yu aktive veya inhibe etmediği aynı zamanda *SIRT1*'in FOXO'yu seçici olarak belirli hedeflere yönlendirdiği, böylece fosforilasyon ile düzenlemeye de yardımcı olduğu düşünülmektedir (Inoue et al., 2014).

SIRT1 aynı zamanda adenosin monofosfat-aktif protein kinaz (AMPK) aktivitesini de artırmaktadır. Bu otofaji aktivasyonunu uzatmak veya güçlendirmek için pozitif bir geri besleme döngüsü oluşturmaktadır (Canto et al., 2019; Park et al., 2016). *SIRT1*, NF- κ B faaliyetini muhtemelen baskılayarak yangıda da rol oynamaktadır (Yeung et al., 2004). *SIRT1*, oksidatif fosforilasyonu ve mitokondriyal biyogeneze neden olan metabolik homeostasisi de düzenlemektedir (lagouge et al., 2006). *SIRT1* posttranskripsiyonel olarak siklinB/siklin bağımlı kinaz 1 (CDK1) aracılı fosforilasyonu, deasetilaz aktivitesini modüle etmektedir ve hücre proliferasyonunu etkilemektedir (Miteva et al., 2014). Fosforilasyon ve sumolasyon *SIRT1*'in aktivitesini artırmaktadır (Moore vd., 2012). Ayrıca *SIRT1* fosforilasyonunun *SIRT6* konformasyon değişikliklerini düzenleyebileceği düşünülmektedir. Bu konformasyonel değişiklik *SIRT6* substratların hedeflenmesini de modüle etmektedir (Miteva et al., 2014). *SIRT1* aynı zamanda *SIRT6*'nın ifadesini artırmaktadır ve birlikte metabolik ara ürünlerin üretimini etkileyen mitokondriyal aktivitenin düzenlenmesinde rol oynadıkları düşünülmektedir (Kugel et al., 2016).

SIRT2, tübülini deasetilasyona uğrattığı sitoplazmadaki mikrotübüllerle ilişkilidir (North et al., 2003). *SIRT2* protein hücre döngüsü düzenlemesinde bir rol oynamaktadır (Dryden et al., 2003). *SIRT2*, mitozdan sonra hızla parçalanmaktadır ve *SIRT2*'nin mutant formlarını aşırı eksprese eden hücreler mitozdan geç çıkmaktadır (North et al., 2004). *SIRT2*'nin kanser patogeneziindeki rolü olduğu bilinmektedir. *SIRT2* protein ekspresyonunun seviyeleri, insan glioma hücre hatlarının büyük bir kısmında ciddi şekilde azalma göstermektedir (Hiratsuka et al., 2003).

SIRT3, çekirdekte bir histon deasetilaz olarak işlev görmektedir ve stresle ilişkili genlerin ifadesini baskılamaktadır (Iwahara et al., 2012). *SIRT3*, oksidatif fosforilasyon, yağ asidi oksidasyonu, üre döngüsü ve antioksidan tepki sisteminde yer alan çeşitli mitokondriyal proteinlerin fonksiyonunu düzenlemektedir (Hallows et al., 2011; Hirschey 2010; Qiu et al., 2010; Shimazu et al., 2010; Schlicker et al., 2008; Yu et al., 2012). *SIRT3*, mitokondriyal ROS seviyelerini azaltmak için antioksidan enzim manganez süperoksit dismutazı deasetile ederek aktifleştirmektedir (Luo et al., 2017).

SIRT4, NAD^+ ya bağımlı mono ADP ribosiltransferaz aktivitesi göstermektedir. Ayrıca 3-hidroksi-3-metil-glutarillenmiş lizin kalıntılarına karşı deaçilaz aktivitesi göstermektedir (Pannek et al., 2017). *SIRT4*'ün ekspresyon seviyeleri karaciğer, kalp, böbrek ve beyinde yüksek olduğu bilinmektedir (Sidorova et al., 2014). *SIRT4*, mitokondride ROS üretiminin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Luo et al., 2017).

SIRT5, metabolik ve enerji yollarındaki proteinleri deasetile etmektedir (Huang et al., 2010). *SIRT5* ayrıca protein lizin demalonilaz ve desüksinilaz olarak tanımlanmaktadır (Du et al., 2011). *SIRT5*, kalp, kas, beyin, karaciğer ve böbrekte nispeten yüksek düzeyde olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edilmektedir (Kumar et al., 2018). *SIRT5*'in insan hastalıklarının patogeneziindeki rolü şu anda tartışılmaktadır çünkü *SIRT5*'in gen yapısındaki tekrarlayan unsurlar kısmen genomik kararsızlığa ve dolayısıyla malign (kötü huylu tümör) transformasyona neden olabilmektedir (Gertz et al., 2010). *SIRT5*'in apoptozun düzenlenmesinde ek bir işlevi olup olmadığı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır ancak *SIRT5*'in hücrel metabolizma ve hücrel yaşlanmanın düzenlenmesinde fizyolojik bir rolü olduğu bilinmektedir (Gertz et al., 2010; Michishita et al., 2005).

SIRT6, oksidatif stres koşullarında memeli hücrelerinde DNA tamiri ve genomik stabilitenin korunmasında anahtar rol oynamaktadır. *SIRT6* kromatinle ilişkilidir. *SIRT6*, histonlar, transkripsiyon faktörleri ve stres tepki proteinlerinin işlevlerini değiştirerek gen ifadesinin düzenlenmesini, telomerlerin korunması ve DNA tamirini sağlamaktadır (Kugel et al., 2016). *SIRT6* geni susturulmuş farelerin, erken yaşlanma ve kansere yatkınlık oluşturduğu bilinmektedir (Mostoslavsky et al., 2006). Ayrıca *SIRT6*

yaşlanmaya bağlı görülen nörodejeneratif hastalıklara karşı korumada rol oynamaktadır (You et al., 2019).

SIRT7, proliferatif dokularda; dalak, over, tiroit, karaciğer ve testis de bulunur. Nonproliferatif dokuda ifadesi yoktur ya da zayıftır (Guarente et al., 2011). *SIRT7*'nin RNA polimeraz I transkripsiyonunu aktive ettiği bilinmekle birlikte protein substratı henüz tanımlanamamıştır. *SIRT7* işlevsel olarak transkripsiyonel düzenlemede rol almaktadır.

SIRT7, ribozomal genlerin promotörlerinde ve kodlama bölgelerinde tespit bulunur; Polimeraz 1 (pol1) ile doğrudan etkileşim yoluyla ribozom üretimini pozitif olarak kontrol etmektedir (Ford et al., 2006; Grob et al., 2009; Chen et al., 2013). Tersine, *SIRT7*, histon H3K18 deasetilasyonu yoluyla rDNA tekrarları dışındaki genlerin transkripsiyonunu negatif olarak düzenlemektedir. *SIRT7* kromatin yeniden modellenmesinde görev almaktadır. *SIRT7* geni susturulmuş farelerin ömrü kısadır (Barber et al., 2012; Tsai et al., 2012). *SIRT7* p53'e de etki etmektedir (Vakhrusheva et al., 2008). *SIRT7* ayrıca siklinB/CDK1 tarafından fosforile edilmektedir (Grob et al., 2009; North et al., 2007). Nörodejeneratif bir rahatsızlık olan Multiple Skleroz da *SIRT7* gen ifadesi düşük olduğu bilinmektedir (Bayram, 2013).

Bu nedenle sirtuinlerin aktivitesinin düzenlenmesi, yaşa bağlı pek çok hastalığa karşı yeni tedavi uygulamalarının geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir (Villabla & Alcain, 2012). Bununla birlikte bal arısında sirtuin ifadesi ve yaşlanma-stres yolları üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlı olduğu bilinmektedir (Bonkowski & Sinclair, 2016).

2.2. Sirtuin aktive/inhibe edici moleküller

Son 20 yılda basit ve karmaşık model organizmalar üzerine yapılan çalışmalar, kalori kısıtlamasının uzun ömürlülüğü etkileyen yolları etkilediği bilinmektedir ve bu sayede yaşam süresi üzerindeki etkileri görülmektedir. Basit ve model organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar, uzun yaşam ile ilişkili yolların evrimsel olarak korunduğunu

göstermektedir. Mayalardan kemirgenlere kadar model organizmaların hastalık süresini kısaltan ve ömrünü uzatan düzinelerce gen ve yolak bulunmaktadır. Bu yolakların başlıca sinyal hedefleri; insülin/insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), TOR, AMPK ve sirtuin deasetilazları (*SIRT1-7*) kapsamaktadır (Kenyon, 2010). Bu yolakların, dışsal zorluklarla karşı hücrel savunma mekanizmalarının harekete geçirilmesi ve besinsel çevreye göre tepkinin oluşturulması amacıyla zaman içinde evrimleştiğine inanılmaktadır. Doğal olarak bulunan birkaç molekül, bu yolakları etkinleştirebilmektedir ve kemirgenlerde yaşam süresini uzatmaktadır.

Diğer yandan, sirtuinleri aktive eden daha güçlü bileşikler tasarlayarak hem hayvanlarda hem de insanlarda kalori kısıtlamasının bazı fizyolojik etkilerini farmakolojik olarak taklit etmenin mümkün olduğu bilinmektedir (Bankowski & Sinclair, 2016).

Sirtuin aktive edici bileşikler (STACs) ile yapılan tedavi bazı hayvan modellerinde hastalıklara karşı dayanıklılığı ve yaşam süresini artırmaktadır. Bu nedenle, insan sirtuin izoformları (*SIRT1-7*), tip2 diyabetler, yangı hastalıkları ve nörodejeneratif bozukluklar gibi yaşlanmaya bağlı hastalıkların tedavisinde terapötik hedefler olarak dikkate alınmaktadır. Sirtuin inhibasyonu ve aktivasyonu sağlayan; HDACi ve HDACa genç ergin işçi arılarda ve ana arılarındaki epigenetik düzenlemeleri etkilediği bilinmektedir (Huang, 2012).

Sodyum bütirat (NaB), kısa zincirli yağ asidi bütirik asidin sodyum tuzudur. Sodyum bütirat histon deasetilazların bilinen bir inhibitörüdür (Davie, 2003). NaB ayrıca *ATG5* aracılı otofanin ekspresyonunu artırmaktadır. Ayrıca fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/AKT/*mTOR* yolunu inhibe eder ve hücre apoptozu NaB tarafından aktive edilmektedir (Qiao et al., 2020).

Kurkumin, zencefilgiller (*Zingiberaceae*) ailesine ait zerdeçal (*Curcuma Longa*) bitkisinden elde edilen polifenolik bir bileşik olduğu bilinmektedir. Zerdeçalın en aktif bileşeni olan kurkumin zerdeçalın %2-5 kadarını oluşturmaktadır (Sharma et al., 2005). Kurkumin, AMPK sinyal yolunu aktive etmektedir. Kurkumin sinyal molekülleri ve AMPK aracılığıyla antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-tümör aktiviteleri

uygulamaktadır (Ferguson & Philpott, 2007; Menon & Sudheer, 2007). Kurkumin, gen ekspresyonu ile doğrudan etkileşim ve/veya epigenetik modülasyon yoluyla uygulanan aktiviteye sahip çok sayıda biyokimyasal ve moleküler basamakla ilişkili çeşitli moleküler hedeflere sahip olduğu bilinmektedir. Bugüne kadar kurkuminin, tioredoksin redüktaz, protein kinaz C, 5-lipoksijenaz ve tübülin dahil olmak üzere 33 kadar farklı proteine fiziksel olarak bağlandığı bilinmektedir (Anand et al., 2008) Kurkumin *SIRT1*'i uyarmaktadır (Yang et al., 2013; Xiao et al., 2016).

2.3. Vitellogenin ve Juvenil hormon

Hem uzun ömürlü hem de üreme yeteneğine sahip olan kraliçe bal arılarında *Vitellogenin* (Vg) ile juvenil hormon (JH) arasındaki benzersiz ilişki dikkat çekmektedir (Flatt et al., 2005; Tatar et al., 2001; Tu et al., 2005). Yumurta sarısı öncü proteini vitellogenin, ana arılarda yumurta üretimiyle ilişkili olan bir protein olduğu bilinmektedir (Engels, 1974) ve bal arılarının yaşam uzunluklarını artıran fonksiyonları bulunmaktadır (Corona et al., 2007). Ana arıların dolaşımdaki Vg protein seviyesi en yüksek, erkek arılarda ise en düşük olduğu bilinmektedir (Engels et al., 1990). *Vitellogenin* geninin ifadesi besine duyarlıdır (Amdam et al., 2012).

JH düzeyi, bir böceğin yaşamında önem taşımaktadır. JH metabolizmasında yer alan enzimler, özellikle juvenil hormon esterazlar (JHE'ler), metamorfoz ve üreme sırasında önemli rol oynamaktadır. Hymenoptera'da JH, öncelikle kraliçe ve işçi kastlarının geliştirilmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca işçi Hymenoptera'nın yaşa bağlı davranışsal gelişiminde de rolü bulunmaktadır. Bal arısı genomunda tahmin edilen 21 karboksilesterazdan oluşan bir dizi içinde, böcek JHE'lerinin ana fonksiyonel motiflerini içeren *AmJHE-benzeri* gen bulunmaktadır. Larva gelişimi sırasındaki *AmJHE-benzeri* genin ifade seviyeleri maksimum olurken ve ergin arılarda JH seviyesi minimum olmaktadır. Yetişkin işçi arılarda dışarıdan yiyecek aramaya geçişi önlemek için JH ifade seviyesinin düşük olması gerekmektedir ve bu durumlarda *Amjhe-benzeri* genin en yüksek ifade seviyesinde olduğu bilinmektedir (Mackert et al., 2008).

Juvenil hormon (JH), yumurta olgunlaşması için gerekli bir hormondur (Wigglesworth, 1936). Üç ve beş günlük larvalara lokal olarak JH uygulandığında ana arı oluşması sağlanmaktadır (Rembold et al., 1974). JH, insülin/insülin benzeri sinyalizasyon (IIS) ve TOR beslenme algı yolları üzerinden kast farklılaşmasını kontrol etmektedir (Wolschin et al., 2011).

Vitellogenin ve JH yakından bağlantılıdır. JH, böceklerin beyin gelişiminde ve sirkadiyen döngüsünde rolü olduğu bilinmektedir (Stay & Zera, 2010). Böcek model sistemlerinde, IIS inhibisyonu (besin algılamasını azaltır), JH'yi düşürür ve hayatta kalma kapasitesini artırmaktadır (Flatt et al., 2008).

Öte yandan bal arılarında, artan besin durumu düşük JH seviyesi sağlar ve hayatta kalma kapasitesini artırmaktadır (Amdam & Omholt, 2003). Bu durumun *Vg*'nin, IIS'i baskılama yeteneğinden kaynaklandığı öngörülmektedir. Bununla birlikte, bu baskılama işlevi henüz deneysel olarak tespit edilememektedir. (Amdam, 2011). Bal arılarında, bu tür bağlantılar kraliçe ve işçi arılar arasındaki ömür uzunluğu ve üreme farklılıkları bağlamında araştırılmaktadır (Grozinger et al., 2007). Özellikle bal arılarında insülin sinyallemesinin atipik düzenlenmesine ilişkin sonuçlar, mevsime ve beslenme durumlarına göre insülin peptidi ve reseptör ekspresyonu üzerine qPZR çalışmalarından ortaya çıkmaktadır (Ament et al., 2008).

2.4. İnsülin/İnsülin Benzeri Sinyalizasyon (IIS) ve *ILP* genleri

IIS yolu, insülin ve insülin benzeri peptidleri, bunların aynı kökenli hücre yüzeyi transmembran reseptörlerini, bu reseptörlerin substratlarını ve transkripsiyon yönüyle aynı yönde olan efektörleri içeren, hormonal olarak düzenlenen bir hücre sinyal yoludur. Bu yolu geniş bir tür yelpazesinde yaşlanmaya bağlayan önemli genetik ve biyokimyasal kanıtlar bulunmaktadır (Kimura et al., 1997; Morris et al., 1996; Kenyon et al., 1993; Friedman et al., 1988). Öte yandan IIS yolundaki değişiklikler mTOR sinyalini etkilemektedir (Bartke et al., 2016). Sirtuinler, mTOR ve IIS yolunu ayrı ayrı düzenlemektedir. Fakat bağlantıda olduğuna dair istisnalar bulunmaktadır. Bu bağlantı

AMPK üzerinden gerçekleşmektedir. Aktive olan AMPK NAD^+ seviyeleri artırmaktadır ve beraberinde *SIRT1* seviyelerinde artış sağlanmaktadır (Igarashi et al., 2016).

Aktive olan sirtuinler doğrudan deasetilasyon yapabilmektedir ve böylece FOXO transkripsiyonel aktivitesini düzenlemektedir (Brunet et al., 2004; Cantó, et al., 2009). Böylece *SIRT1*'i IIS yolunun önemli transkripsiyon yönüyle aynı yönde efektöre bağlamaktadır (Pan et al., 2017). Ayrıca AMPK, mTOR aktivitesini doğrudan düzenlemektedir (Inoki et al., 2006). Dolayısıyla sirtuinler, mTOR ve IIS sinyalleri arasında karmaşık etkileşimlerden oluşan bir ağ olduğunu göstermektedir (Pan et al., 2017).

IIS, yaşlanmayı, doğurganlığı ve diğer önemli biyolojik süreçleri düzenlemektedir (Finch & Ruvkun, 2001). IIS, TOR yolağını (Edgar, 2006) ve juvenil hormonu transkripsiyon yönüyle ters yönde düzenlemektedir (Tu et al., 2005; Corona et al., 2007).

IIS, işçi bal arılarının sinir ve periferik dokularında eksprese edilen *İnsülin Benzeri Peptit 1 (ILP-1)* ve *İnsülin Benzeri Peptit 2 (ILP-2)* genlerini içermektedir (Corona et al., 2007; Ament et al., 2008). Besin stoklarının yüksek düzeyde olması (Schwartz et al., 1997) böceklerde bulunan *ILP*'lerin sentezlenmesine yol açmaktadır (Ikeya et al., 2002) ve adipokinetik hormonun sentezini baskılamaktadır (Kim & Rulifson, 2004). Omurgasızlardaki *ILP*, memelilerdeki IGF1 ligandlarına homologtur (Flatt et al., 2005). Birçok böcek, nöronlarda (Broughton & Partridge, 2009) veya nöronların alt kümelerinde *ILP*'ler üretmektedir (Li et al., 2003). Birkaç *ILP* uzun ömürlülüğü ve gelişimi düzenlemektedir (Murphy & Hu, 2018).

Kraliçe larvalarında, *Apis mellifera* *İnsülin Benzeri Peptit 1 (AmILP-1)* ve *Apis mellifera* *insülin reseptörü 2 (AmInR-2)* ilk 40 saatte daha yüksek bir seviyede eksprese edilmektedir (Wheeler et al., 2006). *ILP* düzeyleri, JH etkisiyle artmaktadır ve besin yokluğunda olan arıların beyinlerinde daha yüksek seviyelerde ifade edilebilmektedir. *Bal arısında*, beyin *AmILP* mRNA seviyeleri ile karmaşık davranışlar sergileme durumu arasındaki bağıntı incelenmiştir, ancak böcek davranışını nasıl etkilediği bilinmemektedir (Ament et al., 2008). Larva besleme rejimlerindeki değişiklikler, larva

gelişiminin ilk larva döneminin sonundan dördüncü larva döneminin sonuna kadar *AmILP-1*, *AmILP-2* ve *AmInR-2* ifadesinde belirgin değişiklikler oluşturmaktadır. Bu da onların beslenme durumlarını kraliçe hücrelerden işçi hücrelere kaydırarak değiştirmektedir (Hartfelder, 2005). *Drosophila* da *ILP2* ifadesi azaldığında, artan sirtuin aktivitesi görülmektedir (Stefanatos et al., 2012). *FOXO*'nun aşırı ekspresyon *ILP2* azalmasına yol açmaktadır (Clancy et al., 2002). AMPK bağımlı p53 aktivasyonu, *ILP2* seviyelerinin modülasyonuna, sistemik insülin/TOR sinyallemesine ve otofaji indüksiyonuna yol açmaktadır (Ingaramo et al., 2020). Lokal glial *ILP*'ler, IIS/PI3K/TOR yolu aracılığıyla komşu nöroblastlara sinyal vermektedir ve bunların yeniden aktivasyonunu kontrol etmektedir (Chell et al., 2010; Sausa-Nunes et al., 2011).

2.5. Mantarsı yapı ve Bruchpilot proteini

Bal arılarının beyinde duyuusal bilginin işlenmesinde yer alan ve belirgin beyin nöropilleri olan bölgeye mantarsı yapı (MB) denmektedir. Ayrıca MB öğrenme ve bellekten sorumludur (Durst et al., 1994). Mantarsı yapıda bulunan dopamin, serotonin ve oktopamin seviyeleri, yaşlı arılarda genç arılara göre daha yüksek çıkmaktadır (Schulz & Robinson, 1999). MB, yaşa bağlı olarak şekil değişikliği göstermektedir (Withers et al., 1993). Bunun sebebi, mikrogranüllerdeki presinapsların nörotransmitter salımında, presinaptik proteinlerinde artış olmasıdır (Leitinger et al., 2012).

