



Ses dalgaları ile hücrelerde geri dönülmez DNA hasarları oluşturmak mümkün müdür?

Is it possible to induce irreversible DNA damages in cells via sound waves?

Murat DİKİLİTAŞ^{1*}, Vehbi BALAK², Eray ŞİMŞEK¹, Sema KARAKAŞ³

¹Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Şanlıurfa

²Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa

³Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak ve Bitki Besleme Bölümü, Şanlıurfa

To cite this article:

Dikilitaş, M., Balak, V., Şimşek, E. & Karakaş, S. (2018). Ses dalgaları ile hücrelerde geri dönülmez DNA hasarları oluşturmak mümkün müdür?. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(4): 560-571. DOI: 10.29050/harranziraat.427049

Address for Correspondence:

Murat DİKİLİTAŞ

e-mail:

m.dikilitas@gmail.com

Received Date:

25.05.2018

Accepted Date:

12.10.2018

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

ÖZ

Ses dalgalarının organizmaların fizyolojik ve biyokimyasal yapıları üzerinde etkili olduğu artık bilinen bir gerçektir. Ses dalgası ile yüksek organizmaların davranışlarını etkilemek mümkün olduğu gibi, sesin etkisini hücre seviyesinde de görmek mümkündür. Özellikle, ses dalgasının etki veya etkilerinin DNA üzerinde kalıcı veya geçici etki bırakması bitki koruma açısından önemli bir aşamadır. Çünkü ses dalgası ile istenmeyen organizmaların DNA molekülü bozulduğunda organizmaların tamir süreci uzayacak ve bu aşamada ilave olarak kullanılacak düşük dozdaki kimyasal maddeler (pestisitler, hormonlar, vb.) dayanıklılık ve kalıntı sorununa yol açmadan patojen ve diğer organizmaları elemine edebilecektir. Bu derlemede, ses dalgasının DNA molekülü üzerinde oluşturduğu hasarlar ve bunların tamir mekanizması ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ses dalgası, desibel, frekans, patojen, DNA hasarı

ABSTRACT

It is an accepted reality that sound waves could effect the physiological and biochemical structures of the organisms. It is possible to affect the behaviour of higher organisms, yet this effect could be observed in the level of cells. Effects of sound waves on DNA with permanent or reversible damages would be an important step for plant protection studies. Because the recovery period of DNA of unwanted organisms would be extended with the increase of additional low doses of chemical compounds such as pesticides and hormones without leading to residue or resistance problems. In this review, damages occurred by sound waves on DNA molecule and its repair mechanism was evaluated.

Key Words: Sound waves, desibel, frequency, pathogen, DNA damage

1. Giriş

Son yıllarda çağdaş teknolojik yaklaşımlar olarak kullanılan ses dalgaları, özellikle ultrases dalgaları, abiyotik uyarıcılar gibi kullanıldığında uygulanan bitkilerde dayanıklılığı arttıran biyoaktif maddelerin birikimine ve sentezine yol açmıştır (Yu ve ark. 2016, Cuéllar-Villarreal ve ark., 2016). Ancak, ses dalgasının gücü, süresi, frekansı ve

organizmaya olan uzaklığı ayarlandığında, organizmalar üzerindeki etkilerinin olumsuz yönde olacağı anlaşılmıştır. Bundan önceki çalışmalarda bu olumsuz etkiler, hücre ve organizma bazında ele alınmış (Dikilitaş ve ark., 2016; Dikilitaş ve ark., 2018), bu derlemede ise ses dalgasının gen ekspresyonu ve DNA hasarı üzerine etkileri, şayet hasar meydana gelmiş ise, hasarın tamir edilip edilemeyeceği

değerlendirilmiştir. Ses dalgasının kronik etki yapmadan, yani hasar tamirine fırsat verilmeden hedef organizma üzerinde etkili olması, dayanıklılık mekanizmasının da ortadan kalkmasına neden olacaktır. Bunun için DNA molekülünün en az bir iplikçığının kırılması gerekmektedir. Diğer abiyotik stres uygulamalarında olduğu gibi yüksek dozda uygulanan ultrases dalgası hücrelerde strese neden olabilmektedir. Yüksek enerjili ve düşük frekanslı (20-100 kHz) ses dalgalarının hücrelerde biyokimyasal değişikliğe neden olduğu belirlenmiş (Nowacka ve Wedzik, 2016; Cuéllar-Villarreal ve ark., 2016), bu durumun patojen mikroorganizmaların ve diğer istenmeyen canlıların kontrolünde kullanılabilme konusu tartışılmıştır. Ses dalgası istenmeyen hücrelere uygulandığında stres oluşturabilecek potansiyele sahip olduğundan bitki koruma çalışmaları açısından kontrol stratejilerine dahil edilme potansiyeli oldukça yüksektir. Burada önemli olan husus, uygulanacak organizmaların iyi karakterize edilmesi, ses dalgasının frekansı, gücü (dB, desibel değeri) ve süresinin iyi optimize edilmesidir. Ses dalgasının diğer stres oluşturan etmenler ile (UV, sıcaklık, kuraklık, manyetik alan, pestisit vb.) kombine edildiğinde daha etkili olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Fitopatoloji alanında ya da genel itibari ile ziraat alanında yeterli düzeyde ulusal ve uluslararası yayına rastlanmadığından, mekanizmanın tatmin edici düzeyde tartışılabilmesi için çoğunlukla yüksek organizmalardan örnekler verilmiştir.

2. Ses dalgası ve stres metabolizması

Akustik ses yani mekanik dalga 20 Hertz (Hz) ile 20 kHz arasında değişen frekansa yani titreşime sahip olup ultrases dalgası ise 20 kHz ve üzerindeki frekansa sahip ses dalgalarıdır (Silva ve Dobránszki, 2014). Düşük frekanslı ultrases dalgası organizmalar üzerinde termal veya kimyasal etkilerinden dolayı birçok biyolojik değişimlere yol açarlar. Ses dalgasının şiddeti artınca hücre içinde çekirdek membranlarına hasar verebilecek

seviyeye ulaşabilmektedir. Hasar, DNA molekülüne ulaştığında, DNA stabilitesi azalır, hücre membranlarında protein sentezi yerine getirilemez ve hücre içinde stres metabolitleri artar (Rokhina ve ark., 2009; Silva ve Dobránszki, 2014). Ultrases dalgasının hem termal hem de ısı içermeyen non-termal etkileri bulunmaktadır. Megahertz (MHz) düzeyindeki ultrases dalgasının ise hem non-termal hem de termal etkiye sahip olduğu, kHz düzeyindeki ses dalgasının ise non-termal etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Kubota ve ark., 2017). Non-termal etki mekanik ve kimyasal olarak ikiye ayrılmaktadır. Akustik etki ve sıvı içinde oluşan kavitezyon mekanik etki olup, bu arada hücrede oluşan membran parçalanması ise kimyasal etki olarak devam etmektedir. Ultrases dalgası çözelti içinde akustik girdap oluşturarak hava kabarcıklarının oluşmasına yol açar ve bu kabarcıklar kaybolduğunda yani çöktüğünde üretilen yüksek sıcaklık ve basınç hücre membranlarında parçalanma, incelme ve gözeneklerin oluşmasına yol açarak hücre protoplazmasını çeperden ayırır, hücre içinde üretilen enzimleri denature eder ve hücrelerde mikroskobik kanallara yol açarak hücre metabolitlerinin kaybolmasına neden olur (Saliev ve ark., 2018). Bu aşamada hücre içinde serbest oksijen radikalleri (ROS; OH⁻, HOO⁻, O⁻, O⁻²) ve radikal olmayan H₂O₂ konsantrasyonları artarak DNA molekülü üzerinde hasarlanmalara ve lezyonlara yol açabilir (Yu ve ark., 2016; Nowacka ve Wedzik, 2016). Ayrıca uygulanan bölgede ısınma meydana geldiğinden uygulama sonlandırılrsa bile, hasarın artarak devam etme kabiliyeti bulunmaktadır (Izadifar ve ark., 2017).