Fagot (420 kD) (Dieck et al., 1998) ve Piccolo (530 kDa) (Fenster et al., 2000) genel hücre iskeleti proteinleridir. Piccolo protein-protein etkileşim alanı içerir. Piccolo Fagot ile Rab3 etkileşimli molekülü (RIM1) ve memeli Unc-13 (Munc-13) aktif bölgenin bileşenlerini düzenlemektedir. Ayrıca sitomatriks ile ilişkili aktif bölge (CAZ) ile ilişkili yapısal protein (ELKS/aktif bölgeyle ilişkili yapısal proteindeki sitomatriks (CAST)/ERC) dahil olmak üzere aktif bölgenin bileşenlerini düzenlediği varsayılmaktadır. ELKSa/CAST1'in Fagot'a bağlanması, nörotransmitter salınımında rol oynuyor gibi görünmektedir (Takao-Rikitsu et al., 2004).

Drosophila'da, omurgalıların ELKS/CAST/ERC protein ailesine homolojiye sahip *BRP* proteinin, nöronal terminallerin presinaptik aktif bölgelerinde lokalize olduğu

bilinmektedir. *BRP*'nin, *Drosophila*'nın tüm sinapslarının olmasa da çoğunun aktif bölgelerinde bulunmaktadır.

İnsan ELKSα, *C. elegans* CAST ve *BRP* arasındaki yüksek homolojiler, proteinlerin üç bölgesinde bulunmaktadır. Memelilerde ELKS/CAST/ERC izoformları hem nöronal hem de nöronal olmayan rollere sahip olduğu bilinmektedir (Wagh et al., 2006). *Drosophila* *BRP*, nöronal CAST izoformlarına karşılık gelmektedir, nöronal olmayan fonksiyonlar omurgalılara özgü olabilmektedir (Kawasaki et al., 2004).

Bruchpilot birçok böceğin presinapslarının aktif bölgedeki sitomatriksinde bulunur. *BRP* nörotransmitter salımını kontrol eden bir proteindir (Leitinger et al., 2012). Bal arısı beyinde bulunan *AmBRP* seviyesinin yaşa bağlı değişimi incelenmiştir ve iki haftalık bal arılarının beyinde *AmBRP* miktarı artarken, diğer bir nörotransmitter salınımında rol oynayan Synapsin proteinin ise ilk iki hafta boyunca artış gösterdikten sonra düşüşe geçtiği görülmüştür. Buna ek olarak; mantarsı yapıdaki *AmBRP*'nin yaşla ilişkili bir modülasyonu olduğu tespit edilmiştir (Gehring et al., 2017).

Alzheimer hastalığı ile ilişkili olarak bir meyve sineği modelinde, *BRP* miktarında bir azalma ve sinaptik vezikül salınımı gözlemlenmiştir (Huang et al., 2013). *BRP* protein seviyeleri çok azaldığında, larval motor nöronların ve yetişkin fotoreseptörlerin terminallerindeki sinaptik aktif bölgelerin üst yapısı bozulmaktadır. Larval motor nöronların ve yetişkin fotoreseptörlerin terminallerindeki sinaptik aktif bölgelerin üst yapısının RNAi ile yıkımı sonucunda, *BRP* protein seviyeleri ciddi şekilde azalmaktadır ve uyarılmış transmitter salınımında bir azalma göstermektedir (Wagh et al., 2006).

Drosophila FOXO larva gelişimi sırasında nöromüsküler kavşakta hücre iskeleti dinamiklerini desteklemektedir ve burada hızlı yapısal yeniden düzenlemeye izin vermek için uyarıya yanıt vermektedir. Ek olarak FOXO kaybı hem larva hem de yetişkin *drosophila* nöromüsküler kavşaklarında nörotransmitter salınımını azaltarak sinaptik fonksiyonu etkilemektedir (Howlett et al., 2008; Mahoney et al., 2016). FOXO mutant larvalarının ana aksonda *BRP* birikimi vardır fakat bu yetişkin larvalarda görülmemektedir (Birnbaum et al. 2021; McLaughlin et al., 2016). HDAC6 *BRP* dahil

olmak üzere birden fazla hedefi deasetillemektedir (Miskiewicz et al., 2014; Hubbert et al., 2002).

2.6. *mTOR* geni

Memeli rapamisin hedefi, hücrel enerji kullanılabilirliğini algılayan ve hücrel proliferasyonu düzenleyen bir protein kinazdır. *mTOR*, protein homeostazını kontrol etmede kilit bir rol oynamaktadır (Caccamo et al., 2010). *mTOR* sinyal yolu, yaşlanma sırasında büyümeyi ve metabolizmayı düzenlemek için hücre dışı büyüme faktörlerini ve hücrel besin durumunu bütünleştirmektedir. *mTOR*, hücrenin besin algılama yollarında işlev gören iki protein kompleksine; *mTORC1* ve *mTORC2*'ye karşılık gelmektedir (Saxton ve Sabatini, 2017). *mTORC1*, öğrenme ve uzun süreli hafızanın altında yatan biyolojik süreçleri düzenlemektedir (Swiech et al., 2008). *mTOR*'un ayrıca otofajinin önemli bir negatif düzenleyicisi olduğu bilinmektedir (An et al., 2003). *mTOR*, nörotrofinlerin ve büyüme faktörlerinin reseptörleri tarafından aktive edilen PI3K ve AKT yolunun transkripsiyon yönüyle aynı yönde olduğu bilinmektedir. PI3K ve AKT, apoptotik sinyalleri aşağı regüle ederken hücre büyümesini, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını desteklemektedir (Manning & Cantley, 2007). Bu nedenle, PI3K/AKT/*mTOR* yolunun aktivasyonu, hayatta kalmayı, nöronal korumayı ve otofajinin inhibisyonunu teşvik etmektedir (Heras-Sandoval, 2014). PI3K/AKT/*mTOR* yolu, beyin gelişiminde nöritlerin (dendritler ve aksonlar) genişlemesini desteklemektedir (Jin et al., 2012). Ayrıca hipokampusta sinaptik plastisiteyi düzenlemektedir (Takei et al., 2004). Çalışmalar, *SIRT1*'in PI3K/AKT/*mTOR* sinyal yolunu inhibe ederek mitokondriyal fagositozu artırabildiğini göstermektedir (Takeda et al., 2012). Ayrıca *SIRT1* aktivitesi, *mTOR*'un inhibisyonu ile besin sınırlama koşulları sırasında nörit büyümesi ve artan nöronal hayatta kalma ile sonuçlanmaktadır (Guo et al., 2011).

Sinir hücreleri genellikle yenilenemez. Bu durum periferik/merkezi sinir sisteminde fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır. Bu prosedür; yaşlanma, Alzheimer hastalığı (AD), Parkinson hastalığı (PD), merkezi sinir sistemi (CNS) (beyin/omurilik) yaralanmaları, depresyon, Huntington hastalığı (HD), Multipl Skleroz (MS), Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ve otizm gibi çeşitli akut veya kronik nörolojik hastalıklara neden

olmaktadır (Ahmed et al., 2018; Gitler et al., 2017; Menzies et al., 2015). *mTOR* sinyali, AD'li hastaların beyinlerinin seçilmiş bölgelerinde hiperaktiftir (An et al., 2003). Bir çalışmada farelerin beyinlerinde *mTOR* sinyalleme azaltılmıştır.

Bu çalışma sonucunda otofaji indüksiyonunun artıp hipokampus gen ekspresyon imzasının geri yüklendiği görülmektedir. Bu etki, AD patolojisinde yer alan amiloid beta plaklarının (A β) birikimlerini azaltmaktadır, ayrıca hafızayı iyileştirmektedir. Tüm bu sonuçlar, *mTOR* hiperaktivitesinin A β birikimine neden olabileceğini göstermektedir (Caccamo et al., 2014). Ayrıca *mTOR* öğrenme ve hafıza ile doğrudan bağlantılı olduğu bilinmektedir (Caccamo et al., 2010).

Metabolik düzenleme, çevresel veya hücre içi dalgalanmalara yanıt olarak PI3K/AKT yolu, *mTOR*, AMPK ve sirtuinler dahil sinyal ağlarının koordinasyonunu gerektirdiği bilinmektedir. Hücreler ayrıca homeostaziyi sürdürmek için hücre metabolitlerin seviyelerini izlemek ve kontrol etmek için çok sayıda başka enerji sensörü kullanmaktadır. Buna karşılık, metabolit mevcudiyetindeki değişiklikler transkripsiyonel veya epigenetik modülasyonlar yoluyla gen ekspresyonunu etkilemektedir (Rev et al., 2017). *SIRT1* ve AMPK'nin aktivasyonu otofajiyi pozitif olarak düzenlerken, *mTOR*'un aktivasyonu otofajiyi negatif olarak düzenlemektedir (Parmar et al., 2022). AMPK, *mTOR*'u inhibe ettiğinden ve otofajiyi artırdığından, AMPK'yi hedeflemek, arızalı proteinleri ortadan kaldırarak hücre temizlik kapasitesini dolaylı olarak artırabilmektedir (Ng et al., 2012).

2.7. ATG5 geni

Nöronal otofaji; sinaptik plastisitenin sağlanması, glial hücrelerde anti-inflamatuar fonksiyonun oluşması, oligodendrosit gelişimi ve miyelinsasyon süreci için esas olduğu bilinmektedir (Kesidou et al., 2013). *ATG5* ve otofaji ile ilişkili gen 12 (*ATG12*) önemli otofaji genleridir. Alzheimer hastalarının (AD) nöronları ve endotel hücreleri *ATG12* ve *ATG5* immünreaktivitesi göstermektedir. *ATG5-ATG12*'nin konjugasyonu, otofagozom oluşumu için gereklidir. Bu konjugasyon AD patolojisinde yer alan amiloid beta (A β)

tarafından indüklenmektedir (Cho et al., 2019). *ATG5* gibi önemli otofajik genlerin silinmesi nörodejenerasyon oluşumunu indüklemektedir (Plaza-Zabala et al., 2017).

Kortekste *ATG5* kaybı, multipotent nöral progenitör hücrelerin farklılaşmasının azalmasına, nöronal proliferasyonun artmasına ve kortikal nöronların morfolojisinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu da *ATG5*'in, kortikal gelişimin, nöronal farklılaşma ve proliferasyonun yeni bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir (Lv et al., 2014).

Otofajinin önemli bir düzenleyicisi olan *SIRT1* ise otofajiyi artırmaktadır. Aynı zamanda hücrel homeostazın korunmasında rol oynayan birçok genin ana düzenleyicisidir (He et al., 2013; Fang et al., 2014). Ayrıca *SIRT1* otofajiyile ilişkili genlerin deasetilasyonu yoluyla otofaji-lizozom yolunu düzenlediği bilinmektedir (Lee et al., 2008). Çalışmalar, hücrelerin deasetilaz inhibitörleri ile tedavi edilmesinin, otofajiyi indükleyebileceğini göstermektedir (Robert et al., 2011). Ayrıca otofaji de sorumlu olan proteinlerin asetilasyonunun otofajiyi engellediği görülmektedir. Örneğin, asetiltransferaz p300 tarafından *ATG5*, *ATG7*, *ATG8* ve *ATG12*'nin asetillenmesi otofajiyi inhibe etmektedir (Lee & Finkel, 2009). Ek olarak *SIRT1*, *ATG5*, *ATG7* ve *ATG8*'i deasetilleyerek bazal otofajiyi artırmaktadır (Lee et al., 2008). *SIRT*ler FOXO ve P53 ile de otofajiyi düzenlemektedir (Liang et al., 2012; Lee et al., 2008). Düşük AMPK aktivitesi otofajiyi olumsuz yönde etkilemektedir (Meley et al., 2006). Sodyum bütirat, otofajiyi ve endoplazmik retikulum stresini indüklemektedir (Hamer et al., 2008). Sodyum bütirat, murin nöroendokrin STC-1 hücrelerinde α -Sinüklein mRNA ekspresyonunu artırmaktadır ve *ATG5* aracılı otofaji ekspresyonunu artırmaktadır (Qiao et al., 2020). Otofaji ağı içerisinde *mTOR*, PI3K ve AKT tarafından aktive edilmektedir ve bu da otofajinin inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır (Kim et al., 2019; Chandra et al., 2017).

2.8. *BECN1* geni

Beclin-1, otofagozom biyogenezi için fosfatidilinositol 3 fosfat (PI3P) üretimi yoluyla otofajide kritik rol oynamaktadır (Axe et al., 2008). *BECN-1* ekspresyon seviyesi, lizin kalıntılarının asetilasyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir.

BECN-1 asetilasyonu, otofagozomların oluşumunu engellemektedir (Sun et al., 2015). Tersine *BECN-1* lizin tortusunun *SIRT1* tarafından deasetilasyonu, otofagozomların oluşumunu sağlamaktadır (Gao et al., 2020).

BECN-1 ve *ATG-7* dahil olmak üzere otofajinin birçok bileşeni, demiyelinizasyondan sonra transkripsiyonel olarak transkripsiyon yönüyle ters yönde edilmektedir (Jang et al., 2016). Yaşlı insan beyinde, *ATG-5*, *ATG-7* ve *BECN-1* dahil olmak üzere otofaji genlerinin aşağı regülasyonu gözlenmektedir. Yaşlı kemirgenlerin beyinleri, *ATG* protein seviyelerinin düşmesiyle birlikte artan *mTORC1* aktivitesi sergilemektedir (Yang et al., 2014). AD'den alınan beyin örneklerinde anormal bir otofajik vakuol birikimi ve *BECN1* seviyesinde bir azalma görülmektedir. Amiloid öncü protein transgenik farelerinde *BECN1* eksikliği, nöronal otofajiyi azaltmaktadır, lizozomları bozar, A β birikimine neden olmaktadır ve bu olay nörodejenerasyonla sonuçlanmaktadır (Pickford et al., 2008). Mikroglia A β gibi proteinlerin temizlenmesini sağlamaktadır (Sierra et al., 2013). Son çalışmalar *BECN-1*'in mikroglia tarafından A β fagositozundaki rolünü vurgulamaktadır. *BECN-1*'in heterozigot delesyonu olan farelerin frontal korteksinde A β miktarı artmaktadır (Yue et al., 2003). Aynı şekilde HD'li bazı vakalar da çok düşük *BECN1* seviyeleri görülmektedir (Ravikumar et al., 2004).

Aşırı eksprese edilen miR-519d, AMPK ve *mTOR* ekspresyonunun fosforilasyonunu inhibe etmek için Rab10 ekspresyonunu baskılamaktadır, böylece hücre apoptoziyle ilişkili genleri (*Bax*, *Bcl-2* ve *p53*) ve otofajiyile ilişkili genleri (*BECN1* ve *ATG5*) aktifleştirmektedir (Zhang et al., 2022)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deneme materyallerin elde edilmesi

Çalışmada, 122Z317 nolu TUBİTAK ARDEB 1001 projesi kapsamında Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde gerçekleştirilen beslenme programından elde edilmiş olan bal arısı ergin ve larva örnekleri kullanılmıştır. Deney ünitelerinin beslenmesinde kullanılan şuruplar %50 sukroz ve steril su ile hazırlanmıştır (Winston-ML 1991 & Genç et al., 2011) ve 3 mg/l kurkumin (HDACa) ve 1,1 g/l sodyum bütirat (HDACi) eklenmiştir. Kontrol grubuna yalnızca şekerli su verilmiştir.

30 gün süre ile devam eden beslenme sonrasında her deney grubundan 10'ar adet larva içeren numunelerin hasatı yapılarak hemen RNALater (Invitrogen) içerisinde batarak saklanmıştır. Moleküler analizlerde organizmanın fizyolojisindeki büyük çaplı değişikliklerin değerlendirilmesine olanak sağlamasından dolayı bal arısı örneklerinin tüm vücut dokusu kullanılmıştır (Lund et al., 2002; McCarroll et al., 2004; Grotewiel et al., 2005).

Moleküler analizlerde kullanılacak olan işçi, kraliçe larvaları ve ergin arılardan oluşan 36 numune, BUÜ Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği (BİYOGE) ve Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM) laboratuvarlarına transfer edilmiştir. Beslenme programında kullanılan grupların isimlendirmeleri aşağıda belirtilmiştir.

Kurkumin besin diyeti uygulananlar: Cur

Sodyum bütirat ile besin diyeti uygulananlar: Na

Kontrol grubu olanlar: Kont

Çözgen kontrol grubu olanlar: Dmso (dimetil sülfoksit)

İşçi arı larvalar: IL

Ana arı larvalar: AL

İşçi arılar: IL

*Kontrol grubu istatistik hesaplamalar için kullanılırken, çözgen kontrol grubu beslenme diyetlerine karşılık kontrol olarak kullanılmıştır.

3.2. Bal arısı doku örneklerinin hazırlanması, RNA izolasyonu ve cDNA kütüphanesi sentezi

SUNUM laboratuvarlarında gerçekleştirilen moleküler analizlerde bal arısı örneklerinden RNA izolasyonu EcoPure izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıvı azot içerisinde dondurularak buz üzerine aktarılan numuneler daha sonra havan ve tokmak aracılığıyla karıştırıp ezilmiş ve bu numunelerden 30'ar mg RNA izolasyonu için kullanılmıştır. Larva numuneleri hazırlanmasında, larva dokusunun yumuşak olmasından dolayı yaklaşık 5 adet bireysel larva bir mikro santrifüj tüpü içinde buz üzerinde pipet ucuyla karıştırıp ezilmiş ve bu numunelerden 20 µl (yaklaşık 15 mg) numune kullanılarak RNA izolasyonu başarılı tamamlanmıştır. Homojenizasyon aşamasından sonra ergin arılar için izlenen protokol aşağıda verilmiştir.

Protokol temel basamakları: Her bir ependorf tüpün içerisine 300 µl Lysis/Binding Buffer eklenmiştir. Ardından 3 µl β-mercaptoethanol ilave edilmiştir. 10 saniye vortekslenmiştir. Tüm tüpler 10 dakika santrifüjlenip süpernatant ölçülerek başka bir ependorf tüpe aktarılmıştır (yaklaşık 250-270 µl). Aktarılan eşit hacimde ethanol (96-100%) eklenerek 10 saniye vortekslenmiştir. Tüplerdeki tüm sıvı spin kolonlara aktararak (yaklaşık 500 µl) 10.000 rpm 30 saniyede santrifüjlenmiştir. Daha sonra her bir örnek başına 1 µl DNase, 1 µl 10x Buffer1, 8 µl nükleazsız su eklenmiştir. 37°C'de 15 dakika inkübasyon yapılmıştır. Ardından her tüpe 300 µl Wash Buffer 1 eklenerek maksimum rpm'de 30 saniye spinlenmiştir Daha sonra 500 µl Wash Buffer 2 eklenerek maksimum rpm'de 2 dakika spinlenmiştir. Tüpün alt kısmı atılırken filtre kısmı yeni bir 1.5 mL'lik ependorf tüpe aktarılmıştır. Üzerine 50 µl EcoPURE Elution Buffer eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilerek ve maksimum rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir.

Homojenizasyon aşamasından sonra larvalar için izlenen protokol aşağıda verilmiştir.

Her bir ependorf tüpün içine 400 µl Lysis/Binding Buffer eklenerek pipetaj yapılmıştır. Ardından 10 saniye boyunca vortekslenmiştir. Üzerine 4 µl β-mercaptoethanol ilave edilmiştir. Tekrar 10 saniye boyunca vortekslenmiştir ve 2 dakika 14000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Oluşan süpernatant yeni ependorf tüpe ölçüm yapılarak aktarılmıştır. Ölçülen süpernatant miktarı kadar ethanol (96-100%) eklenmiştir. 10 saniye boyunca vortekslenmiştir. Numune ependorf tüpten filtreli tüpe aktarılmıştır. 14000 rpm de 30 saniye boyunca oda sıcaklığında vortekslenmiştir. Filtreden geçip tüpte kalan sıvı dökülmüştür. Daha sonra kolon membranına 1 µl DNase, 1 µl 10x Buffer1, 8 µl nükleazsız su eklenmiştir. 37°C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. Örnekler 400 µl Wash Buffer 1 eklenmiştir. 30 saniyede 14000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Filtreden geçip tüpte kalan sıvı dökülmüştür. Üzerine 500 µl Wash Buffer 2 eklenmiştir. 30 saniyede 14000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Filtreden geçip tüpte kalan sıvı dökülmüştür. Örnekler 200 µl Wash Buffer 2 eklenmiştir. 2 dakika 14000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Tüpün alt kısmı atılırken filtre kısmı yeni bir 1.5 mL’lik ependorf tüpe aktarılmıştır. Üzerine 50 µl Elution Buffer eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. 2 dakika 14000 rpm de santrifüj edilmiştir. Filtre kısmı atılan ependorf tüpteki örnekler cDNA sentezi yapılana kadar -20 °C’de saklanmıştır.