Organizmalar, ses dalgasını o kadar hassas şekilde algılayabilirler ki, çok düşük desibel (dB) ve frekansa sahip ses dalgasının organizmanın savunma stratejisini etkilediği tespit edilmiştir. Örneğin, tırtılların çiğneme sesini taklit eden bir ses dalgası ile bitkiler önceden muamele edildiğinde bitkilerin herbivora karşı savunma sistemine geçtiği görülmüştür (Appel ve Cocroft, 2014; Ghosh ve ark., 2017). Ses dalgası ile ilintili 17 genin *Arabidopsis* sp. bitkisinde aktif hale geldiği rapor edilmiş, 500 Hz'lik 80 dB gücünde bir

ses dalgasının farklı zaman dilimlerinde gen ekspresyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Ghosh ve ark., 2017). Ses dalgası sadece dışarıdan verilen bir uygulama olarak ele alınmamalı, diğer canlıların çıkardığı seslerin de organizmayı etkilediği bilinmelidir. Örneğin, “vızıltı tozlanması” olarak not edilen ve birçok bitki türünün tozlanma oluşması için polenlerin antenlerden ayrılmasının arılarının ürettiği ses dalgasının belirli bir frekansa ulaşınca başarılabilirliği belirlenmiştir (De Luca ve Vallejo-Marin, 2013). Ghosh ve ark. (2016) *Arabidopsis thaliana* bitkilerinin 250-300 Hz arasında değişen frekanslara sahip ses dalgasına maruz bırakıldığında bitkilerde gen kopyalanması ve proteomiks verilerinde değişiklik olduğunu belirlemişlerdir.

Ses dalgasının, organizmayı etkilediğine dair yeteri kadar bilimsel rapor mevcuttur. Örneğin, Mishra ve ark. (2016) ses dalgasının bitkilerin antioksidant aktivitesini, kalsiyum akışını, şeker ve ATP içeriğini, hormonal dengesini ve plasmalemma yapısını değiştirdiğini belirlemişlerdir. Yine, ses dalgası ile *Actinidia chinensis* kalluslarında ATP miktarında artış belirlenmiş, ses dalgasının hücrede enerji metabolizmasını değiştirdiği görülmüştür (Xiaocheng ve ark., 2003; Ghosh ve ark., 2017). Abiyotik stres, hatta kimi zaman biyotik stres, hücrelerde akut veya kronik olmak üzere iki tip tepkimeye neden olur. Ani veya akut oluşan tepki, sinyal moleküllerinin (ROS, etilen hormonu, jasmonik asit, salisilik asit vb.) üretimi ile bağlantılı olup hücre savunmasında görev alacak genlerin ekspresyonu ile ortaya çıkmaktadır (Jacobo-Velázquez ve ark., 2015). Geç tepki veya kronik tepki ise ikincil metabolitlerin oluşmasında, sentezlenmesinde ve birikiminde önemli görevler üstlenen enzimlerin sentezi ile meydana gelmektedir (Jacobo-Velázquez ve ark., 2015). Hücreler sadece stresin yüksek dozuna maruz kaldıklarında değil aynı zamanda düşük stres dozlarına uzun süre maruz kaldıklarında yani kronik etkilerine maruz bırakıldıklarında da genomik yapılarında değişiklik geçirebilirler hatta bu değişiklikler kalıcı olarak sonraki nesillere de aktarılabilir. Hücrede ses dalgası çok çeşitli