RNA’ların cDNA’ya çevriminde ProtoScript cDNA sentez kiti kullanılmıştır. Tüm örnekler için negatif kontrol grupları da oluşturmak adına örnek sayısının 2 katı kadar PCR tüpleri kullanılmıştır. Negatif kontrol grubu olan tüplere reverse transkriptaz (RT) enzimi eklenmemiştir böylelikle o tüplerin cDNA’ya çevrimi gerçekleşmemiştir. Numune sayısı kadar her bir ependorf tüpe 2 µl RT primer, 2 µl random primer eklenmiştir. Üzerine 500 ng RNA ve total hacim 16 µl olacak şekilde su eklenmiştir. 70 °C’de 5 dakika inkübasyon yapılmıştır. cDNA çevrimi yapılacak ependorf tüplere, 10µl M-MuLV reaction mix (2x’lik) ve 2 µl M-MuLV enzim (10x’lik) eklenmiştir. RNA’dan cDNA ya dönüşüm olmayacak tüplere ise 12 µl su eklenmiştir. Tüm tüpler pipetaj yapılarak spinlenmiştir. Ardından 25°C’de 5 dk (primer annealing), 42°C’de 60 dk (reverse transcription), 80°C’de 5 dk (RT) program ayarlanması yapılarak inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra tüm tüplere nükleazsız su eklenerek sonraki işlemlerde kullanılmak üzere çoğaltılmış ve -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.3. Kantitatif eş zamanlı PZR (RT-qPZR) analizi

Gen ifadesi analizleri temel basamakları aşağıda verilmiş olup tüm analizler kit üreticisi firmanın (Bioline) önerdiği protokole uygun olarak sürdürülmüştür. Ependorf tüpün içinde qPZR master mix hazırlanmıştır. Tek kuyucuk için hazırlanan master mix ölçüleri; 0,5 µl reverse primer, 0,5 µl forward primer, 2 µl nükleazsız su, 5 µl hazır 2x’lik mix şeklindedir. qPZR tabakasına, hazırlanan master mixler 8 µl alınarak uygun şekilde her bir kuyucuğa eklenmiştir ve üzerlerine 2 µl cDNA’lar eklenmiştir. Her bir cDNA için 3 kuyucuk seçilmiştir ve 1 kuyucuk negatif kontrol iken diğer 2 kuyucuğa ise cDNA’lar eklenmiştir. Daha sonra 2000 rpm’de 2 dakika santrifüj yapılmıştır. Primer dizisi Çizelge 3.1’deki gibi tasarlanmıştır. qPZR cihazında ürünleri çoğaltmak için gerekli reaksiyon şartları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 qPZR amplifikasyonu için tasarlanan primerlerin bilgisi

Hedef gen	Primer Dizisi	Primer uzunluğu	Tm değeri	GC%
<i>mTOR</i>	Forward primer 5' CAGCGACCGCGAAAATTATGT 3'	21	52,4°C	48
	Reverse primer 5' TTCCCGTTACTTCCATCGCA 3'	20	51,78°C	50
<i>BECN1</i>	Forward primer 5' TCCGGTTAGGCAGATTACCA 3'	20	51,78°C	50
	Reverse primer 5' CTGGGAGCTAACCCAAGCAA 3'	20	53,83°C	55
<i>ATG5</i>	Forward primer 5' CATAATGGCGAATGACAGGGA 3'	21	52,4°C	48
	Reverse primer 5' TGCTTCCACTACTTCTTTGTTTTG 3'	24	52,3°C	38
<i>VG</i>	Forward primer 5' CGCTTTTACTGTTCGCGGGGA 3'	21	56,3°C	57
	Reverse primer 5' TCCTTTGATCGCAGTTGTTCGAA 3'	22	53,0°C	45
<i>BRP</i>	Forward primer 5' ACAACGAGAACGAGCATCTG 3'	20	51,78°C	50
	Reverse primer 5' CCCTTTGTTTTGGAGCATCTC 3'	21	54 °C	48
<i>ILP2</i>	Forward primer 5' CCTAGTGCCAGTAGCAGAAGT 3'	21	54,4°C	52
	Reverse primer 5' AATCATCCATCTCCATTTCTTGATT 3'	25	51,1°C	32
<i>SIRT1</i>	Forward primer 5' CTGGGGCAGGTGTAAGTG 3'	18	52,6°C	61
	Reverse primer 5' ACATAGCCTGTGGATCTGGC 3'	20	53,8°C	55
<i>SIRT6</i>	Forward primer 5' GGCATGCTTGGATTTCGAGG 3'	20	53,8°C	55
	Reverse primer 5' CTACGCTCTTAGTCGCGAAG 3'	20	53,8°C	55
<i>SIRT7</i>	Forward primer 5' AGTTTCTGTCAAGGAGGCGT 3'	20	51,8°C	50
	Reverse primer 5' GCAAGTGATGTTGCTCTGCT 3'	20	51,8°C	50

Çizelge 3.2. qPZR için uygulanan reaksiyon şartları

Aşama	Sıcaklık	Süre
Pre inkübasyon	95 °C	5 dakika
Amplifikasyon melting	95°C	10 dakika
Annealing reaksiyon	60°C	30 dakika
Uzama	72°C	45 dakika
Single	78°C	5 dakika
Melting curve	95°C	15 dakika

3.4 Kantitatif eş zamanlı PZR (RT -qPCR) analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Gen ifadelerinin analizi, üç bağımsız tekrarlı deneyin sonucunda elde edilen Cp değerlerinin ortalaması alınarak yapılmıştır. Bu çalışmada *RPS5* geni referans gen olarak kullanılmıştır. Öncelikle araştırılmak istenen ilgili genin Cp değeri, referans genin Cp değerinden çıkartılarak normalize edilmiş ve delta Cp (ΔCp) değeri hesaplanmıştır. Sonrasında deney grubunun ΔCp değerinden kontrol grubuna ait ΔCp çıkartılır ve $\Delta\Delta Cp$ değeri bulunmuştur. Gen ifadelerinin kat cinsinden artan ya da azalan değerleri (fold change) $2^{-\Delta\Delta Cp}$ olarak hesaplanmıştır (Livak & Schmittgen, 2001). Bu anlatım aşağıda formülize edilmiştir.

$$\Delta Cp = Cp (\text{araştırılan gen}) - Cp (\text{referans gen})$$

$$\Delta\Delta Cp = \Delta Cp (\text{hedef}) - \Delta Cp (\text{kontrol})$$

$$\text{Kat değişimi} = 2^{-\Delta\Delta Cp}$$

3.5 Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi

Örnek gruplar arasında ölçümle belirtilen parametrelerin istatistiksel karşılaştırılmasında ANOVA testi uygulanmıştır. Tek yönlü ANOVA testlerde $P < 0.05$ 'in altında olan karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Diğer yandan istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen parametrelerin birbirleri ile ilişkisini test etmek amacıyla Tukey-Kramer post hoc testi uygulanmıştır. Tukey-Kramer testi için grup sayısı ve serbestlik derecesi (df) ANOVA test sonucundaki tabloya bakılarak belirlenmiştir ve Tukey-Kramer Q kritik değer tablosundan, grup sayısı ve serbestlik derecesinin kesiştiği noktadaki değer Q değeri olarak alınmıştır. Diğer yandan tüm grubun varyans değerlerinin ortalaması alınmıştır. Bulunan değer grup sayısına (3'e) bölünmüştür. Çıkan sonuç karekök içine alınarak Q değer ile çarpılmıştır ve böylelikle Q kritik değer bulunmuştur. Seçilen iki grup arasında anlamlı farkın olup olmadığını görmek için ANOVA tablosunda bulunan ortalama değerlerinin farkı mutlak değer olarak alınmıştır ve bulunan Q kritik değer ile karşılaştırılmıştır.

Mutlak değer Q kritik değerden büyük olduğu durumlar istatistiki olarak anlamlılık göstermiştir (Kramer, 1956, Tukey, 1949). Bu anlatım aşağıda formülize edilmiştir.

Grupların varyans ortalaması/grup sayısı = x

Q değer * $\sqrt{x}$ = Q kritik değer

Grup1-Grup2 = $|a|$

$|a| > Q$ kritik değer

İstatistikte Pearson korelasyon katsayısı iki değişken arasındaki ilişkinin gücü ve birbirleriyle olan doğrusal ilişkilerinin ölçümü olarak tanımlanmaktadır. Çalışmada *Sirtuin* genleri ile nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımı düzenleyen genler arasındaki ilişkiler excel üzerinden Pearson korelasyon katsayısı ile hesaplanarak belirlenmiştir (Millar, 2001). Genler arasındaki ilişki anlamlılık sınırına eşit veya üzerinde ise anlamlı bir ilişki tespit edilmektedir. Anlamlılık sınırı grup sayısına göre değişmektedir. Anlamlılık sınırı aşağıdaki formül üzerinden hesaplanmıştır. Bu sınır değerinin pozitif olması, bir değişkendeki her pozitif artışa karşılık diğerinde sabit oranda

pozitif bir artış olduğu anlamına gelir. Bu sınır değerin negatif olması ise bir değışkendeki her pozitif artışa karşılık diğesinde sabit oranda negatif bir azalma olduğu anlamına gelmektedir. Bu anlamlı pozitif sınır değeri ile ve negatif sınır değeri arasında kalması her artışa karşılık olumlu ya da olumsuz bir artış olmadığı anlamına gelmektedir. Yani aralarında bir korelasyon bulunmadığını göstermektedir (Pearson, 1931, Obilor & Amadi, 2018).

$$|r| \geq 2/\sqrt{n}$$

r = hesapladığınız korelasyon değeri, n = grup sayısı

4. BULGULAR

4.1 Bal arılarında farklı besin diyetlerinin nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımı düzenleyen genler üzerindeki etkileri

Çalışmada farklı sirtuin aktivatör ve inhibitörleri içeren besin diyetleri ile beslenen ana ve işçi arı larvalarının ve ergin işçi arılarının nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımını kontrol eden genler ile *Sirtuin* genlerinin ifade düzeyleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Yapılan qRT-PCR analizlerinin sonuçlarına göre sirtuin aktivatörü olan kurkumin ile beslenmiş ana arı larvalarında kontrol grubuna göre yalnızca *mTOR* gen ifadesinde artış ve *SIRT1* gen ifadesinde ise azalma görülmüştür. Bununla birlikte diğer genlerin ifadelerinde istatistiki olarak önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Sirtuin inhibitörü olan sodyum bütirat (NaB) ile beslenen ana arı larvalarında ise yalnızca *mTOR* ve *SIRT1* gen ifadesinde azalma tespit edilmiş olmakla birlikte diğer gen ifadelerinde istatistiki olarak önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Diğer yandan hem kurkumin hem sodyum bütirat ile beslenmiş işçi arı larvalarında kontrol grubuna göre yalnızca *ATG5* gen ifadesinde artış görülmüştür. Benzer şekilde bu gen dışındaki gen ifadelerinde istatistiki olarak önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Ergin işçi arılarda ise kurkumin besin diyetinin, genlerin ifadelerinde istatistiki olarak önemli bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir. Diğer yandan sodyum bütirat ile beslenmiş ergin işçi arılarda *mTOR* ve *BRP* gen ifadesinde artış elde edilmiş olmakla birlikte diğer genlerin ifadelerinde istatistiki olarak önemli bir fark gözlemlenmemiştir.

Çizelge 4.1. Farklı besin diyeti ile beslenen ana ve işçi arı larvaları ile ergin işçi arıların gen ifade düzeyleri

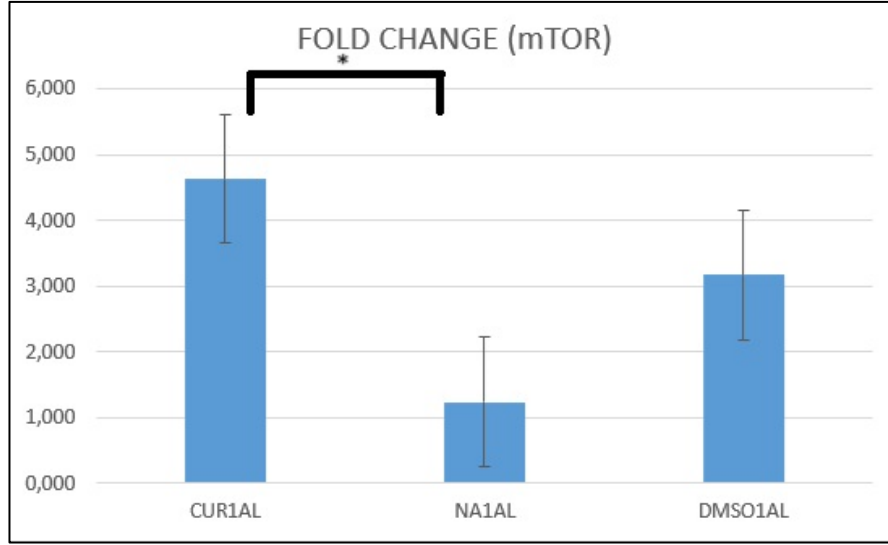
Gen	Ana Arı Larvada İfadesi		İşçi Arı Larvada ifadesi		Ergin İşçi Arıda ifadesi	
	Kurkumin	Sodyum Bütirat	Kurkumin	Sodyum Bütirat	Kurkumin	Sodyum Bütirat
<i>mTOR</i>	↑	↓	-	-	-	↑
<i>BECN1</i>	-	-	-	-	-	-
<i>ILP2</i>	-	-	-	-	-	-
<i>ATG5</i>	-	-	↑	↑	-	-
<i>BRP</i>	-	-	-	-	-	↑
<i>Vg</i>	x	x	x	x	-	-
<i>SIRT1</i>	↓	↓	-	-	-	-
<i>SIRT6</i>	-	-	-	-	-	-
<i>SIRT7</i>	-	-	-	-	-	-

- = DMSO kontrole göre anlamlı fark görülmeyenler, x = qPZR’de eşik değerini geçemeyenler, ↑ = ifade de artış gösterenler, ↓ = ifade de azalma gösterenler

4.1.1 Bal arısı doku örneklerin *mTOR* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, uzun süreli hafıza oluşumunda ve otofajide önemli rol oynadığı bilinen, *mTOR* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3’te verilmiştir.

Ana arı (kraliçe arı) larvalarının *mTOR* gen ifade düzeyi (kat değişim değeri) kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 4,632, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 1,233 ve kontrol grubunda (Dms01AL) ise 3,175 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Kontrol grubuna göre kurkumin ile beslenme *mTOR* gen ifadesini artırırken sodyum bütirat ile beslenmenin gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *mTOR* gen ifade düzeyleri
* $p < 0,05$

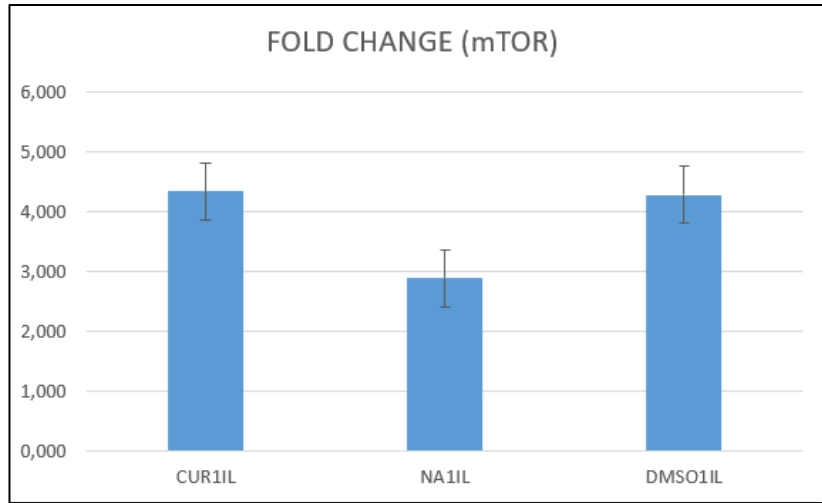
Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi (ANOVA testi) sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *mTOR* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistikî olarak ($p < 0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p = 0,03$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Ana arı larvarında *mTOR* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurAL	3	-6,635	-2,2116667	0,51063		
NaAL	3	-0,905	-0,3016667	0,0823		
DmsoAL	3	-5	-1,6666667	0,74972		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	5,80835	2	2,904175	6,48905	0,031600602	5,14325
Gruplar İçinde	2,6853	6	0,44755			
Toplam	8,49365	8				

Elde edilen varyans analiz sonuçları dikkate alınarak Tukey-Kramer post hoc testi uygulanmıştır. Ana arı larvaları için Q kritik değer 1,676 bulunmuştur. CurAL ve DmsoAL arasındaki mutlak fark 0,545, NaAL ve DmsoAL arasındaki mutlak fark 1,365 bulunmuştur ve Q kritik değerden küçük olduğu için kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir. CurAL ve NaAL grupları arasındaki mutlak fark 1,91 bulunmuştur ve Q kritik değerden büyük olduğu için istatistiki olarak anlamlı bir fark yarattığı gözlemlenmiştir. Fakat besin diyetlerinin kendi aralarında oluşturduğu bu fark, kontrol grubuna göre oluşan bir fark olmadığından anlamlılık ifade etmemektedir.

İşçi arı larvalarının *mTOR* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 4,337, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 2,885 ve kontrol grubunda (Dmso1IL) ise 4,282 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Kurkumin ile beslenme *mTOR* gen ifade düzeyini artırırken sodyum bütirat ile beslenmenin gen ifadesini azalttığı gözlemlenmiştir.



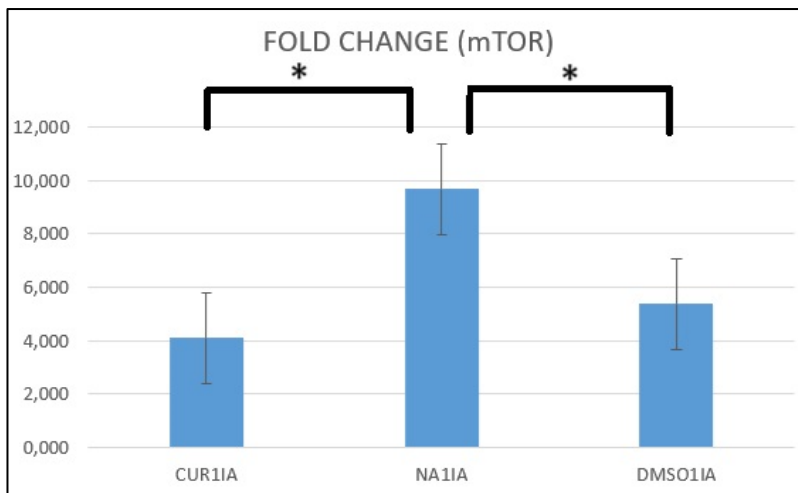
Şekil 4.2. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *mTOR* geni ifade düzeyleri

İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında *mTOR* gen ifade düzeylerindeki artış/azalışın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,8$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 İşçi larvarında *mTOR* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIL	3	-6,35	-2,116666667	0,31086		
NaIL	3	-4,585	-1,528333333	6,86356		
DmsolL	3	-6,295	-2,098333333	0,06236		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasınd	0,671372222	2	0,335686111	0,13916	0,87282	5,14325
Gruplar İçinde	14,47355	6	2,412258333			
Toplam	15,14492222	8				

İşçi arılarda *mTOR* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 4,098, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 9,680 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 5,370 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Kurkumin ile beslenme *mTOR* gen ifadesini azaltmıştır. Diğer yandan sodyum bütirat ile beslenmenin gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *mTOR* gen ifade düzeyleri
* $p < 0,05$

İşçi arılarda varyans analizi sonuçlarına göre sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *mTOR* gen ifade düzeylerindeki oluşturduğu farkın istatistiki olarak ($p<0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p=0,008$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. İşçi arılarda *mTOR* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIA	3	-6,105	-2,035	0,03258		
NaIA	3	-12,66	-4,22	0,41927		
DmsolA	3	-7,275	-2,425	0,61128		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	8,14835	2	4,074175	11,4968	0,00886	5,14325
Gruplar İçinde	2,12625	6	0,354375			
Toplam	10,2746	8				

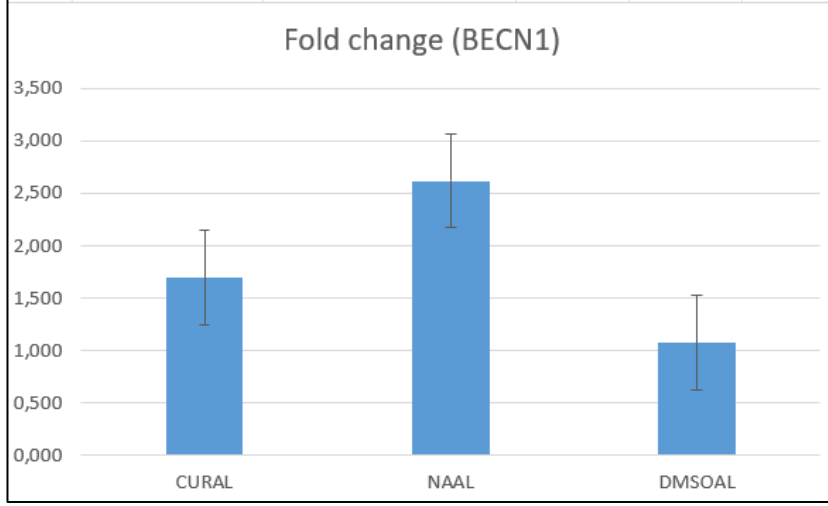
Uygulanan Tukey-Kramer post hoc testinde, işçi arılar için Q kritik değer 1,191 bulunmuştur. CurIA ve NaIA grupları arasındaki mutlak fark 2,19 bulunarak anlamlı bir fark oluşturmuştur. Fakat besin diyetlerinin kendi aralarında oluşturduğu bu fark, kontrol grubuna göre oluşan bir fark olmadığından anlamlılık ifade etmemektedir. Diğer yandan NaIA ve DmsolA grupları arasındaki mutlak fark 1,8 bulunarak uygulanan sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark yarattığı gözlemlenmiştir. Diğer yandan CurIA ve DmsolA grupları arasındaki mutlak fark 0,39 bulunmuştur ve kurkumin besin diyetinin anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir.