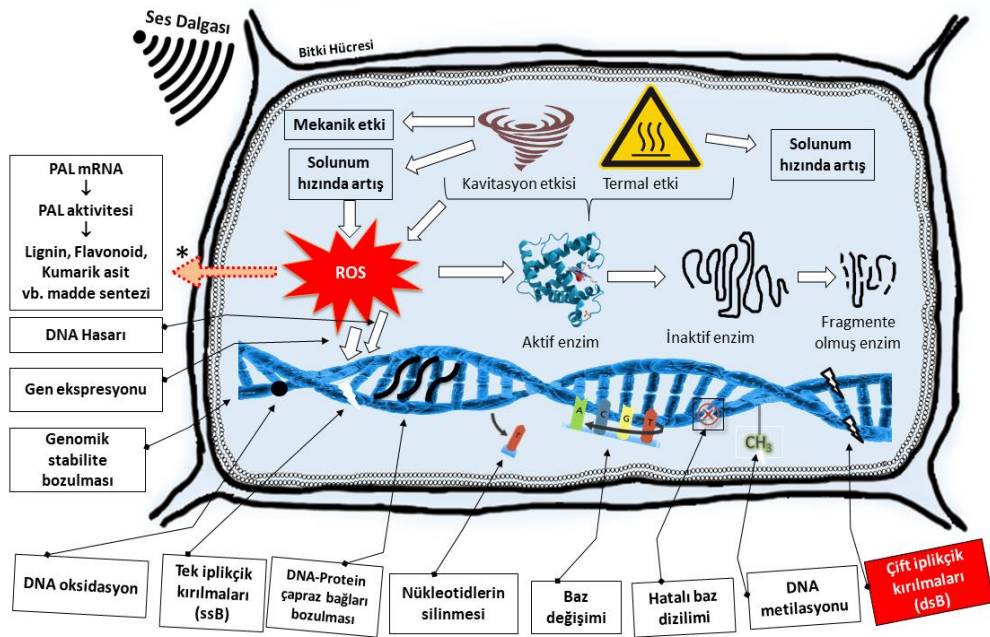
biyokimyasal değişikliklere yol açabilir. Örneğin ses dalgası *Panax ginseng* hücre kültürlerinde oksidatif strese yol açarak fenilalanin amonia lyaz (PAL) enziminin sentezlenmesine ve dolayısı ile hücrede ikincil metabolitler olarak adlandırılan fenolik bileşiklerin birikimine yol açmıştır (Wu ve Lin, 2002). Araştırmacılar, bu sayede ginseng bitkisinin antioksidant özelliğini arttırmayı başarmışlardır. Yine, ultrases dalgası ile marullarda 2.5 gün sonra PAL aktivitesinin artışı ile birlikte fenolik bileşiklerin sentezi teşvik edilmiş böylece kalite parametreleri iyileştirilmiştir (Yu ve ark., 2016; Cuéllar-Villarreal ve ark., 2016). Benzer durum, hasat edilen havuç meyvelerine ses dalgası (24kHz, 400W) uygulandığında solunum oranında artış ile beraber PAL geninin ekspresyonunda ve ikincil metabolitlerin sentezlenmesinde artış ile de rapor edilmiştir (Cuéllar-Villarreal ve ark., 2016). Yine ses dalgası uygulaması ile havuçlarda depolama sonrasında karatenoid yıkımı en az düzeyde gerçekleşmiş, bu durumun yıkıcı enzimlerden olan lipoksigenaz (LOX) enziminin inaktivasyonu ile sağlandığı ifade edilmiştir. Ancak stresin dozu ve süresi arttıkça savunma enzim ve metabolitlerinin seviyesi de düşmektedir. Örneğin, Dikilitaş ve ark. (2017) *Verticillium dahliae* ve NaCl kombinasyonunun domates bitkilerinde savunma enzim ve metabolitlerini düşürdüğünü, artan tuz konsantrasyonunun bitkide daha yıkıcı sonuçlara yol açtığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada savunmada önemli rol oynayan PAL ve diğer savunma enzimlerinin artışının sürekli olmadığı hatta belli bir stres dozundan sonra artışın görülmediği rapor edilmiştir. Hatta, belirli bir konsantrasyondan sonra PAL seviyesinin normalin altına indiği de rapor edilmiştir (Dikilitaş, 2003). Dolayısı ile stres dozu ve süresi ile ilgili değişiklikler yaparak savunma mekanizmasını tamamen etkisiz hale getirmek mümkündür. Örneğin, Furusawa ve Kondo, (2017) iki dakika süre ile ses dalgası uygulamasının (47 kHz, 35 W) kabak bitkilerinin yaprak yüzeyinde erozyona yol açtığını, kütikula tabakasını aşındırdığını ve hücrelerin bağlantı yerlerini ayırdığını taramalı elektron mikroskobu ile belirlemişlerdir

(Ananthkrishnan ve ark., 2007). Sonifikasyon süresinin 30 dakikaya çıkması ile hücre yüzeyinde ve hücreler arası boşlukta oluşan deformasyonlar daha belirgin hale gelmiştir. Savunma mekanizmasının tamir edilemez duruma gelmesi için DNA molekülünün mutlaka stabilitesinin bozulması veya dejenere olması gerekir ki bu durum ancak DNA molekülü üzerinde hasar açmakla mümkün olabilir. Dolayısı ile ses dalgası veya sonifikasyonun dozu ve süresini değiştirerek onu abiyotik stres faktörüne dönüştürmek mümkündür.

3. DNA hasar mekanizması

Birkaç mitokondriyal gen dışında, nükleer genom hücredeki tüm bilgi ve işlemlerden sorumludur. Genomik sekans değiştiğinde ya da

dizinin bir parçası kaybolduğunda yenisi ile değiştirilemez (Ermolaeva ve ark., 2015) ya tamir edilir ya da kontrollü bir şekilde yok edilir (De Bont ve Van Larebeke, 2004). Bundan dolayı DNA üzerinde oluşan hasarlar çok çeşitlidir. Genom üzerinde günde onbinlerce kez hasar oluşmaktadır. Bunlar; oksidasyon, depurinasyon yani purin bazlarının uzaklaşması, depirimidasyon yani pirimidin bazlarının uzaklaşması, tek iplikçik kırıkları, çift iplikçik kırıkları, deaminasyon, ve alkalasyon yani alkali olma durumu gibi çeşitli gruplara ayrılırlar (McKeague, 2017). Çeşitli çalışmalardan elde edilen verilere göre ses dalgasının DNA molekülü üzerinde oluşturabileceği muhtemel hasarlar Şekil 1’de izah edilmiştir.



Şekil 1. Ses dalgasının DNA'daki hasarlarının şematik olarak gösterimi.

Figure 1. Schematic representation of DNA damages caused by soundwave.

* Ses dalgasının şiddeti ve süresi biyokimyasal ve moleküler düzeyde olumsuz etki yapamayacak durumda ise, ROS sinyal molekülü olarak görev alır ve bunun sonucu PAL ve diğer savunma enzimleri devreye girer. Ancak ses dalgası ile etkili DNA hasarı oluşturmak mümkündür. Ses dalgasının hem fiziksel hem de kimyasal etkileri tamir edici veya koruyucu olarak kullanılan antioksidant (vitamin C, E, aminoasit, enzimler vb.) maddelerin etkinliğini düşürdüğünden tamir mekanizmasının devreye girmesini geciktirebilir. Ancak bitkiler üzerinde çift iplikçik kırılması mümkün olmasına rağmen henüz ses dalgası ile ilgili bir yayına rastlanmamıştır.

Bu hasarlardan;

Guanin oksidasyonu en yaygın oksidatif hasar tipi olup, hasar gören baz, 8-oxoguanin (8-oxoG) adını alır. Genom üzerinde 8-oxoG ile adenin bazının yanlış eşleşmesi sonucu G ve T bazları arasında çapraz eşleşme meydana gelir ki bu

durum G ve T mutasyonu olarak da adlandırılır ve oksidatif stres ile ilgili hastalıklara yatkınlığa, kanser ve erken yaşlanma gibi sonuçlara yol açar (McKeague, 2017). Bu oksidize olmuş baz (8-oxoG) tekrar oksidize olduğunda ise spiroiminodihydantoin (Sp) adı verilen bir ürünün

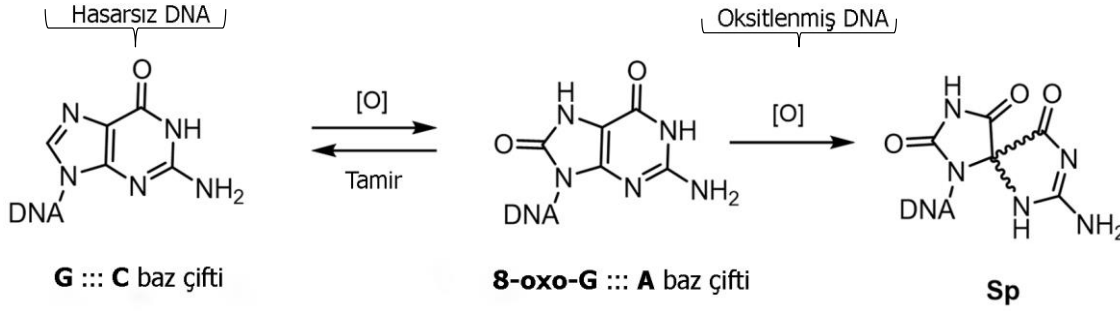
oluşmasına yol açar. Sp DNA özellikle çift sarmal yapının bozulmasında çok önemli bir göreve sahiptir. (Şekil 2).