4.1.2. Bal arısı doku örneklerin *BECN1* gen ifade düzeyleri

Kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, otofajide önemli rol oynayan *BECN1* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.4, Şekil 4.5 Şekil 4.6’da verilmiştir.

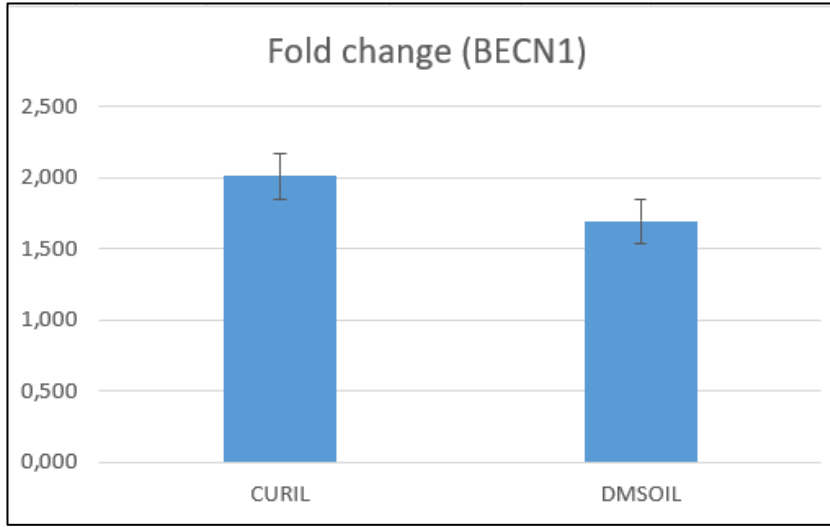
Bu grup için örneklerin çoğu qPZR da çoğalmamıştır. Veri sayısı az olduğundan ANOVA testi yapılamamış ve anlamlılık değerlendirilememiştir.

Ana arı larvalarının *BECN1* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 1,693, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 2,621 ve kontrol grubunda (DmsolAL) ise 1,072 olarak tespit edilerek kurkumin ve sodyum bütirat ile beslenmenin *BECN1* gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).



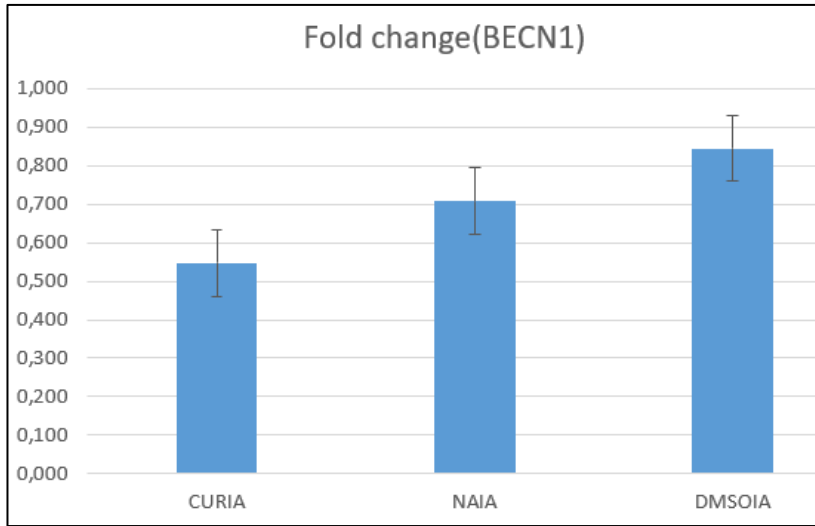
Şekil 4.4. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *BECN1* gen ifade düzeyleri

BECN1 gen ifade düzeyi işçi arı larva kontrol grubunda (DmsolIL) 1,693, kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 2,014 olarak tespit edilerek kurkumin ile beslenmenin gen ifadesinde artış sağladığı gözlemlenmiştir. Sodyum bütirat beslenme diyeti uygulanan grup (Na1IL) qPZR da çoğalmamıştır bu yüzden kat değişimi hesaplanamamıştır. (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *BECN1* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda ise *BECN1* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,547, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 0,708 ve kontrol grubunda (Dms01IA) ise 0,844 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Gen ifade düzeyleri karşılaştırıldığında kurkumin ve sodyum bütirat ile beslenmenin *BECN1* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.

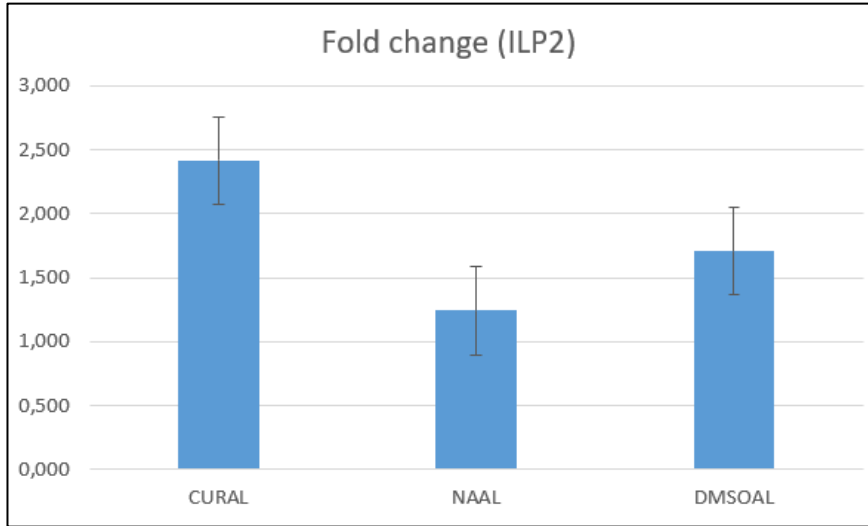


Şekil 4.6. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *BECN1* gen ifade düzeyleri

4.1.3. Bal arısı doku örneklerin *ILP2* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, uzun ömürlülükte ve bal arısı gelişiminde rol oynayan *ILP2* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9’da verilmiştir.

Ana arı larvalarının *ILP2* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 2,417, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 1,241 ve kontrol grubunda (Dmsol1AL) ise 1,707 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Kurkumin ile beslenme *ILP2* gen ifade düzeyini artırırken sodyum bütirat ile beslenmenin ifadeyi azalttığı gözlemlenmiştir.



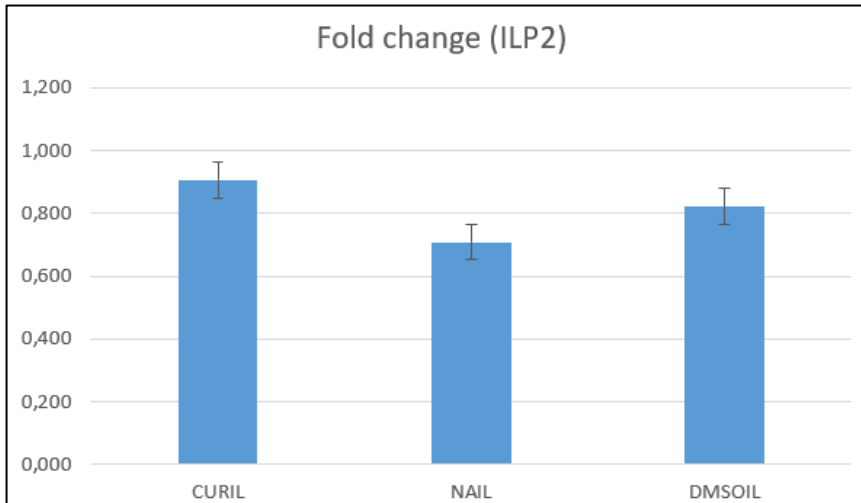
Şekil 4.7. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *ILP2* gen ifade düzeyleri

Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ILP2* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,4$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Ana arı larvarında *ILP2* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurAL	3	-3,82	-1,27333	0,271108		
NaAL	3	-0,935	-0,31167	0,397108		
DmsoAL	3	-2,315	-0,77167	1,442258		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	1,388072	2	0,694036	0,986559	0,426157	5,143253
Gruplar İçinde	4,22095	6	0,703492			
Toplam	5,609022	8				

İşçi arı larvalarının *ILP2* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 0,906, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 0,709 ve kontrol grubunda (Dmso1IL) ise 0,821 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Benzer şekilde kurkumin ile beslenme *ILP2* gen ifade düzeyini artırırken sodyum bütirat ile beslenmenin ifadeyi azalttığı gözlemlenmiştir.



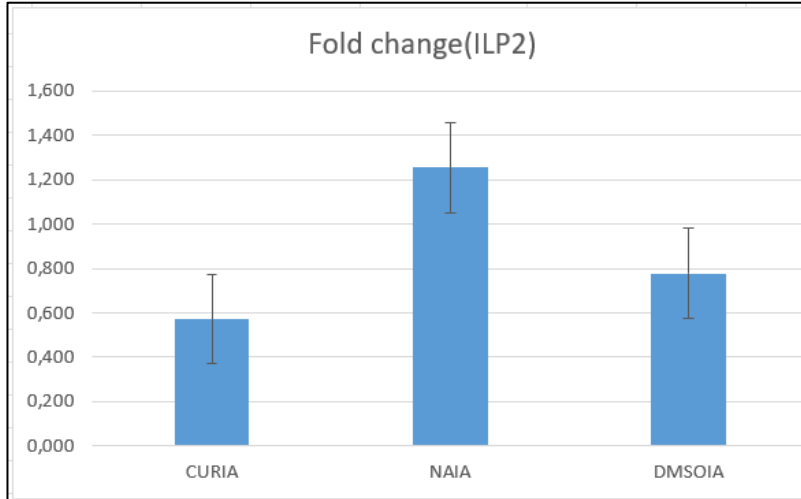
Şekil 4.8. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *ILP2* gen ifade düzeyleri

İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ILP2* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,35$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. İşçi arı larvarında *ILP2* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIL	3	0,425	0,141667	0,581658		
NaIL	3	1,49	0,496667	0,057633		
DmsolL	3	0,855	0,285	0,166933		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,191372	2	0,095686	0,356052	0,714295	5,143253
Gruplar İçinde	1,61245	6	0,268742			
Toplam	1,803822	8				

İşçi arılarda *ILP2* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,572, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 1,254 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 0,777 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9). Ana arı ve işçi arı larvalarının aksine işçi arılarda kurkumin besin diyetinin *ILP2* gen ifade düzeyini azalttığı sodyum bütirat besin diyetinin gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *ILP2* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda yapılan varyans analizi (ANOVA testi) sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ILP2* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,2$) (Çizelge 4.7).

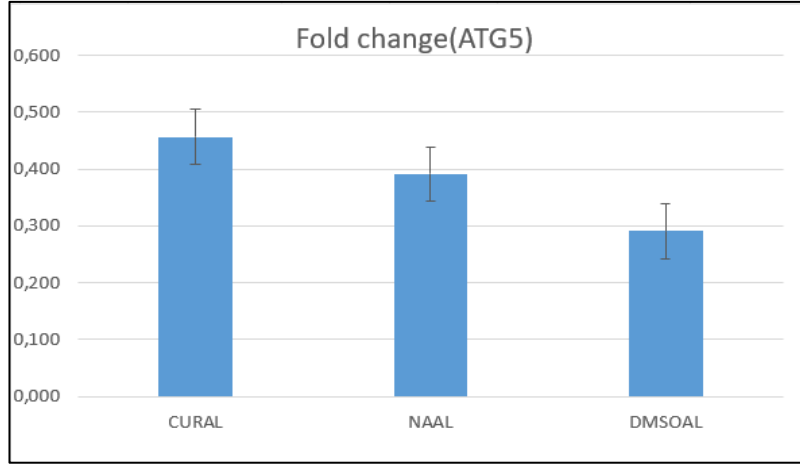
Çizelge 4.7. İşçi arılarda *ILP2* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
Cur1A	3	2,42	0,806667	0,024033		
Na1A	3	-0,98	-0,32667	0,807558		
DmsolA	3	1,09	0,363333	0,568808		
ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	1,957089	2	0,978544	2,096282	0,203987	5,143253
Gruplar İçinde	2,8008	6	0,4668			
Toplam	4,757889	8				

4.1.4. Bal arısı doku örneklerin *ATG5* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, nöronal otofajide, sinaptik plastisitenin sağlanmasında, anti-inflamatuar süreçlerde oligodendrosit gelişimi ve miyelinasyon sürecinde rol oynayan *ATG5* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12’de verilmiştir.

Ana arı larvalarının *ATG5* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 0,456, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 0,391 ve kontrol grubunda (DmsolAL) ise 0,291 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Uygulanan kurkumin ve sodyum bütirat besin diyeti *ATG5* gen ifade düzeyini artırmıştır.



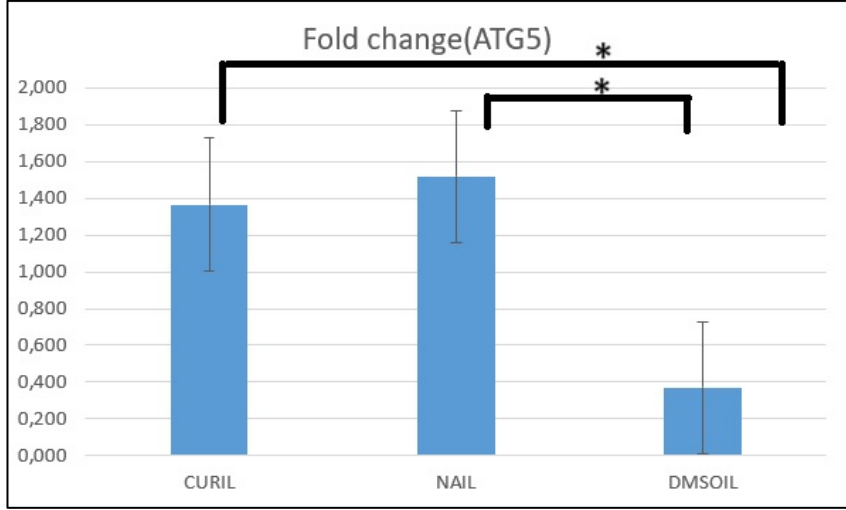
Şekil 4.10. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *ATG5* gen ifade düzeyleri

Ana arı larvalarında varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ATG5* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,58$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Ana arı larvarında *ATG5* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurAL	3	3,395	1,131667	0,162758		
NaAL	3	4,06	1,353333	0,464358		
DmsoAL	3	5,345	1,781667	1,032908		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,655106	2	0,327553	0,591954	0,582601	5,143253
Gruplar İçinde	3,32005	6	0,553342			
Toplam	3,975156	8				

İşçi arı larvalarının *ATG5* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 1,366, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 1,517 ve kontrol grubunda (Dmsol1IL) ise 0,370 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Ana arı larvalarına benzer şekilde uygulanan kurkumin ve sodyum bütirat besin diyeti *ATG5* gen ifade düzeyini artırmıştır.



Şekil 4.11. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *ATG5* gen ifade düzeyleri
* $p < 0,05$

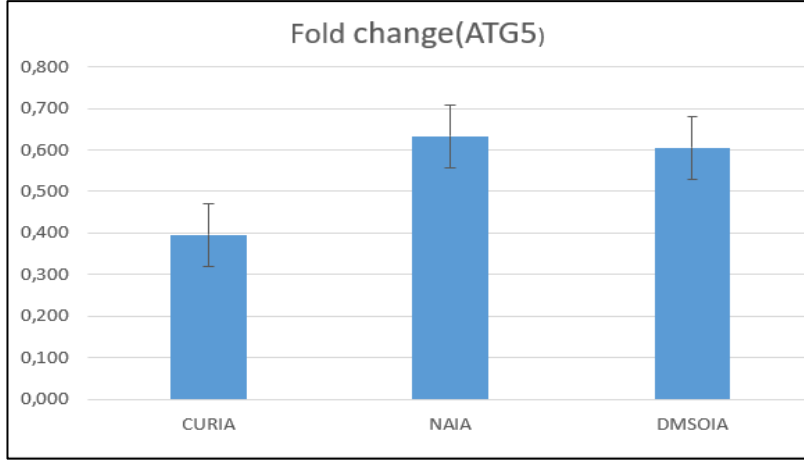
İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ATG5* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak ($p < 0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p = 0,016$) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. İşçi arı larvarında *ATG5* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIL	3	-1,35	-0,45	0,638275		
NaIL	3	-1,805	-0,601666667	0,110608		
DmsolIL	3	4,3	1,433333333	0,584608		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	7,711172	2	3,855586111	8,674039	0,016971	5,143253
Gruplar İçinde	2,666983	6	0,444497222			
Toplam	10,37816	8				

Varyans analiz sonuçlarına göre Tukey-Kramer post hoc testi yapılmıştır. İşçi arı larvaları için Q kritik değer 1,671 bulunmuştur. CurIL ve NaIL grupları arasındaki mutlak fark 0,15 bulunmuştur ve anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir. CurIL ve Dmsol grupları arasındaki mutlak fark 1,88 NaIL ve Dmsol grupları arasındaki mutlak fark 2,04, bulunarak kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir.

İşçi arılarda *ATG5* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,395, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 0,634 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 0,606 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Kurkumin besin diyeti *ATG5* gen ifade düzeyini azaltmıştır. Sodyum bütirat besin diyetinin ise gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.12. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *ATG5* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *ATG5* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,6$) (Çizelge 4.10).

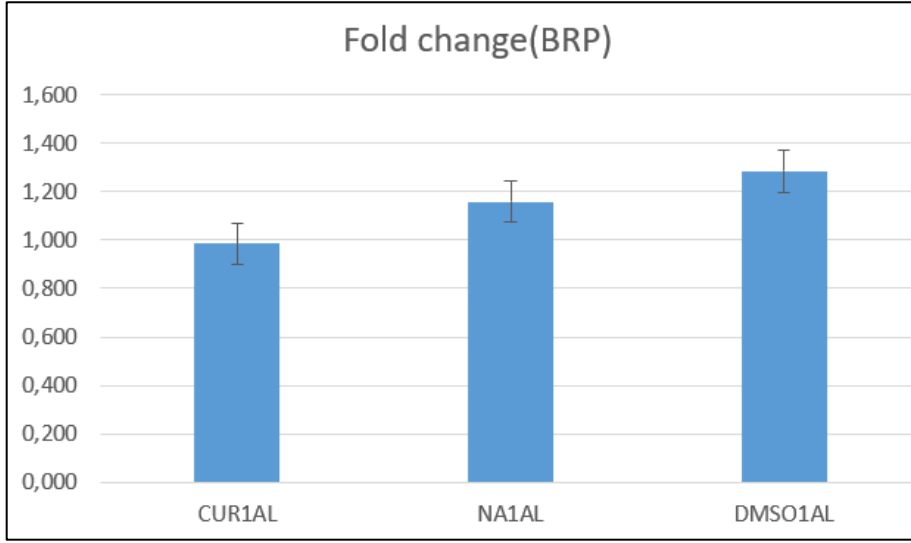
Çizelge 4.10. İşçi arılarda *ATG5* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
Cur1A	3	4,015	1,338333	0,124658		
Na1A	3	1,975	0,658333	1,268358		
	3	2,17	0,723333	1,317008		
ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,84485	2	0,422425	0,467625	0,647541	5,143253
Gruplar İçinde	5,42005	6	0,903342			
Toplam	6,2649	8				

4.1.5. Bal arısı doku örneklerin *BRP* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir hücre arasından iletişimi sağlamada görev alan nörotransmitter salınımı düzenleyen *BRP* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15'te verilmiştir.

Ana arı larvalarının *BRP* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 0,985, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 1,159 ve kontrol grubunda (DmsolAL) ise 1,283 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.13). Kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin ana arı larvalarında *BRP* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.



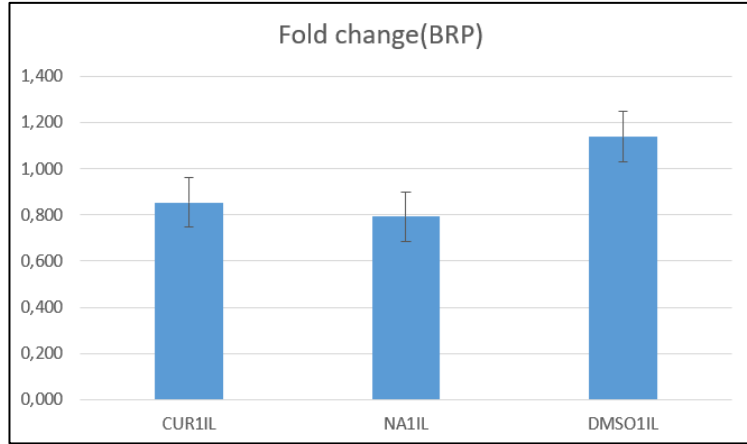
Şekil 4.13. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *BRP* gen ifade düzeyleri

Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *BRP* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,5$) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Ana arı larvarında *BRP* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
CurAL	2	0,043333	0,021667	0,05445		
NaAL	3	-0,64	-0,21333	0,207475		
DmsoAL	3	-1,08	-0,36	0,067058		
ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,174871	2	0,087435	0,724383	0,529339	5,786135
Gruplar İçinde	0,603517	5	0,120703			
Toplam	0,778388	7				

İşçi larvalarının *BRP* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 0,853, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 0,792 ve kontrol grubunda (Dmsol1IL) ise 1,139 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.14). Ana arı larvalarına benzer şekilde işçi arı larvaları için uygulanan her iki besin diyeti de *BRP* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.



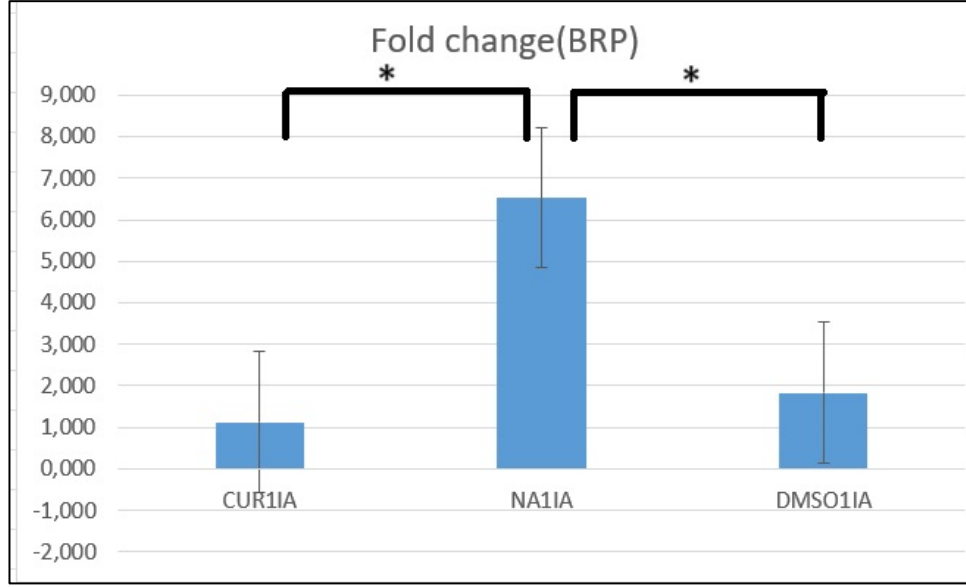
Şekil 4.14. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *BRP* gen ifade düzeyleri

İşçi larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *BRP* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,5$) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. İşçi arı larvarında *BRP* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIL	3	0,69	0,23	0,335775		
NaIL	3	1,01	0,336666667	0,402008		
DmsolL	3	-0,565	-0,188333333	0,253008		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,462006	2	0,231002778	0,699449	0,533277	5,143253
Gruplar İçinde	1,981583	6	0,330263889			
Toplam	2,443589	8				

İşçi arıların *BRP* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 1,130, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 6,528 ve kontrol grubunda (Dms01IA) ise 1,828 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Kurkumin besin diyeti *BRP* gen ifadesini azaltırken sodyum bütirat besin diyeti ise ifadeyi artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.15. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *BRP* gen ifade düzeyleri
* $p < 0,05$

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *BRP* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak ($p < 0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p = 0,01$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. İşçi arılarda *BRP* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

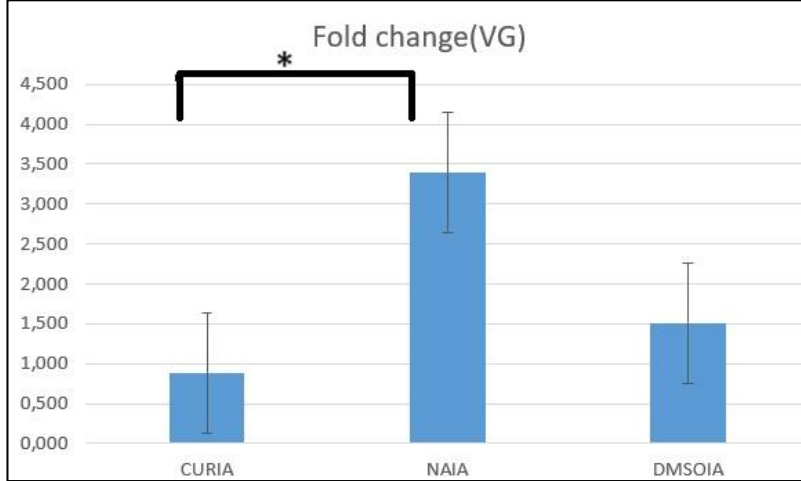
Anova: Tek Etken						
ÖZET						
<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
CurIA	3	-0,53	-0,17667	0,173425		
NaIA	3	-8,12	-2,70667	1,2241		
DmsolA	3	-2,61	-0,87	0,201608		
ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	10,25496	2	5,127478	9,619231	0,013436	5,143253
Gruplar İçinde	3,198267	6	0,533044			
Toplam	13,45322	8				

Tukey-Kramer post hoc test sonuçlarına göre işçi arı larvaları için Q kritik değer 1,829 bulunmuştur. CurIA ve NaIA grupları arasındaki mutlak fark 2,53 bulunmuştur fakat besin diyetlerinin kendi aralarında oluşturduğu bu fark, kontrol grubuna göre oluşan bir fark olmadığından anlamlılık ifade etmemektedir. Diğer yandan NaIA ve DmsolA grupları arasındaki mutlak fark 1,84 bulunarak uygulanan sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark yarattığı gözlemlenmiştir. CurIA ve DmsolA grupları arasındaki mutlak fark 0,69 bulunarak kurkumin besin diyetinin anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir.

4.1.6. Bal arısı doku örneklerin *Vg* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, immun sistemde önemli rol oynayan aynı zamanda büyüme mekanizmasında da yer alan *Vg* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.16'da verilmiştir. *Vg* geni için birçok örnek qPZR'da çoğalmamıştır sadece işçi arılarda çoğaltım olduğu görülmüştür.

İşçi arıların *Vg* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,883, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 3,395 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 1,514 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Kurkumin ile beslenmenin *Vg* gen ifade düzeyini azalttığı sodyum bütirat ile beslenmenin *Vg* gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.16. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *Vg* gen ifade düzeyleri
* $p < 0,05$

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *Vg* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak ($p < 0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p = 0,05$) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. İşçi arılarda *Vg* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIA	3	0,54	0,18	0,0724		
NaIA	3	-5,29	-1,76333	1,209758		
DmsolIA	3	-1,795	-0,59833	0,489558		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	5,739572	2	2,869786	4,859331	0,055617	5,143253
Gruplar İçinde	3,543433	6	0,590572			
Toplam	9,283006	8				

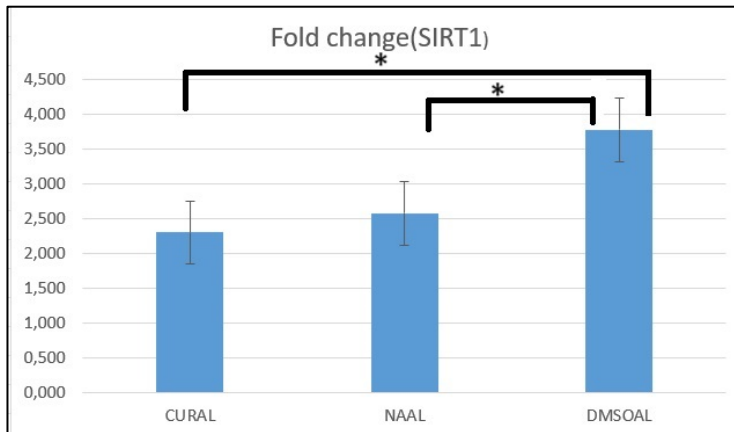
Tukey-Kramer post hoc testi sonuçlarına göre işçi arı larvaları için Q kritik değer 1,926 bulunmuştur. NaIA ve DmsOIA grupları arasındaki mutlak fark 1,17 ve CurIA ve DmsOIA grupları arasındaki mutlak fark 0,78 bulunarak kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir. Diğer yandan CurIA ve NaIA grupları arasındaki mutlak fark 1,94 bulunmuştur ve anlamlı bir fark yaratmıştır. Fakat besin diyetlerinin kendi aralarında oluşturduğu bu fark, kontrol grubuna göre oluşan bir fark olmadığından anlamlılık ifade etmemektedir.

4.2. Bal arılarında farklı besin diyetlerinin sirtuin genleri üzerindeki etkileri

4.2.1. Bal arısı doku örneklerinin *SIRT1* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, otofaji aktivasyonu sağlayan, DNA onarım proteinlerini etkileyen, post transkripsiyonel aktivasyonu modüle eden *SIRT1* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19’da verilmiştir.

Ana arı larvalarının *SIRT1* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 2,296, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 2,571 ve kontrol grubunda (DmsO1AL) ise 3,773 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.17). Kurkumin ve sodyum bütirat ile beslenmenin *SIRT1* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.17. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *SIRT1* gen ifade düzeyleri

*p<0,05

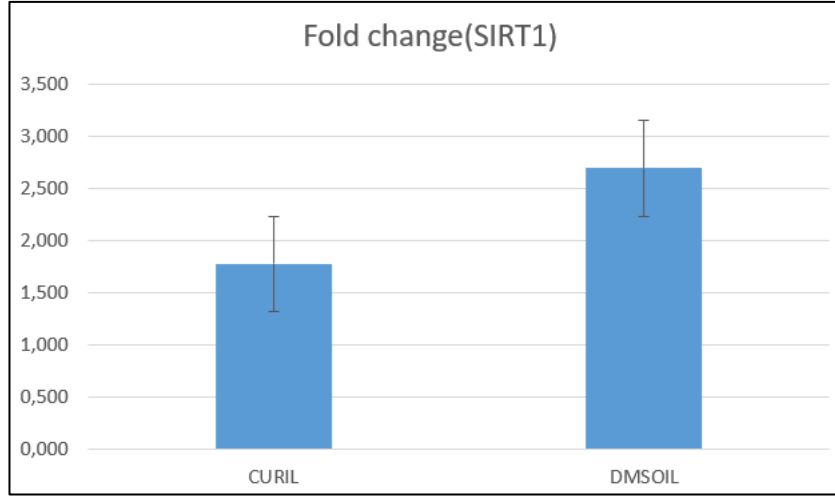
Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT1* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak ($p<0,05$) önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p=0,006$) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Ana arı larvalarında *SIRT1* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
<i>Gruplar</i>	<i>Say</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama</i>	<i>Varyans</i>		
CurAL	3	-3,5975	-1,19917	0,008308		
NaAL	2	-2,725	-1,3625	0,045		
DmsoAL	3	-5,7475	-1,91583	0,033608		
ANOVA						
<i>Varyans Kaynağı</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-değeri</i>	<i>F ölçütü</i>
Gruplar Arasında	0,827454	2	0,413727	16,05668	0,006662	5,786135
Gruplar İçinde	0,128833	5	0,025767			
Toplam	0,956288	7				

Uygulanan Tukey-Kramer post hoc testinde ana arı larvaları için Q kritik değer 0,452 bulunmuştur. CurAL ve NaAL grupları arasındaki mutlak fark 0,16 bulunmuştur ve anlamlı bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir. NaAL ve DmsoAL grupları arasındaki mutlak fark 0,55 ve CurAL ve DmsoAL grupları arasındaki mutlak fark 0,72 bulunarak uygulanan kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin anlamlı bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir.

İşçi arı larvalarında sodyum bütirat ile besin diyeti uygulanan grup qPZR'da çoğalmamıştır. Kurkumin besin diyeti uygulanan grupta (Cur1IL) *SIRT1* gen ifade düzeyi 1,776, kontrol grubunda (Dmso1IL) ise 2,691 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.18). Kurkumin ile beslenmenin *SIRT1* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir



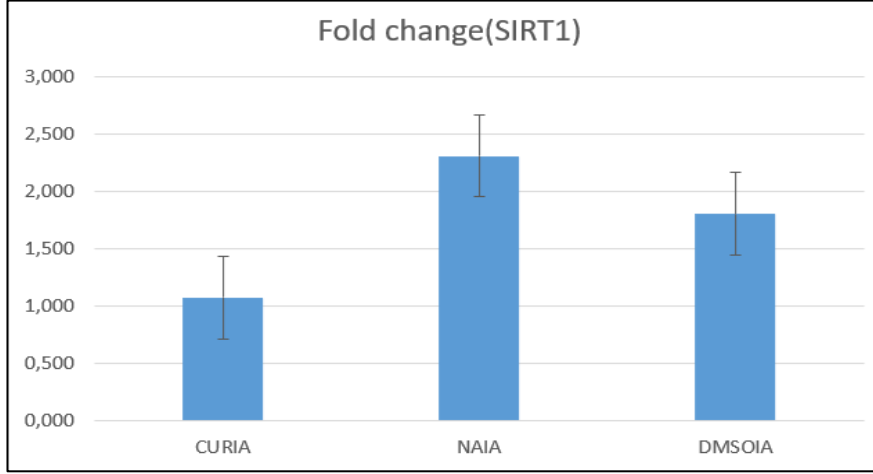
Şekil 4.18. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *SIRT1* gen ifade düzeyleri

İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT1* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,3$) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. İşçi arı larvalarında *SIRT1* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurlL	2	-1,65667	-0,82833	0,00125		
DmsolL	3	-4,285	-1,42833	0,487425		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,432	1	0,432	1,327733	0,332698	10,12796
Gruplar İçinde	0,9761	3	0,325367			
Toplam	1,4081	4				

İşçi arıların *SIRT1* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 1,077, sodyum bütirat grubunda 2,311 ve kontrol grubunda (Dmsol1A) ise 1,807 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.19). *SIRT1* ifadesini kurkumin besin diyeti azaltırken sodyum bütirat besin diyetinin ise artırdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.19. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *SIRT1* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT1* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,2$) (Çizelge 4.17).

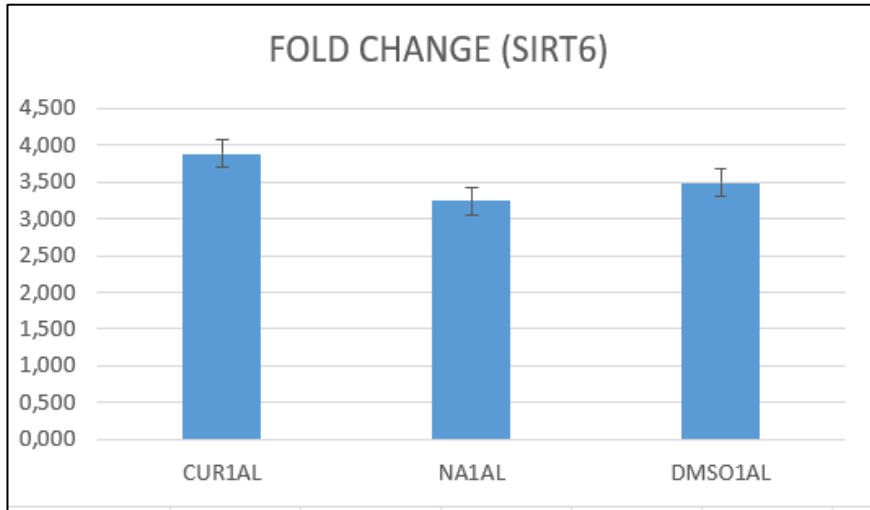
Çizelge 4.17. İşçi arılarda *SIRT1* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIA	3	-0,32	-0,10667	0,169275		
NaIA	3	-3,625	-1,20833	0,656233		
DmsolA	3	-2,56	-0,85333	0,788258		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F Ölçütü
Gruplar Arasında	1,897206	2	0,948603	1,763457	0,249803	5,143253
Gruplar İçinde	3,227533	6	0,537922			
Toplam	5,124739	8				

4.2.2. Bal arısı doku örneklerin *SIRT6* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, DNA tamiri yapan ve genomik stabiliteyi koruyan *SIRT6* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.23'te verilmiştir.

Ana arı larvalarının *SIRT6* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 3,886, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 3,245 ve kontrol grubunda (Dmsol1AL) ise 3,486 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Kurkumin besin diyeti *SIRT6* gen ifade düzeyinde artış sağlarken sodyum bütirat besin diyetinin gen ifadesinde azalmaya sebep olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.20. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *SIRT6* gen ifade düzeyleri

Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT6* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,8$) (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Ana arı larvalarında *SIRT6* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken

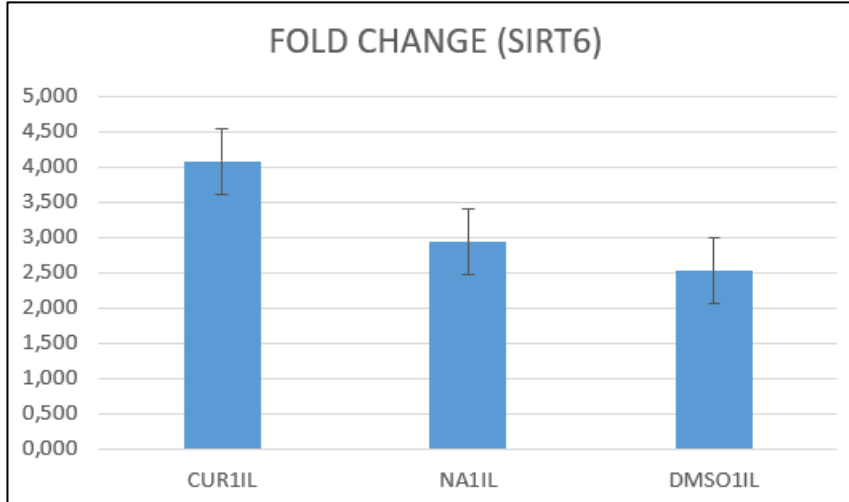
ÖZET

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
CurAL	3	-5,875	-1,95833	0,09923
NaAL	3	-5,095	-1,69833	0,42766
DmsoAL	3	-5,405	-1,80167	0,60503

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,10282	2	0,05141	0,13626	0,87524	5,14325
Gruplar İçinde	2,26385	6	0,37731			
Toplam	2,36667	8				

İşçi arı larvalarının *SIRT6* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 4,079, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 2,935 ve kontrol grubunda (Dmso1IL) ise 2,526 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.21). İşçi arı larvalarında kurkumin ve sodyum bütirat ile beslenmenin *SIRT6* gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



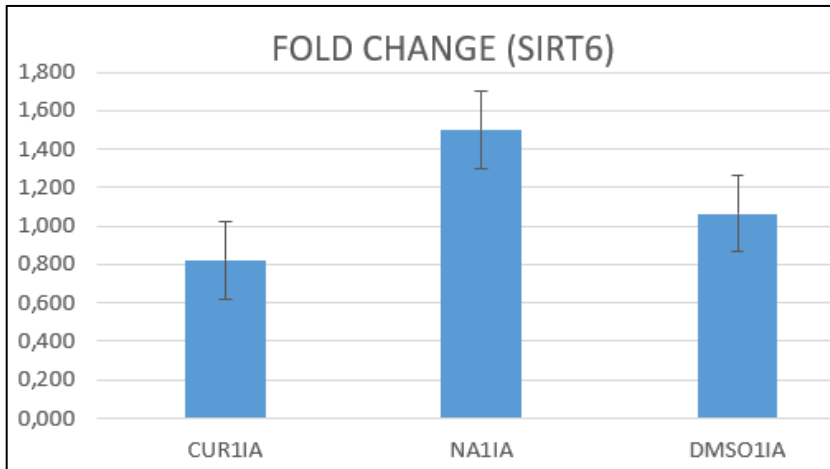
Şekil 4.21. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *SIRT6* gen ifade düzeyleri

İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT6* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,3$) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. İşçi arı larvalarında *SIRT6* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
Cur1L	3	-6,085	-2,02833	0,26261		
Na1L	3	-4,66	-1,55333	0,31611		
DmsolL	3	-4,01	-1,33667	0,28416		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,75097	2	0,37549	1,30547	0,3383	5,14325
Gruplar İçinde	1,72575	6	0,28762			
Toplam	2,47672	8				

İşçi arıların *SIRT6* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,822, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 1,5 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 1,063 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.22). *SIRT6* gen ifadesi kurkumin besin diyeti ile azalırken, sodyum bütirat besin diyetiyle artış sağlamıştır.



Şekil 4.22. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *SIRT6* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT6* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p<0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p=0,46$) (Çizelge 4.20).

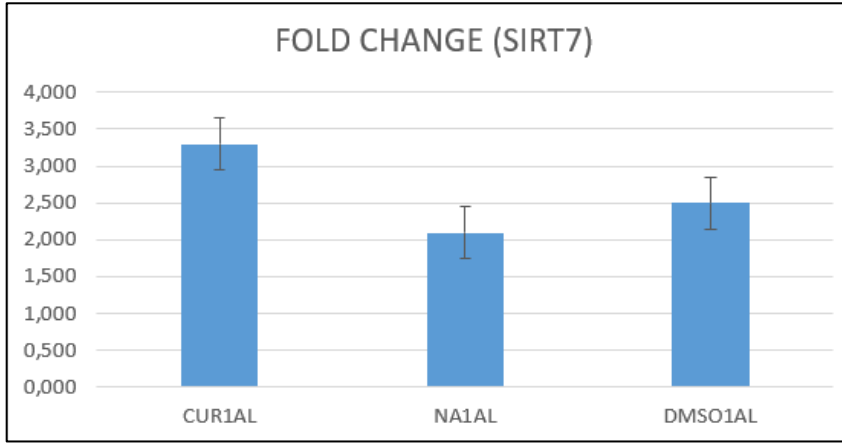
Çizelge 4.20. İşçi arılarda *SIRT6* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
Cur1A	3	0,85	0,28333	0,10616		
Na1A	3	-1,755	-0,585	1,18548		
DmsolA	3	-0,265	-0,08833	0,68681		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	1,13882	2	0,56941	0,86342	0,46822	5,14325
Gruplar İçinde	3,95688	6	0,65948			
Toplam	5,0957	8				

4.2.3. Bal arısı doku örneklerin *SIRT7* gen ifade düzeyleri

Araştırmada, kurkumin ya da sodyum bütirat içeren besin diyeti ile beslenen bal arısı dokularından elde edilen, transkripsiyonel düzenlemede rol oynayan *SIRT7* gen ifadesi düzeylerine ait farklılıklar Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25'te verilmiştir.