Guanin alkalasyonu ise DNA bazları arasındaki bazların yıpranması konusunu ele alır. Alkalileşme sonucu DNA dışarıdan gelen etkenlere daha hassas bir hal alır.

Tek iplikçik kırıkları (sS DNA kırıkları) DNA

molekülü üzerinde tek iplikçığın bir ya da birkaç yerden kırılmasını ifade eder.

Çift iplikçik kırıkları (dS DNA kırıkları) DNA hasarının en tehlikeli formudur. DNA'nın her iki iplikçığının aynı yerden kopması anlamına gelir. Dolayısı ile DNA molekülünün üzerindeki bilgiler hem kodlanamaz hem de transfer edilemez hale gelir.



Şekil 2. DNA molekülü içinde guanin oksidasyonu (Alenko ve ark., 2017; McKeague, 2017).

Figure 2. Oxidation of guanine in DNA molecules (Alenko et al., 2017; McKeague, 2017).

Tamiri oldukça zor olan bir hasar biçimidir. Stres faktörlerinin çok şiddetli olduğu durumlarda çift iplikçik kırıkları meydana gelir.

Dışarıdan bir stres faktörü ile DNA üzerinde hasar oluşabildiği gibi hücre içinde oluşan yan ürünler sayesinde ortaya çıkan ROS ile de kendiliğinden DNA hasarı oluşur. Kendiliğinden oluşan DNA hasarı, DNA replikasyonu sırasında oluşan hatalardan meydana gelir. Kromozomların mayoz ve mitoz bölünmesi sonucunda oluşan hatalar, ROS ve alkalileşme sonucu veya hücredeki DNA'nın yaşlanması sonucu oluşan hatalar bu gruba girer (Lindahl ve Barnes, 2000). ROS iki tarafı keskin kılıç olarak nitelendirilmekte, hücre membranlarına, lipid, DNA, protein gibi makromoleküllere zarar verdiği gibi aynı zamanda hücrede gen ekspresyonunu başlatarak ikincil metabolitlerin üretimini de sağlamaktadır (Hoeijmakers, 2009). Burada önemli olan konu hücre içerisindeki ROS konsantrasyonudur. Düşük ROS konsantrasyonu hücre içinde sinyalizasyonu arttırırken, yüksek ROS konsantrasyonu hücreye toksik etki yapmaktadır (Safari ve ark., 2009). Örneğin, meslek doğası gereği gürültüye maruz kalan insanlarda birçok kardiyovasküler hastalıklar rapor edilmiştir (Nawaz ve Hasnain, 2013). Bunun gerisinde yatan ana neden olarak gürültüye maruz kalan hücrelerde ROS seviyesindeki artış

gösterilmiştir. Örneğin, 80 dB altında kalan normal ses (gürültü) ile düşük yoğunluklu gürültülü ses (95 dB ve yukarısı) oksidatif stres ve DNA hasarına neden olmuştur. Sinyal molekülleri antioksidant ve savunma enzimlerinin üretilmesi için ilk reaksiyonu başlattıklarından, PAL ve tyrosine ammonia lyaz (TAL) gibi enzimler sentezlenir. Bu enzimler ise klorojenik asit, lignin bileşikleri, flavonoid gibi fenolik bileşiklerin sentezlenmesinde görev alırlar (Dikilitaş, 2003; Safari ve ark., 2013). Doğal olarak bu sistemin oluşması için PAL geninin de ortaya çıkması gerekmektedir. Dolayısı ile ROS'u hızlı ve yüksek düzeyde arttıracak stres yapıcı etkenlerin bulunması hedef organizmanın metabolizmasının bozulmasında etkili rol oynayacaktır. Ses dalgası ile gen ekspresyonu ve DNA molekülü üzerinde değişiklik yapmak mümkündür (Kubota ve ark., 2017). Ses dalgaları ile ROS miktarını arttırarak DNA molekülünü dolaylı yoldan etkilemek mümkün olduğu gibi, direkt olarak DNA üzerinde hasar oluşturmak da mümkündür (Yoshida ve ark., 2013). Örneğin, touch (TCH) genlerinin ekspresyonu ses dalgası ile arttırılırken (Chehab ve ark., 2009), 100 dB ses şiddetinin 12 saat süre ile uygulanması sıçanlarda DNA bütünlüğünü bozmuş, hatta hasar seviyesi 24 saat boyunca devam etmiştir (Frenzilli ve ark., 2004). Kenmotsu