Ana arı larvalarının *SIRT7* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1AL) 3,298, sodyum bütirat grubunda (Na1AL) 2,095 ve kontrol grubunda (DmsolAL) ise 2,494 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.23). Uygulanan kurkumin besin diyeti *SIRT7* gen ifadesini artırırken sodyum bütirat besin diyetinin ise ifadeyi azalttığı gözlemlenmiştir.



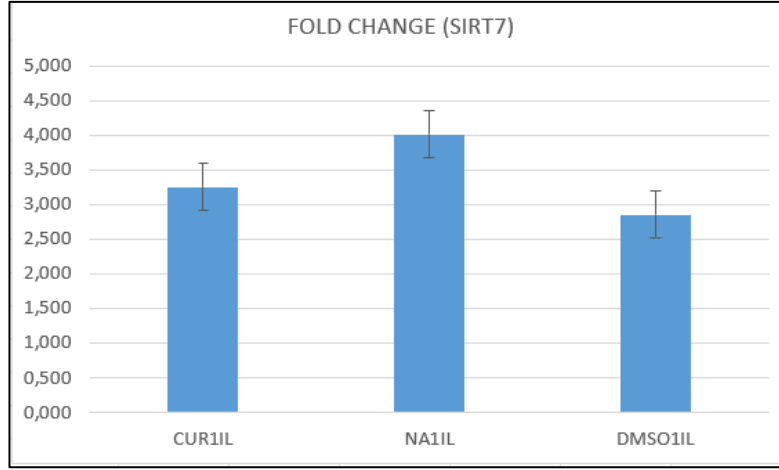
Şekil 4.23. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş ana arı larvalarında *SIRT7* gen ifade düzeyleri

Ana arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT7* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,17$) (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Ana arı larvalarında *SIRT7* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurAL	3	-5,165	-1,72167	0,15266		
NaAL	3	-3,2	-1,06667	0,07431		
DmsoAL	3	-3,955	-1,31833	0,18656		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,65504	2	0,32752	2,37606	0,17377	5,14325
Gruplar İçinde	0,82705	6	0,13784			
Toplam	1,48209	8				

İşçi arı larvalarının *SIRT7* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IL) 3,253, sodyum bütirat grubunda (Na1IL) 4,009 ve kontrol grubunda (Dmso1IL) ise 2,851 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.24). İşçi arı larvalarında kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetlerinin *SIRT7* gen ifade düzeyini artırdığı gözlemlenmiştir.



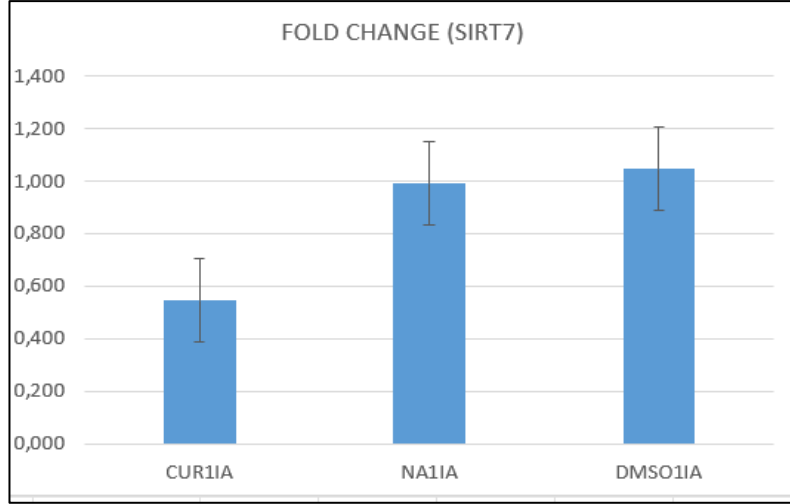
Şekil 4.24. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arı larvalarında *SIRT7* gen ifade düzeyleri

İşçi arı larvalarında yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT7* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,49$) (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. İşçi arı larvalarında *SIRT7* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIL	3	-5,105	-1,70167	0,53406		
NaIL	3	-6,01	-2,00333	0,04931		
DmsolL	3	-4,535	-1,51167	0,10396		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	0,36884	2	0,18442	0,80494	0,49014	5,14325
Gruplar İçinde	1,37465	6	0,22911			
Toplam	1,74349	8				

İşçi arıların *SIRT7* gen ifade düzeyi kurkumin ile beslenen grupta (Cur1IA) 0,546, sodyum bütirat grubunda (Na1IA) 0,991 ve kontrol grubunda (Dmsol1IA) ise 1,046 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.25). İşçi arı larvalarının aksine işçi arılarda kurkumin ve sodyum bütirat besin diyetinin *SIRT7* gen ifade düzeyini azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.25. Farklı besin diyetleri ile beslenmiş işçi arılarda *SIRT7* gen ifade düzeyleri

İşçi arılarda yapılan varyans analizi sonuçları dikkate alındığında sodyum bütirat ve kurkumin besin diyetinin kontrol grubuna göre *SIRT7* gen ifade düzeylerindeki farkın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark yaratmadığı gözlemlenmiştir ($p = 0,4$) (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. İşçi arılarda *SIRT7* gen ifadesine ilişkin tek yönlü varyans analiz sonuçları

Anova: Tek Etken						
ÖZET						
Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans		
CurIA	3	2,62	0,87333	0,22443		
NaIA	3	0,04	0,01333	1,15531		
DmsolIA	3	-0,195	-0,065	0,92957		
ANOVA						
Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	1,62621	2	0,8131	1,05629	0,40455	5,14325
Gruplar İçinde	4,61863	6	0,76977			
Toplam	6,24484	8				

4.3. Sirtuin genleri ile nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımı düzenleyen genler arasındaki ilişkiler

İstatistikte Pearson korelasyon katsayısı iki değişken arasındaki ilişkinin gücünün ve birbirleriyle olan ilişkilerinin ölçümü olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle çalışmada *Sirtuin* genleri ile diğer genler arasındaki ilişkiler Pearson doğrusal korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir.

Korelasyon katsayısının anlamlı olması, örneklem büyüklüğünden etkilenmektedir. Küçük hacimli örneklerde, elde edilen korelasyon katsayısı büyük bile olsa istatistiksel olarak önemli bir değer olmayabilir. Çalışmada besin diyeti uygulanan her arı grubunda 3 adet örnek bulunmasından ve bazı örneklerin qPZR’de eşik değerini geçememesinden dolayı, kurkumin besin diyeti ve sodyum bütirat besin diyeti uygulanan örnekler birleştirilerek, kraliçe ve işçi arı larvaları tek grup olarak değerlendirilirken, işçi arılar da ayrı bir grup olarak değerlendirilmiştir. Grup sayısına göre anlamlılık sınırı değişmektedir. Anlamlılık sınırını belirlemek için $|r| \geq 2/\sqrt{n}$ formülü kullanılmıştır (r=hesaplanan korelasyon değeri, n = grup sayısı).

4.3.1. *SIRT1* geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri

Çalışmada ana ve işçi arı larvalarını içeren larva grubunda *SIRT1* ve *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı sırasıyla 0,555, 0,894, 0,555, 0,555, 0,577 ve korelasyon katsayısı ise -0,178, 0,8, 0,03, -0,67, 0,5 olarak bulunmuştur. Bu larva grubunda *SIRT1* ile *ATG5* gen arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon gözlemlenirken, diğer genlerde korelasyon tespit edilememiştir. Ergin işçi arı grubunda ise *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP*, *Vg* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı *BECN1* geninde 0,707 iken diğer genler de 0,667 olarak hesaplanmıştır. *SIRT1* ve genler arasındaki korelasyon katsayısı sırasıyla 0,8, 0,04, 0,887, 0,77, 0,46, 0,78 olarak bulunmuştur. Bu grupta *SIRT1*’in *mTOR*, *ILP2*, *ATG5*, *Vg* genleri ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdiği, *BECN1* ve *BRP* genleriyle anlamlı bir korelasyon göstermediği tespit edilmiştir.

4.3.2. *SIRT6* geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri

Çalışmada larva grubunda *SIRT6* ve *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı sırasıyla 0,516, 0,816, 0,516, 0,516, 0,535 ve korelasyon katsayısı ise -0,179, 0,125, 0,5, 0,7, -0,41 olarak bulunmuştur. Bu grupta *SIRT6*, *ILP2* ve *ATG5* genleriyle pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdiği, diğer genlerle ise anlamlı bir korelasyon göstermediği gözlemlenmiştir. Ergin işçi arı grubunda ise *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP* ve *Vg* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı *BECN1* geninde 0,707 iken diğer genler de 0,667 olarak hesaplanmıştır. *SIRT6* ve genler arasındaki korelasyon katsayısı sırasıyla 0,839, 0,94, 0,94, 0,93, 0,292 0,74 olarak bulunmuştur. Bu grupta ise *SIRT6*'nın *BRP* hariç tüm genlerle pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdiği gözlemlenmiştir.

4.3.3. *SIRT7* geni ile diğer genler arasındaki korelasyon analizleri

Çalışmada larva grubunda *SIRT7* ve *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı sırasıyla 0,516, 0,816, 0,516, 0,516, 0,535 ve korelasyon katsayısı 0,57, -0,34, 0,55, 0,353, -0,06 olarak bulunmuştur. Bu grupta *SIRT7* sadece *mTOR* ve *ILP2* genleri ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon göstermiştir. Ergin işçi arı grubunda ise *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5*, *BRP* ve *Vg* genleri arasındaki korelasyon katsayısı hesaplamasında anlamlılık sınırı *BECN1* geninde 0,707 iken diğer genler de 0,667 olarak hesaplanmıştır. *SIRT7* ve genler arasındaki korelasyon katsayısı sırasıyla 0,823, 0,87, 0,776, 0,846, 0,09, 0,8 olarak bulunmuştur. Bu grupta ise *SIRT7*'nin *BRP* hariç tüm genlerle pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdiği gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada farklı *sirtuin* aktivatör ve inhibitörleri içeren besin diyetleri ile beslenen ana ve işçi arı larvalarının ve ergin işçi arılarının nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımını kontrol eden genleri ile *sirtuin* genlerinin ifade düzeyleri belirlenmiştir.

Araştırmada *sirtuin* aktivatörü olan kurkumin içeren besin diyeti ile beslenen ana arı larvalarının RT-qPCR analiz sonuçlarına göre *SIRT1* gen ifadesindeki azalmaya karşın *mTOR* gen ifadesinde artış olduğu gözlemlenmiştir.

Bununla birlikte çalışmamızdan elde edilen sonuçlardan farklı olarak, farklı model organizmalar üzerinde yapılmış olan çalışmalarda kurkumin içeren besin diyetinin *mTOR* gen ifadesini baskıladığı gösterilmiştir (Johnson et al., 2009; Tamaddoni et al., 2020). Diğer yandan kurkumin içeren besin diyetinin *SIRT1* gen ifadesini artırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Yang et al., 2013; Xiao et al., 2016). Çalışmamız besin diyetinin genler üzerindeki etkisi yönünden daha önceki çalışmalardan farklı sonuç vermiştir.

Ayrıca *SIRT1* bir transkripsiyon düzenleyicisi olduğundan (Bonkowski & Sinclair, 2016, Inoue et al., 2014, Yang et al., 2022) ve translasyon sonrası modifikasyon yoluyla genleri düzenleyebildiğinden (Dai et al., 2016, Chen et al., 2008; Cheng et al., 2008) genler üzerindeki etkilerini protein düzeyinde göstermiş olabileceği düşünülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda *SIRT1* aktivasyonunun *mTOR*'u inhibe ettiği belirtilmektedir (Guo et al., 2011; Takeda et al., 2012). Çalışmamız *SIRT1* ve *mTOR* gen etkileşimi yönünden daha önceki çalışmalara benzerlik göstermiştir.

Diğer yandan, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olarak otofaji, nöronal sağkalım için oldukça önemlidir (Caccamo et al., 2014; Nopparat et al., 2017). *mTOR* geninin aktivasyonunun otofajiyi negatif olarak düzenlerken (Parmar vd., 2022), *SIRT1* geninin ise otofajiyi artırdığı bilinmektedir (Lee et al., 2008; He et al., 2013; Fang et al., 2014). Bununla birlikte çalışmamızda yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı kurkumin içeren

besin diyetinin *SIRT1* ve *mTOR* üzerine etkileri ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmiş olması, nörodejeneratif hastalıklara ilişkili gen ifadeleri üzerindeki araştırmaların geniş kapsamlı olarak ele alınması gerektiğini göstermektedir.

Kurkumin içeren besin diyeti işçi arı larvalarında ise *ATG5* gen ifadesinde artış sağlamıştır ($p<0,05$). Daha önce farklı model organizmalarda yapılan çalışmalar da kurkumin içeren besin diyetinin *ATG5* gen ifadesini artırdığı yönünde olup bu araştırma ile benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır (Maiti et al., 2019; Ke et al., 2020; Park et al., 2022). Otofagozom oluşumunu sağlayan *otofajiyle ilişkili gen 5 (ATG5)* artışı ise nörodejeneratif hastalıklara katkı sunabileceği yönünde doğal polifenolik bileşik olan kurkuminin önemini ortaya koymuştur. Bununla birlikte kurkumin içeren besin diyeti diğer gen ifadeleri üzerinde istatistiki olarak önemli bir fark yaratmamıştır ($p>0,05$).

Sirtuin inhibitörü sodyum bütirat içeren besin diyeti uygulanan bal arılarının analiz sonuçlarına göre ana arı larvalarında *mTOR* ve *SIRT1* gen ifadesinde azalma gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Qiao ve arkadaşları sodyum bütiratın *mTOR* gen ifadesini azalttığını ortaya koymuştur (Qiao et al., 2020). Çalışmamız Qiao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzerlik göstermektedir. Diğer yandan sodyum bütirat bir histon deasetilaz inhibitörüdür (Spannhoff et al., 2011) ve *SIRT1* gen ifadesini azalttığı bilinmektedir (Shakoori et al., 2018). Çalışmamızdaki sonuç ise daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Öte yandan sodyum bütiratın hafızadaki rolü bal arılarında daha önce incelenmiştir (Lockett et al., 2014) ve sodyum bütirat aracılı *SIRT1* ifadesindeki bu azalışın da hafıza üzerinde iyileştirici etkisinde rolü olup olmadığı daha kapsamlı olarak araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca *SIRT1* geninin *mTOR*'u inhibe ettiği bilinmektedir (Guo et al., 2011; Takeda et al., 2012; Parmar et al., 2022). Dolayısıyla çalışmamızda ana arı larvalarında *mTOR* gen ifadelerindeki azalışın *sirtuinler* üzerinden değil de AMPK vb. farklı bir sinyal yollarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Ng vd., 2012). Diğer yandan *mTOR* inhibasyonunun nörit büyümesini ve nöronal hayatta kalmayı sağladığı ortaya koyulmuştur (Guo ve diğerleri, 2011).

Araştırmada ana arı larvalarında sodyum bütiratın *mTOR*'u inhibe ettiği dikkate alındığında, sodyum bütiratın nörodejeneratif hastalıklar üzerine etkilerinin daha kapsamlı olarak araştırılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Diğer yandan çalışmamızda uygulanan sodyum bütirat içeren besin diyeti işçi arı larvalarında *ATG5* ifadesinde artış sağlamıştır ($p<0,05$). Daha önce farklı model organizmalarda yapılan çalışmalarda benzer şekilde sodyum bütiratın *ATG5* gen ifadesini yükselterek otofajiyi artırdığı bilinmektedir (Qiao et al., 2020; Huang et al., 2019). İşçi arı larvalarında *SIRT1* gen ifadesi artışının istatistiki olarak anlamlı bulunmamış olması *ATG5* gen ifadesindeki artışın *mTOR/PI3K/AKT* gibi otofaji ile ilişkili yollar ile düzenlenmiş olabileceği düşünülmektedir (Kim vd., 2019, Chandra vd., 2017).

Çalışmamızda, sodyum bütirat ergin işçi arılarda *mTOR* gen ifadesini artırmıştır ($p<0,05$). *mTOR* inhibasyonu kadar *mTOR* aktivasyonunun da nörodejeneratif hastalıklarda etkili olduğu farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur. *mTOR* sinyalizasyonunun yukarı yönlü düzenlenmesinin beyin gelişiminde nöritlerin genişlemesini desteklediği (Jin et al., 2012) ve ayrıca hipokampusta sinaptik plastisiteyi düzenlediği bildirilmiştir (Takei et al., 2004).

Bununla birlikte, ergin işçi arılarda *BRP* gen ifadesinde de artış gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Literatürde, sodyum bütirat içeren besin diyetinin *BRP* geni ifadesindeki rolü ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu araştırmada ilk kez işçi arılarda sodyum bütirat içeren besin diyetinin *BRP* gen ifadesini artırdığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda, sodyum bütirat içeren besin diyeti, diğer gen ifadeleri üzerinde ise istatistiki olarak önemli bir fark yaratmamıştır ($p>0,05$).

Diğer yandan, farklı *sirtuin* aktivatör ve inhibitörleri içeren besin diyeti uygulanmış bal arılarında nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımını kontrol eden genler üzerinde ilişkisi incelendiğinde doğrudan ya da dolaylı olarak kısmen ilişkisi olduğu görülmüştür.

Larva grubunda, *SIRT1* *ATG5* geni ile negatif yönde korelasyon gösterirken *SIRT6* geni *ATG5* geni ile pozitif yönde korelasyon göstermiştir. *SIRT7* geni ise *mTOR* ve *ILP2* genleri ile pozitif yönde bir korelasyon göstermiştir.

Ergin işçi arı grubunda ise *SIRT1* geni *mTOR*, *ILP2*, *ATG5* ve *Vg* genleri ile *SIRT6* ve *SIRT7* genleri ise *mTOR*, *BECN1*, *ILP2*, *ATG5* ve *Vg* genleri pozitif yönde anlamlı bir korelasyon göstermiştir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar söz konusu korelasyonların besin diyetinden bağımsız olarak bireysel farklılıklardan ya da ölçülmemiş başka bir parametrelerden etkilenmiş olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle daha sonra yapılacak çalışmalarla *sirtuinler* ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişki genler arasındaki etkileşimlerin farklı parametreler kullanılarak araştırılması önerilmektedir.

Diğer yandan bu tez çalışmasında kullanılan kurkumin ve sodyum bütirat içeren besin diyetlerinin nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımını kontrol eden genler üzerinde önemli bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte bazı gen ifadelerinin beklenenden düşük olması örneklem grubunun az olmasından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca mRNA düzeyleri esas alınarak yapılmış olan bu tez çalışmasında genlerin mRNA düzeyinde anlamlı bir farklılık görülmemiş olması söz konusu gen aktivitelerinin *sirtuin* proteinleri tarafından translasyon sonrası modifikasyon yoluyla düzenlenmiş olabileceği ve *sirtuinlerin* söz konusu genler üzerindeki etkilerini protein düzeyinde göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Sirtuin protein aktivitesi, birçok amino asit üzerindeki fosforilasyonu ile değişmektedir. Ayrıca *SIRT1*'in bir transkripsiyon düzenleyicisi olmasından dolayı *SIRT1* genindeki ifade değişiminin az olmasına rağmen etkisinin daha fazla olması mümkündür. Bu nedenle ilerleyen süreçlerde nörodejeneratif ve nörotransmitter salınımını kontrol eden genlerin protein düzeyinde incelenmesi oldukça yararlı olacaktır.