ve ark., (2013) ultrases dalgasının canlı hücrelerde DNA molekülünün çift iplikçiklerini kırdığını belirlemişlerdir. Çift iplikçik kırıkları hücrelerde tamir edilmesi çok güç hasarlara yol açarlar. Yine aynı araştırmacılar, ultrases dalgasının sadece küçük DNA molekülünün bağlarını kırmakla kalmayıp, büyük DNA molekülünün parçalarını, örneğin 166 kbp gibi yaklaşık 57 mikrometre uzunluğundaki DNA moleküllerinin çift iplikçliğini 30 kHz'lik bir ses frekansına maruz kaldığında birkaç yerden kırdığını bildirmişlerdir. Ali ve ark., (2013) ultrases dalgasının (20 kHz) DNA sarmalının helikal yapısını bozduğunu, DNA çift iplikçığının erime noktasını (Tm) düşürdüğünü ve ultrases dalgasının gücü ile bu hasarların pozitif ilişki içinde olduğunu yani DNA stabilitesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Parçalara ayrılan DNA yapısının uzunluğunun ultrases dalgasının gücü ile daha da azaldığını bildirmişlerdir. Örneğin, Çin hamster yumurtalık hücrelerinde ultrasesin (1.61 MHz) direkt etkisinin DNA'nın tek iplikçiklerini kırabildiği gösterilmiştir (Miller ve Thomas, 1996; Ali ve ark., 2013). Ceylan ve ark., (2016) sadece ultrases dalgaları ile değil normal ses dalgasının yüksek desibel güce ulaştıklarında hücrelerde metabolik fonksiyonları bozdukları gibi DNA üzerinde de hasar oluşturduklarını tespit etmişlerdir. Örneğin, 110 dB ya da daha yüksek ses gücünde ve 7-15 kHz arası frekansta yeni doğanlarda DNA hasarı oluştuğunu ve bunun kalıcı olduğunu ve dolayısı ile işitme kaybına neden olduğunu vurgulamışlardır. Milowska ve Gabrylak (2007), 1 MHz olarak fasılasız (devamlı) uygulanan ultrases dalgasının 2.44 W cm^{-2} yoğunlukta uygulandığında açığa çıkan ROS ve H_2O_2 'nin DNA hasarına yol açtığını belirlemişlerdir. Ortama katalaz enzimi ilave edilmesi ile H_2O_2 'nin bertaraf edilmesi hedeflense de DNA hasarı artarak devam etmiştir. Bu durum DNA hasarının sadece H_2O_2 üretimi ile ilgili olmadığını ortaya koymuştur.

Udroiu ve ark., (2018) 1 MHz ultrases dalgasının 0.3 W cm^{-2} basınçta normal ve tümör hücrelerine uygulandığında DNA hasarına yol açtığını ve mitotik bölünmenin önüne geçerek kanser hücresinin çoğalmasını engellediklerini belirtmişlerdir.