Diğer yandan tez çalışması kapsamında elde edilen farklı sonuçlar alınmış olmasının diğer nedenlerinden birinin, saha çalışmaları kontrollü koşullarda yapılmış olmakla birlikte kovanların yüzde yüz ayrışmamış olmasından dolayı arıların tekrar kovanlar arasında kovanlarını değiştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle denemelerde

kullanılan arı örneklerin inhibitör/aktivatör içeren şerbetleri tüketmemiş arı örnekler olma olasılığı vardır.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında kurkumin ve sodyum bütirat içeren besin diyetlerinin doğrudan ya da dolaylı olarak *sirtuin* genleri ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişki gen üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Bununla birlikte söz konusu gen etkileşimlerin daha net olarak anlaşılabilmesi için daha fazla örneklem grubu ve parametreler içeren gen ve etkilerinin protein düzeylerinde de araştırıldığı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, R. M., Ke, Y. D., Vucic, S., Ittner, L. M., Seeley, W., Hodges, J. R., ... & Kiernan, M. C. (2018). Physiological changes in neurodegeneration—mechanistic insights and clinical utility. *Nature Reviews Neurology*, 14(5), 259-271.
- Amdam, G. V., & Omholt, S. W. (2003). The hive bee to forager transition in honeybee colonies: the double repressor hypothesis. *Journal of theoretical biology*, 223(4), 451-464.
- Amdam, G. V. (2011). Social context, stress, and plasticity of aging. *Aging cell*, 10(1), 18-27.
- Amdam, G. V., Fennern, E., & Havukainen, H. (2012). Vitellogenin in honey bee behavior and lifespan. *Honeybee Neurobiology and Behavior: A Tribute to Randolph Menzel*, 17-29.
- Ament, S. A., Corona, M., Pollock, H. S., & Robinson, G. E. (2008). Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of labor in honey bee colonies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(11), 4226-4231.
- An, W. L., Cowburn, R. F., Li, L., Braak, H., Alafuzoff, I., Iqbal, K., ... & Pei, J. J. (2003). Up-regulation of phosphorylated/activated p70 S6 kinase and its relationship to neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *The American journal of pathology*, 163(2), 591-607.
- Anand, P., Thomas, S. G., Kunnumakkara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Sung, B., ... & Aggarwal, B. B. (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical pharmacology*, 76(11), 1590-1611.
- Axe, E. L., Walker, S. A., Manifava, M., Chandra, P., Roderick, H. L., Habermann, A., ... & Ktistakis, N. T. (2008). Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *The Journal of cell biology*, 182(4), 685-701.
- Barber, M. F., Michishita-Kioi, E., Xi, Y., Tasselli, L., Kioi, M., Moqtaderi, Z., ... & Chua, K. F. (2012). SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature*, 487(7405), 114-118.
- Bartke, A., List, E. O., & Kopchick, J. J. (2016). The somatotrophic axis and aging: benefits of endocrine defects. *Growth Hormone & IGF Research*, 27, 41-45.
- Bayram A. (2013). MS hastalarında sırt genleri ve sırt genleri ile ilişkili genler ve gen ürünlerinin moleküler analizi. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi.

- Bergman, P., Esfahani, S. S., & Engström, Y. (2017). *Drosophila* as a model for human diseases—focus on innate immunity in barrier epithelia. *Current topics in developmental biology*, 121, 29-81.
- Bhutani, M. K., Bishnoi, M., & Kulkarni, S. K. (2009). Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 92(1), 39-43.
- Birnbaum, A., Sodders, M., Bouska, M., Chang, K., Kang, P., McNeill, E., & Bai, H. (2021). FOXO regulates neuromuscular junction homeostasis during *Drosophila* aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 567861.
- Blander, G., & Guarente, L. (2004). The Sir2 family of protein deacetylases. *Annual review of biochemistry*, 73(1), 417-435.
- Bonkowski, M. S., & Sinclair, D. A. (2016). Slowing ageing by design: the rise of NAD⁺ and sirtuin-activating compounds. *Nature reviews Molecular cell biology*, 17(11), 679-690.
- Boutillier, A. L., Trinh, E., & Loeffler, J. P. (2003). Selective E2F-dependent gene transcription is controlled by histone deacetylase activity during neuronal apoptosis. *Journal of neurochemistry*, 84(4), 814-828.
- Broughton, S., & Partridge, L. (2009). Insulin/IGF-like signalling, the central nervous system and aging. *Biochemical Journal*, 418(1), 1-12.
- Caccamo, A., Majumder, S., Richardson, A., Strong, R., & Oddo, S. (2010). Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid- β , and Tau: effects on cognitive impairments. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13107-13120.
- Brunet, A., Sweeney, L. B., Sturgill, J. F., Chua, K. F., Greer, P. L., Lin, Y., ... & Greenberg, M. E. (2004). Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *science*, 303(5666), 2011-2015.
- Budayeva, H. G., Rowland, E. A., & Cristea, I. M. (2016). Intricate roles of mammalian sirtuins in defense against viral pathogens. *Journal of virology*, 90(1), 5-8.
- Bürli, R. W., Luckhurst, C. A., Aziz, O., Matthews, K. L., Yates, D., Lyons, K. A., ... & Dominguez, C. (2013). Design, synthesis, and biological evaluation of potent and selective class IIa histone deacetylase (HDAC) inhibitors as a potential therapy for Huntington's disease. *Journal of medicinal chemistry*, 56(24), 9934-9954.

- Caccamo, A., De Pinto, V., Messina, A., Branca, C., & Oddo, S. (2014). Genetic reduction of mammalian target of rapamycin ameliorates Alzheimer's disease-like cognitive and pathological deficits by restoring hippocampal gene expression signature. *Journal of Neuroscience*, 34(23), 7988-7998.
- Caccamo, A., Majumder, S., Richardson, A., Strong, R., & Oddo, S. (2010). Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (*mTOR*), amyloid- β , and Tau: effects on cognitive impairments. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13107-13120.
- Cantó, C., Gerhart-Hines, Z., Feige, J. N., Lagouge, M., Noriega, L., Milne, J. C., ... & Auwerx, J. (2009). AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature*, 458(7241), 1056-1060.
- Chandra, R., Hiniker, A., Kuo, Y. M., Nussbaum, R. L., & Liddle, R. A. (2017). α -Synuclein in gut endocrine cells and its implications for Parkinson's disease. *JCI insight*, 2(12).
- Chen, D., Bruno, J., Easlon, E., Lin, S. J., Cheng, H. L., Alt, F. W., & Guarente, L. (2008). Tissue-specific regulation of *SIRT1* by calorie restriction. *Genes & development*, 22(13), 000-000.
- Chen, J., Xavier, S., Moskowitz-Kassai, E., Chen, R., Lu, C. Y., Sanduski, K., ... & Goligorsky, M. S. (2012). Cathepsin cleavage of sirtuin 1 in endothelial progenitor cells mediates stress-induced premature senescence. *The American journal of pathology*, 180(3), 973-983.
- Chen, S., Seiler, J., Santiago-Reichert, M., Felbel, K., Grummt, I., & Voit, R. (2013). Repression of RNA polymerase I upon stress is caused by inhibition of RNA-dependent deacetylation of PAF53 by SIRT7. *Molecular cell*, 52(3), 303-313.
- Cheng, Z., Tang, Y., Chen, Y., Kim, S., Liu, H., Li, S. S., ... & Zhao, Y. (2009). Molecular characterization of propionyllysines in non-histone proteins. *Molecular & cellular proteomics*, 8(1), 45-52.
- Chell, J. M., & Brand, A. H. (2010). Nutrition-responsive glia control exit of neural stem cells from quiescence. *Cell*, 143(7), 1161-1173.
- Clancy, D. J., Gems, D., Hafen, E., Leevers, S. J., & Partridge, L. (2002). Dietary restriction in long-lived dwarf flies. *Science*, 296(5566), 319-319.
- Corona, M., Velarde, R. A., Remolina, S., Moran-Lauter, A., Wang, Y., Hughes, K. A., & Robinson, G. E. (2007). Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(17), 7128-7133.

- Dai, H., Sinclair, D. A., Ellis, J. L., & Steegborn, C. (2018). Sirtuin activators and inhibitors: Promises, achievements, and challenges. *Pharmacology & therapeutics*, 188, 140-154.
- Davie, J. R. (2003). Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. *The Journal of nutrition*, 133(7), 2485S-2493S.
- Didonna, A., & Opal, P. (2015). The promise and perils of HDAC inhibitors in neurodegeneration. *Annals of clinical and translational neurology*, 2(1), 79-101.
- Dieck, S., Sanmartí-Vila, L., Langnaese, K., Richter, K., Kindler, S., Soyke, A., ... & Gundelfinger, E. D. (1998). Bassoon, a novel zinc-finger CAG/glutamine-repeat protein selectively localized at the active zone of presynaptic nerve terminals. *The Journal of cell biology*, 142(2), 499-509.
- Dryden, S. C., Nahhas, F. A., Nowak, J. E., Goustin, A. S., & Tainsky, M. A. (2003). Role for human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle. *Molecular and cellular biology*, 23(9), 3173-3185.
- Du, J., Zhou, Y., Su, X., Yu, J. J., Khan, S., Jiang, H., ... & Lin, H. (2011). Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science*, 334(6057), 806-809.
- Durst, C., Eichmüller, S., & Menzel, R. (1994). Development and experience lead to increased volume of subcompartments of the honeybee mushroom body. *Behavioral and neural biology*, 62(3), 259-263.
- Edgar, B. A. (2006). How flies get their size: genetics meets physiology. *Nature Reviews Genetics*, 7(12), 907-916.
- Engels, W., Kaatz, H., Zillikens, A., Simões, Z. P., Trube, A., Braun, R., & Dittrich, F. (1990). Honey bee reproduction: vitellogenin and caste-specific regulation of fertility. *Honey bee reproduction: vitellogenin and caste-specific regulation of fertility.*, 495-502.
- Eun, Y., Kim, I. Y., Sun, J. M., Lee, J., Cha, H. S., Koh, E. M., ... & Lee, J. (2019). Risk factors for immune-related adverse events associated with anti-PD-1 pembrolizumab. *Scientific reports*, 9(1), 14039.
- Excels, W. (1974). Occurrence and significance of vitellogenins in female castes of social Hymenoptera. *American Zoologist*, 14(4), 1229-1237.
- Fang, E. F., Scheibye-Knudsen, M., Brace, L. E., Kassahun, H., SenGupta, T., Nilsen, H., ... & Bohr, V. A. (2014). Defective mitophagy in XPA via PARP-1 hyperactivation and NAD⁺/SIRT1 reduction. *Cell*, 157(4), 882-896.
- Fedoroff, N. V. (2012). Transposable elements, epigenetics, and genome evolution. *Science*, 338(6108), 758-767.

Fenster, S. D., Chung, W. J., Zhai, R., Cases-Langhoff, C., Voss, B., Garner, A. M., ... & Garner, C. C. (2000). Piccolo, a presynaptic zinc finger protein structurally related to bassoon. *Neuron*, 25(1), 203-214.

Ferguson, L. R., & Philpott, M. (2007). Cancer prevention by dietary bioactive components that target the immune response. *Current Cancer Drug Targets*, 7(5), 459-464.

Finch, C. E., & Ruvkun, G. (2001). The genetics of aging. *Annual review of genomics and human genetics*, 2(1), 435-462.

Flatt, T., Min, K. J., D'Alterio, C., Villa-Cuesta, E., Cumbers, J., Lehmann, R., ... & Tatar, M. (2008). Drosophila germ-line modulation of insulin signaling and lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(17), 6368-6373.

Flatt, T., Tu, M. P., & Tatar, M. (2005). Hormonal pleiotropy and the juvenile hormone regulation of Drosophila development and life history. *Bioessays*, 27(10), 999-1010.

Friedman, D. B., & Johnson, T. E. (1988). A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics*, 118(1), 75-86.

Ford, E., Voit, R., Liszt, G., Magin, C., Grummt, I., & Guarente, L. (2006). Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes & development*, 20(9), 1075-1080.

Gao, K., Niu, J., & Dang, X. (2020). Neuroprotection of melatonin on spinal cord injury by activating autophagy and inhibiting apoptosis via SIRT1/AMPK signaling pathway. *Biotechnology letters*, 42(10), 2059-2069.

Gehring, K. B., Heufelder, K., Depner, H., Kersting, I., Sigrist, S. J., & Eisenhardt, D. (2017). Age-associated increase of the active zone protein Bruchpilot within the honeybee mushroom body. *PLoS One*, 12(4), e0175894.

Gençer, H. V., & Kahya, Y. (2011). Are sperm traits of drones (*Apis mellifera* L.) from laying worker colonies noteworthy?. *Journal of Apicultural Research*, 50(2), 130-137.

Gertz, M., & Steegborn, C. (2010). Function and regulation of the mitochondrial Sirtuin isoform Sirt5 in Mammalia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(8), 1658-1665.

Gertz, M., & Steegborn, C. (2016). Using mitochondrial sirtuins as drug targets: disease implications and available compounds. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 2871-2896.

Gezici, S., & Koçum, D. (2021). Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Nöroprotektif Ajan Olarak Tıbbi Bitkiler ve Fitokimyasallar. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10(2), 325-337.

Gitler, A. D., Dhillon, P., & Shorter, J. (2017). Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Disease models & mechanisms*, 10(5), 499-502.

Gregoret, I., Lee, Y. M., & Goodson, H. V. (2004). Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis. *Journal of molecular biology*, 338(1), 17-31.

Grob, A., Roussel, P., Wright, J. E., McStay, B., Hernandez-Verdun, D., & Sirri, V. (2009). Involvement of SIRT7 in resumption of rDNA transcription at the exit from mitosis. *Journal of cell science*, 122(4), 489-498.

Grozinger, C. M., Fan, Y., Hoover, S. E., & Winston, M. L. (2007). Genome-wide analysis reveals differences in brain gene expression patterns associated with caste and reproductive status in honey bees (*Apis mellifera*). *Molecular ecology*, 16(22), 4837-4848.

Guarente, L. (2011). Franklin H. *Epstein lecture: sirtuins, aging, and medicine*. *N Engl J Med*, 364(23), 2235-2244.

Guo, W., Qian, L., Zhang, J., Zhang, W., Morrison, A., Hayes, P., ... & Zhao, J. (2011). Sirt1 overexpression in neurons promotes neurite outgrowth and cell survival through inhibition of the mTOR signaling. *Journal of neuroscience research*, 89(11), 1723-1736.

Hallows, W. C., Yu, W., Smith, B. C., DeVires, M. K., Ellinger, J. J., Someya, S., ... & Denu, J. M. (2011). Sirt3 promotes the urea cycle and fatty acid oxidation during dietary restriction. *Molecular cell*, 41(2), 139-149.

Hamaguchi, T., Ono, K., & Yamada, M. (2010). Curcumin and Alzheimer's disease. *CNS neuroscience & therapeutics*, 16(5), 285-297

Hamer, H. M., Jonkers, D. M. A. E., Venema, K., Vanhoutvin, S. A. L. W., Troost, F. J., & Brummer, R. J. (2008). The role of butyrate on colonic function. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 27(2), 104-119.

Hanoğlu, L. (2015). En Ölümcül Nörodejeneratif Hastalık: Yaşlılık. *Sağlık Düşüncesi ve Tıp Kültürü Derg*, 10-11.

Hartfelder, K., & Emlen, D. J. (2012). Endocrine control of insect polyphenism. In *Insect endocrinology* (pp. 464-522). Academic Press.

He, C., Zhu, H., Li, H., Zou, M. H., & Xie, Z. (2013). Dissociation of Bcl-2–Beclin1 complex by activated AMPK enhances cardiac autophagy and protects against cardiomyocyte apoptosis in diabetes. *Diabetes*, 62(4), 1270-1281.

- Heras-Sandoval, D., Pérez-Rojas, J. M., Hernández-Damián, J., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration. *Cellular signalling*, 26(12), 2694-2701.
- Hiratsuka, M., Inoue, T., Toda, T., Kimura, N., Shirayoshi, Y., Kamitani, H., ... & Oshimura, M. (2003). Proteomics-based identification of differentially expressed genes in human gliomas: down-regulation of SIRT2 gene. *Biochemical and biophysical research communications*, 309(3), 558-566.
- Hirschey, M. D., Shimazu, T., Goetzman, E., Jing, E., Schwer, B., Lombard, D. B., ... & Verdin, E. (2010). SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation. *Nature*, 464(7285), 121-125.
- Hsu, C. Y., & Chuang, Y. L. (2014). Changes in energy-regulated molecules in the trophocytes and fat cells of young and old worker honeybees (*Apis mellifera*). *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 69(8), 955-964.
- Huang, J. Y., Hirschey, M. D., Shimazu, T., Ho, L., & Verdin, E. (2010). Mitochondrial sirtuins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(8), 1645-1651.
- Huang, C. Y., Chi, L. L., Huang, W. J., Chen, Y. W., Chen, W. J., Kuo, Y. C., ... & Chen, C. N. (2012). Growth stimulating effect on queen bee larvae of histone deacetylase inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(24), 6139-6149.
- Huang, J. K., Ma, P. L., Ji, S. Y., Zhao, X. L., Tan, J. X., Sun, X. J., & Huang, F. D. (2013). Age-dependent alterations in the presynaptic active zone in a *Drosophila* model of Alzheimer's Disease. *Neurobiology of disease*, 51, 161-167.
- Huang, W., Zeng, C., Liu, J., Yuan, L., Liu, W., Wang, L., ... & Ren, C. (2019). Sodium butyrate induces autophagic apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by inhibiting AKT/mTOR signaling. *Biochemical and biophysical research communications*, 514(1), 64-70.
- Howlett, E., Lin, C. C. J., Lavery, W., & Stern, M. (2008). A PI3-Kinase-mediated negative feedback regulates neuronal excitability. *PLoS genetics*, 4(11), e1000277.
- Hubbert, C., Guardiola, A., Shao, R., Kawaguchi, Y., Ito, A., Nixon, A., ... & Yao, T. P. (2002). HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature*, 417(6887), 455-458.
- Igarashi, M., & Guarente, L. (2016). mTORC1 and SIRT1 cooperate to foster expansion of gut adult stem cells during calorie restriction. *Cell*, 166(2), 436-450.

- Ikeya, T., Galic, M., Belawat, P., Nairz, K., & Hafen, E. (2002). Nutrient-dependent expression of insulin-like peptides from neuroendocrine cells in the CNS contributes to growth regulation in *Drosophila*. *Current biology*, 12(15), 1293-1300.
- Inoki, K., Ouyang, H., Zhu, T., Lindvall, C., Wang, Y., Zhang, X., ... & Guan, K. L. (2006). TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell*, 126(5), 955-968.
- Ingaramo, M. C., Sánchez, J. A., Perrimon, N., & Dekanty, A. (2020). Fat body p53 regulates systemic insulin signaling and autophagy under nutrient stress via *Drosophila* Upd2 repression. *Cell reports*, 33(4).
- Inoue, T., Nakayama, Y., Li, Y., Matsumori, H., Takahashi, H., Kojima, H., ... & Oshimura, M. (2014). SIRT 2 knockdown increases basal autophagy and prevents postslippage death by abnormally prolonging the mitotic arrest that is induced by microtubule inhibitors. *The FEBS journal*, 281(11), 2623-2637.
- Iwahara, T., Bonasio, R., Narendra, V., & Reinberg, D. (2012). SIRT3 functions in the nucleus in the control of stress-related gene expression. *Molecular and cellular biology*, 32(24), 5022-5034.
- Johnson, S. M., Gulhati, P. A. T., Arrieta, I., Wang, X., Uchida, T., Gao, T., & Evers, B. M. (2009). Curcumin inhibits proliferation of colorectal carcinoma by modulating Akt/mTOR signaling. *Anticancer research*, 29(8), 3185-3190.
- Jang, S. Y., Shin, Y. K., Park, S. Y., Park, J. Y., Lee, H. J., Yoo, Y. H., ... & Park, H. T. (2016). Autophagic myelin destruction by Schwann cells during Wallerian degeneration and segmental demyelination. *Glia*, 64(5), 730-742.
- Jin, Y., Sui, H. J., Dong, Y., Ding, Q., Qu, W. H., Yu, S. X., & Jin, Y. X. (2012). Atorvastatin enhances neurite outgrowth in cortical neurons in vitro via up-regulating the Akt/mTOR and Akt/GSK-3 β signaling pathways. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(7), 861-872.
- Kawasaki, F., Zou, B., Xu, X., & Ordway, R. W. (2004). Active zone localization of presynaptic calcium channels encoded by the cacophony locus of *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*, 24(1), 282-285.
- Ke, D., Wang, Y., Yu, Y., Wang, Y., Zheng, W., Fu, X., ... & Xu, J. (2020). Curcumin-activated autophagy plays a negative role in its anti-osteoclastogenic effect. *Molecular and cellular endocrinology*, 500, 110637.
- Kenyon, C., Chang, J., Gensch, E., Rudner, A., & Tabtiang, R. (1993). A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*, 366(6454), 461-464.

- Kenyon, C. J. (2010). The genetics of ageing. *Nature*, 464(7288), 504-512.
- Kesidou, E., Lagoudaki, R., Touloumi, O., Poulatsidou, K. N., & Simeonidou, C. (2013). Autophagy and neurodegenerative disorders. *Neural regeneration research*, 8(24), 2275.
- Kim, S., Kwon, S. H., Kam, T. I., Panicker, N., Karuppagounder, S. S., Lee, S., ... & Ko, H. S. (2019). Transneuronal propagation of pathologic α -synuclein from the gut to the brain models Parkinson's disease. *Neuron*, 103(4), 627-641.
- Kimura, K. D., Tissenbaum, H. A., Liu, Y., & Ruvkun, G. (1997). daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 277(5328), 942-946.
- Kramer, C. Y. (1956). Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics*, 12(3), 307-310.
- Kugel, S., Sebastián, C., Fitamant, J., Ross, K. N., Saha, S. K., Jain, E., ... & Mostoslavsky, R. (2016). SIRT6 suppresses pancreatic cancer through control of Lin28b. *Cell*, 165(6), 1401-1415.
- Kulkarni, S. K., Bhutani, M. K., & Bishnoi, M. (2008). Antidepressant activity of curcumin: involvement of serotonin and dopamine system. *Psychopharmacology*, 201(3), 435-442.
- Kumar, S., & Lombard, D. B. (2018). Functions of the sirtuin deacetylase SIRT5 in normal physiology and pathobiology. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 53(3), 311-334.
- Lagouge, M., Argmann, C., Gerhart-Hines, Z., Meziane, H., Lerin, C., Daussin, F., ... & Auwerx, J. (2006). Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating *SIRT1* and PGC-1 α . *Cell*, 127(6), 1109-1122.
- Lee, I. H., Cao, L., Mostoslavsky, R., Lombard, D. B., Liu, J., Bruns, N. E., ... & Finkel, T. (2008). A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(9), 3374-3379.
- Lee, I. H., & Finkel, T. (2009). Regulation of autophagy by the p300 acetyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*, 284(10), 6322-6328.
- Leitinger, G., Masich, S., Neumüller, J., Pabst, M. A., Pavelka, M., Rind, F. C., ... & Kolb, D. (2012). Structural organization of the presynaptic density at identified synapses in the locust central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*, 520(2), 384-400.

- Li, W., Kennedy, S. G., & Ruvkun, G. (2003). daf-28 encodes a *C. elegans* insulin superfamily member that is regulated by environmental cues and acts in the DAF-2 signaling pathway. *Genes & development*, 17(7), 844-858.
- Liang, C. C., Wang, C., Peng, X., Gan, B., & Guan, J. L. (2010). Neural-specific deletion of FIP200 leads to cerebellar degeneration caused by increased neuronal death and axon degeneration. *Journal of Biological Chemistry*, 285(5), 3499-3509.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Lockett, G. A., Wilkes, F., Helliwell, P., & Maleszka, R. (2014). Contrasting effects of histone deacetylase inhibitors on reward and aversive olfactory memories in the honey bee. *Insects*, 5(2), 377-398.
- Lund, J., Tedesco, P., Duke, K., & Wang, J. (2002). Kim SK. *Johnson TE: Transcriptional profile of aging in C. elegans*. *Curr Biol*, 12(18), 1566-1573.
- Luo, Y. X., Tang, X., An, X. Z., Xie, X. M., Chen, X. F., Zhao, X., ... & Liu, D. P. (2017). SIRT4 accelerates Ang II-induced pathological cardiac hypertrophy by inhibiting manganese superoxide dismutase activity. *European heart journal*, 38(18), 1389-1398.
- Lv, X., Jiang, H., Li, B., Liang, Q., Wang, S., Zhao, Q., & Jiao, J. (2014). The crucial role of Atg5 in cortical neurogenesis during early brain development. *Scientific reports*, 4(1), 6010.
- Mackert, A., do Nascimento, A. M., Bitondi, M. M. G., Hartfelder, K., & Simões, Z. L. P. (2008). Identification of a juvenile hormone esterase-like gene in the honey bee, *Apis mellifera* L.—expression analysis and functional assays. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 150(1), 33-44.
- Mahoney, R. E., Azpurua, J., & Eaton, B. A. (2016). Insulin signaling controls neurotransmission via the 4eBP-dependent modification of the exocytotic machinery. *Elife*, 5, e16807.
- Maiti, P., Scott, J., Sengupta, D., Al-Gharaibeh, A., & Dunbar, G. L. (2019). Curcumin and solid lipid curcumin particles induce autophagy, but inhibit mitophagy and the PI3K-Akt/mTOR pathway in cultured glioblastoma cells. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 399.
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2007). AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, 129(7), 1261-1274.

- Maori, E., Garbian, Y., Kunik, V., Mozes-Koch, R., Malka, O., Kalev, H., ... & Shafir, S. (2019). A transmissible RNA pathway in honey bees. *Cell reports*, 27(7), 1949-1959.
- Meley, D., Bauvy, C., Houben-Weerts, J. H., Dubbelhuis, P. F., Helmond, M. T., Codogno, P., & Meijer, A. J. (2006). AMP-activated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 281(46), 34870-34879.
- Menon, V. P., & Sudheer, A. R. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 105-125.
- Menzies, F. M., Fleming, A., & Rubinsztein, D. C. (2015). Compromised autophagy and neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 345-357.
- McLaughlin, C. N., Nechipurenko, I. V., Liu, N., & Broihier, H. T. (2016). A Toll receptor–FoxO pathway represses Pavarotti/MKLP1 to promote microtubule dynamics in motoneurons. *Journal of Cell Biology*, 214(4), 459-474.
- Michishita, E., Park, J. Y., Burneskis, J. M., Barrett, J. C., & Horikawa, I. (2005). Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Molecular biology of the cell*, 16(10), 4623-4635.
- Millar, N. (2001). Biology statistics made simple using Excel. *School Science Review*, 83, 23-34.
- Milazzo, G., Mercatelli, D., Di Muzio, G., Triboli, L., De Rosa, P., Perini, G., & Giorgi, F. M. (2020). Histone deacetylases (HDACs): evolution, specificity, role in transcriptional complexes, and pharmacological actionability. *Genes*, 11(5), 556.
- Miskiewicz, K., Jose, L. E., Yeshaw, W. M., Valadas, J. S., Swerts, J., Munck, S., ... & Verstreken, P. (2014). HDAC6 is a Bruchpilot deacetylase that facilitates neurotransmitter release. *Cell Reports*, 8(1), 94-102.
- Miteva, Y. V., & Cristea, I. M. (2014). A proteomic perspective of Sirtuin 6 (SIRT6) phosphorylation and interactions and their dependence on its catalytic activity. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(1), 168-183.
- Mostoslavsky, R., Chua, K. F., Lombard, D. B., Pang, W. W., Fischer, M. R., Gellon, L., ... & Alt, F. W. (2006). Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*, 124(2), 315-329.
- Moore, R. L., Dai, Y., & Faller, D. V. (2012). Sirtuin 1 (SIRT1) and steroid hormone receptor activity in cancer. *The Journal of Endocrinology*, 213(1), 37–48.

- Mukherjee, K., & Vilcinskas, A. (2014). Development and immunity-related microRNAs of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *BMC genomics*, 15(1), 1-12.
- Ng, T. L., Leprivier, G., Robertson, M. D., Chow, C., Martin, M. J., Laderoute, K. R., ... & Sorensen, P. H. B. (2012). The AMPK stress response pathway mediates anoikis resistance through inhibition of mTOR and suppression of protein synthesis. *Cell Death & Differentiation*, 19(3), 501-510.
- Nopparat, C., Sinjanakhom, P., & Govitrapong, P. (2017). Melatonin reverses H2O2-induced senescence in SH-SY 5Y cells by enhancing autophagy via sirtuin 1 deacetylation of the RelA/p65 subunit of NF-κB. *Journal of pineal research*, 63(1), e12407.
- North, B. J., Marshall, B. L., Borra, M. T., Denu, J. M., & Verdin, E. (2003). The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD⁺-dependent tubulin deacetylase. *Molecular cell*, 11(2), 437-444.
- North, B. J., & Verdin, E. (2004). Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. *Genome biology*, 5, 1-12.
- North, B. J., & Verdin, E. (2007). Mitotic regulation of SIRT2 by cyclin-dependent kinase 1-dependent phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 282(27), 19546-19555.
- Obilor, E. I., & Amadi, E. C. (2018). Test for significance of Pearson's correlation coefficient. *International Journal of Innovative Mathematics, Statistics & Energy Policies*, 6(1), 11-23.
- Page Jr, R. E., & Amdam, G. V. (2007). The making of a social insect: developmental architectures of social design. *Bioessays*, 29(4), 334-343.
- Pan, H., & Finkel, T. (2017). Key proteins and pathways that regulate lifespan. *Journal of Biological Chemistry*, 292(16), 6452-6460.
- Pannek, M., Simic, Z., Fuszard, M., Meleshin, M., Rotili, D., Mai, A., ... & Steegborn, C. (2017). Crystal structures of the mitochondrial deacylase Sirtuin 4 reveal isoform-specific acyl recognition and regulation features. *Nature communications*, 8(1), 1513.
- Park, S. K., Seong, R. K., Kim, J. A., Son, S. J., Kim, Y., Yokozawa, T., & Shin, O. S. (2016). Oligonol promotes anti-aging pathways via modulation of SIRT1-AMPK-Autophagy Pathway. *Nutrition Research and Practice*, 10(1), 3-10.
- Park, J. W., Kim, Y., Lee, S. B., Oh, C. W., Lee, E. J., Ko, J. Y., & Park, J. H. (2022). Autophagy inhibits cancer stemness in triple-negative breast cancer via miR-181a-mediated regulation of ATG5 and/or ATG2B. *Molecular Oncology*, 16(9), 1857-1875.

- Parmar, U. M., Jalgaonkar, M. P., Kulkarni, Y. A., & Oza, M. J. (2022). Autophagy-nutrient sensing pathways in diabetic complications. *Pharmacological research*, 106408.
- Pearson, E. S. (1931). The test of significance for the correlation coefficient. *Journal of the American Statistical Association*, 26(174), 128-134.
- Pickford, F., Masliah, E., Britschgi, M., Lucin, K., Narasimhan, R., Jaeger, P. A., ... & Wyss-Coray, T. (2008). The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid β accumulation in mice. *The Journal of clinical investigation*, 118(6), 2190-2199.
- Plaza-Zabala, A., Sierra-Torre, V., & Sierra, A. (2017). Autophagy and microglia: novel partners in neurodegeneration and aging. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 598.
- Qiao, C. M., Sun, M. F., Jia, X. B., Shi, Y., Zhang, B. P., Zhou, Z. L., ... & Shen, Y. Q. (2020). Sodium butyrate causes α -synuclein degradation by an Atg5-dependent and PI3K/Akt/mTOR-related autophagy pathway. *Experimental Cell Research*, 387(1), 111772.
- Qiu, X., Brown, K., Hirschey, M. D., Verdin, E., & Chen, D. (2010). Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell metabolism*, 12(6), 662-667.
- Qualls, Z., Brown, D., Ramlochansingh, C., Hurley, L. L., & Tizabi, Y. (2014). Protective effects of curcumin against rotenone and salsolinol-induced toxicity: implications for Parkinson's disease. *Neurotoxicity Research*, 25, 81-89.
- Ravikumar, B., Vacher, C., Berger, Z., Davies, J. E., Luo, S., Oroz, L. G., ... & Rubinsztein, D. C. (2004). Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nature genetics*, 36(6), 585-595.
- Rembold, H., Czoppelt, C. H., & Rao, P. J. (1974). Effect of juvenile hormone treatment on caste differentiation in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of insect physiology*, 20(7), 1193-1202.
- Ren, R., Ocampo, A., Liu, G. H., & Belmonte, J. C. I. (2017). Regulation of stem cell aging by metabolism and epigenetics. *Cell metabolism*, 26(3), 460-474.
- Rimmelé, P., Bigarella, C. L., Liang, R., Izac, B., Dieguez-Gonzalez, R., Barbet, G., ... & Ghaffari, S. (2014). Aging-like phenotype and defective lineage specification in SIRT1-deleted hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem cell reports*, 3(1), 44-59.

- Robert, T., Vanoli, F., Chiolo, I., Shubassi, G., Bernstein, K. A., Rothstein, R., ... & Foiani, M. (2011). HDACs link the DNA damage response, processing of double-strand breaks and autophagy. *Nature*, 471(7336), 74-79.
- Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, 168(6), 960-976.
- Schlicker, C., Gertz, M., Papatheodorou, P., Kachholz, B., Becker, C. F., & Steegborn, C. (2008). Substrates and regulation mechanisms for the human mitochondrial sirtuins Sirt3 and Sirt5. *Journal of molecular biology*, 382(3), 790-801.
- Schulz, D. J., & Robinson, G. E. (1999). Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies: behaviorally related changes in the antennal lobes and age-related changes in the mushroom bodies. *Journal of Comparative Physiology A*, 184, 481-488.
- Schwartz, M. W., Prigeon, R. L., Kahn, S. E., Nicolson, M., Moore, J., Morawiecki, A., ... & Porte Jr, D. (1997). Evidence that plasma leptin and insulin levels are associated with body adiposity via different mechanisms. *Diabetes care*, 20(9), 1476-1481.
- Shakoori, T. A., Zulfiqar, S., Khawaja, K. I., & Masud, F. (2018). Effect of Butyrate on Genetic Expression of Sirt1/AMPK and Akt/mTOR Axes in Murine Adipose Tissue. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(2).
- Sharma, R. A., Gescher, A. J., & Steward, W. P. (2005). Curcumin: the story so far. *European journal of cancer*, 41(13), 1955-1968.
- Shimazu, T., Hirschey, M. D., Hua, L., Dittenhafer-Reed, K. E., Schwer, B., Lombard, D. B., ... & Verdin, E. (2010). SIRT3 deacetylates mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase 2 and regulates ketone body production. *Cell metabolism*, 12(6), 654-661.
- Sidorova-Darmos, E., Wither, R. G., Shulyakova, N., Fisher, C., Ratnam, M., Aarts, M., ... & Eubanks, J. H. (2014). Differential expression of sirtuin family members in the developing, adult, and aged rat brain. *Frontiers in aging neuroscience*, 6, 333.
- Sierra, A., Abiega, O., Shahraz, A., & Neumann, H. (2013). Janus-faced microglia: beneficial and detrimental consequences of microglial phagocytosis. *Frontiers in cellular neuroscience*, 7, 6.
- Singla, N., & Dhawan, D. K. (2012). N-methyl N-nitrosourea induced functional and structural alterations in mice brain-role of curcumin. *Neurotoxicity research*, 22, 115-126.

- Sousa-Nunes, R., Yee, L. L., & Gould, A. P. (2011). Fat cells reactivate quiescent neuroblasts via TOR and glial insulin relays in *Drosophila*. *Nature*, 471(7339), 508-512.
- Spannhoff, A., Kim, Y. K., Raynal, N. J. M., Gharibyan, V., Su, M. B., Zhou, Y. Y., ... & Bedford, M. T. (2011). Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees. *EMBO reports*, 12(3), 238-243.
- Stay, B., & Zera, A. J. (2010). Morph-specific diurnal variation in allatostatin immunostaining in the corpora allata of *Gryllus firmus*: Implications for the regulation of a morph-specific circadian rhythm for JH biosynthetic rate. *Journal of insect physiology*, 56(3), 266-270.
- Stefanatos, R., Sriram, A., Kiviranta, E., Mohan, A., Ayala, V., Jacobs, H. T., ... & Sanz, A. (2012). dj-1 β regulates oxidative stress, insulin-like signaling and development in *Drosophila melanogaster*. *Cell Cycle*, 11(20), 3876-3886.
- Sun, T., Li, X., Zhang, P., Chen, W. D., Zhang, H. L., Li, D. D., ... & Zhu, X. F. (2015). Acetylation of Beclin 1 inhibits autophagosome maturation and promotes tumour growth. *Nature communications*, 6(1), 7215.
- Swiech, L., Perycz, M., Malik, A., & Jaworski, J. (2008). Role of mTOR in physiology and pathology of the nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1784(1), 116-132.
- Takao-Rikitsu, E., Mochida, S., Inoue, E., Deguchi-Tawarada, M., Inoue, M., Ohtsuka, T., & Takai, Y. (2004). Physical and functional interaction of the active zone proteins, CAST, RIM1, and Bassoon, in neurotransmitter release. *The Journal of cell biology*, 164(2), 301-311.
- Takeda-Watanabe, A., Kitada, M., Kanasaki, K., & Koya, D. (2012). SIRT1 inactivation induces inflammation through the dysregulation of autophagy in human THP-1 cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 427(1), 191-196.
- Takei, N., Inamura, N., Kawamura, M., Namba, H., Hara, K., Yonezawa, K., & Nawa, H. (2004). Brain-derived neurotrophic factor induces mammalian target of rapamycin-dependent local activation of translation machinery and protein synthesis in neuronal dendrites. *Journal of Neuroscience*, 24(44), 9760-9769.
- Tamaddoni, A., Mohammadi, E., Sedaghat, F., Qujeq, D., & As'Habi, A. (2020). The anticancer effects of curcumin via targeting the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling pathway. *Pharmacological research*, 156, 104798.
- Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M. P., Yin, C. M., & Garofalo, R. (2001). A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*, 292(5514), 107-110.

- Toman, J., Klímová, B., & Vališ, M. (2018). Multidomain lifestyle intervention strategies for the delay of cognitive impairment in healthy aging. *Nutrients*, 10(10), 1560.
- Toiber, D., Sebastian, C., & Mostoslavsky, R. (2011). Characterization of nuclear sirtuins: molecular mechanisms and physiological relevance. *Histone Deacetylases: the Biology and Clinical Implication*, 189-224.
- Tsai, Y. C., Greco, T. M., Boonmee, A., Miteva, Y., & Cristea, I. M. (2012). Functional proteomics establishes the interaction of SIRT7 with chromatin remodeling complexes and expands its role in regulation of RNA polymerase I transcription. *Molecular & Cellular Proteomics*, 11(5), 60-76.
- Tu, M. P., Yin, C. M., & Tatar, M. (2005). Mutations in insulin signaling pathway alter juvenile hormone synthesis in *Drosophila melanogaster*. *General and comparative endocrinology*, 142(3), 347-356.
- Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 99-114.
- Vakhrusheva, O., Smolka, C., Gajawada, P., Kostin, S., Boettger, T., Kubin, T., ... & Bober, E. (2008). *SIRT7* increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice. *Circulation research*, 102(6), 703-710.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*, 73(9), R117-R124.
- Villalba, J. M., & Alcaín, F. J. (2012). Sirtuin activators and inhibitors. *Biofactors*, 38(5), 349-359.
- Wagh, D. A., Rasse, T. M., Asan, E., Hofbauer, A., Schwenkert, I., Dürrbeck, H., ... & Buchner, E. (2006). Bruchpilot, a protein with homology to ELKS/CAST, is required for structural integrity and function of synaptic active zones in *Drosophila*. *Neuron*, 49(6), 833-844.
- Wheeler, D. E., Buck, N. O. R. M. A. N., & Evans, J. D. (2006). Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect molecular biology*, 15(5), 597-602.
- Wigglesworth, V. B. (1936). Memoirs: The function of the corpus Allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius Prolixus* (Hemiptera). *Journal of Cell Science*, 2(313), 91-121.
- Winston, M. L. (1987). *The biology of the honey bee*. harvard university press.

- Withers, G. S., Fahrbach, S. E., & Robinson, G. E. (1993). Selective neuroanatomical plasticity and division of labour in the honeybee. *Nature*, 364(6434), 238-240.
- Wolschin, F., Mutti, N. S., & Amdam, G. V. (2011). Insulin receptor substrate influences female caste development in honeybees. *Biology letters*, 7(1), 112-115.
- Xiao, J., Sheng, X., Zhang, X., Guo, M., & Ji, X. (2016). Curcumin protects against myocardial infarction-induced cardiac fibrosis via SIRT1 activation in vivo and in vitro. *Drug design, development and therapy*, 1267-1277.
- Yang, Y., Duan, W., Lin, Y., Yi, W., Liang, Z., Yan, J., ... & Jin, Z. (2013). SIRT1 activation by curcumin pretreatment attenuates mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 667-679.
- Yang, C., Su, X., Liu, A., Zhang, L., Yu, A., Xi, Y., & Zhai, G. (2013). Advances in clinical study of curcumin. *Current pharmaceutical design*, 19(11), 1966-1973.
- Yang, F., Chu, X., Yin, M., Liu, X., Yuan, H., Niu, Y., & Fu, L. (2014). mTOR and autophagy in normal brain aging and caloric restriction ameliorating age-related cognition deficits. *Behavioural brain research*, 264, 82-90.
- Yang, Y., Liu, Y., Wang, Y., Chao, Y., Zhang, J., Jia, Y., ... & Hu, D. (2022). Regulation of SIRT1 and its roles in inflammation. *Frontiers in Immunology*, 13, 831168.
- Yeung, F., Hoberg, J. E., Ramsey, C. S., Keller, M. D., Jones, D. R., Frye, R. A., & Mayo, M. W. (2004). Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the *SIRT1* deacetylase. *The EMBO journal*, 23(12), 2369-2380.
- You, M., Pan, Y., Liu, Y., Chen, Y., Wu, Y., Si, J., ... & Hu, F. (2019). Royal jelly alleviates cognitive deficits and β -amyloid accumulation in APP/PS1 mouse model via activation of the cAMP/PKA/CREB/BDNF pathway and inhibition of neuronal apoptosis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 428.
- Yu, W., Dittenhafer-Reed, K. E., & Denu, J. M. (2012). SIRT3 Protein Deacetylates Isocitrate Dehydrogenase 2 (IDH2) and Regulates Mitochondrial Redox Status* $\diamond$. *Journal of Biological Chemistry*, 287(17), 14078-14086.
- Yue, Z., Jin, S., Yang, C., Levine, A. J., & Heintz, N. (2003). Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(25), 15077-15082.
- Zhang, J., Jiang, Z., & Shi, A. (2022). Rab GTPases: The principal players in crafting the regulatory landscape of endosomal trafficking. *Computational and Structural Biotechnology Journal*.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevda ÇELİK
Doğum Yeri ve Tarihi : Artvin-25.01.1999
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : Özel Altıparmak Sınav Temel Lisesi
Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik

İletişim (e-posta) : sevdacelik08@hotmail.com

Yayınları : Çelik, S., Çini, N., Atasoy, Ö., & Erbaş, O. (2021). Stress and Cancer. *JEB Med Sci*, 2, 76-9.

Çelik, S., Kayaaltı, A., & Erbaş, O. (2021). NLRP3 inflammasome: A new target in psychiatric disorders. *Journal of Experimental and Basic Medical Sciences*, 2(3), 392-398.

Çelik, S. & Türkeç, A. (2022). Sirtuinlerin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklardaki rolleri. A. Aytaç, G. Demir H. Gümüşdağ, M. Kuyucu, Ü. Sevil, A. S. Yücel, G. Aras, S. Yalçinkaya. (Ed.), 7. *Uluslararası akademik öğrenci çalışmaları kongresi* içinde (s. 206). İstanbul: Güven Plus Grup Danışmanlık A.Ş. Yayınları.