4. DNA hasarı sonrası hücre metabolizması

Hücrede DNA hasarı meydana geldiğinde döngü işlemini sağlayan mekanizma kontrolden çıkar. Hücre içinde bulunan kontrol noktaları (check point) mekanizmanın işlemlerini sağlayan en önemli unsurlardır. Bu noktaları, trafiğin denetlenmesi ve yabancı araçların girişini engelleyen otobandaki gişelere benzetebiliriz. Bu noktalar, anormal şekilde çoğalan DNA molekülünün durdurulması için fren görevi üstlenmektedir. Genotoksik stres meydana geldiği zaman kontrol noktaları harekete geçerek hücre döngüsünü durdurur veya yavaşlatarak DNA üzerinde oluşan hasarın düzeltilmesi için imkân yaratır (Wang ve ark., 2015). Eğer DNA hasarı başarılı bir şekilde tamir edilirse, kontrol noktasından gelen sinyaller kesilir ve hücre döngüsü yeniden başlatılır. DNA hasarı düzgün tamir edilmez ise hücre kademeli olarak hızlı yaşlanmaya ya da apoptosis adı verilen kontrollü hücre ölümüne doğru yol alır veya çoğu durumlarda hasarlı DNA ile bölünmeye devam eder. Genotoksik strese maruz kalan hücreler hatalı olarak çoğalmamak için hücre-döngüsü kontrol noktası (cell cycle check point machinery) mekanizmasını aktif hale getirerek hasarlı DNA molekülünü tamir edinceye kadar hücre döngüsüne girmekten kaçınır (Furusawa ve Kondo, 2017). Ancak programlı hücre ölümü ya da apoptosis hücre için oldukça külfetli bir iş olduğundan hasarlı DNA molekülü ile bölünmek çoğu zaman zorunluluk haline gelmektedir. Hücre hasarlı DNA ile bölünmeye devam ettiğinde, yeni oluşan hücreye hasar aynı oranda transfer edilir. Dolayısı ile hasarın hemen anlaşılması ve engellenmesi hayati önem taşımaktadır.

5. DNA hasarı tamir mekanizması

DNA molekülü üzerinde hasarlar oluştuğunda, bu hasarların tamiri için bir takım biyokimyasal döngüler devreye girer. Örneğin insanlarda, *TP53* geninin (p53 adı verilen proteini kodlamak için gerekli talimatları yerine getiren gen) ana hedefi, oluşması muhtemel tümör genlerini

baskılamaktır. Çünkü DNA üzerinde bulunan genlerin bir kısmı hücre büyümesini ve çoğalmasını sağladığından, kontrol dışı büyüme ve çoğalma engellenmez ise, kansere giden yol açılmış olur. Eğer DNA üzerinde kırılan ya da hasara uğrayan bölge *TP53* genini bulunduran bölge ise bu bölgenin tamir edilemediği durumlarda kanserin başlaması kaçınılmaz olur (Prof. Andrew Collins ile kişisel görüşme, İspanya, 2017). Dolayısı ile bu bölgede oluşacak gen ekspresyonu savunma mekanizması için sentezlenecek protein ve enzimlerin de seviyesini belirlemede etkili olacaktır.

Tümör baskılayan p53 proteini normal hücrelerin çekirdeğinde neredeyse belirlenemeyecek seviyededir. Hücre strese girdiği zaman, özellikle DNA molekülü hasarlandığı zaman p53 proteini hücre döngüsünü durdurur ve DNA molekülünün tamiri için bir fırsat oluşturur, ya da apoptosise gidecek yolu açar (Di Paolo ve ark., 2018). Bunun için p53 proteininin bir dizi genleri aktive etmesi gerekir. Kanser hücrelerinde ise p53 proteini hücre çoğalmasını kontrol edebilecek durumda olmadığından yani mutant duruma düştüğünden DNA tamiri başarılı şekilde gerçekleştirilemez ve genetik olarak stabil olmayan DNA yapısı meydana gelir. Stresli hücre durumunda p53 proteini aktive edilirse bu aktivasyon sonucu antioksidant maddeler hızla dejenere olurlar (Kumari ve ark., 2014). Kanserli hücrelerde p53'ün en yaygın formu gen üzerindeki nokta mutasyonunu yani değişikliği tespit edememesi durumudur. Böyle durumlarda kansere giden yol açılmış olur. İnsanlarda yaklaşık olarak kanserlerin %50'sinin bu şekilde meydana geldiği tespit edilmiştir (Kumari ve ark., 2014).

Genomik yapı çoğunlukla metabolik yan ürünler (reaktif oksijen ve azot türleri vb.), radyasyon ve kimyasallar ile bozulur. Bu stres faktörleri DNA molekülünün çok farklı bölgelerinde modifikasyonlara yol açabilir. Yani mutasyona yol açan kimyasal ve radyasyon dışında kalan stres faktörleri DNA molekülü üzerinde modifikasyona yol açarak DNA'nın fiziko-kimyasal yapısının değişmesine, silinmesine, kromozom kısılmasına, tek ve çift DNA kırıklarına

yol açabilirler.

Küçük stres gruplarının ya da yüksek toksisiteye sahip olmayan stres yapıcı faktörlerin kronik etki sonucu birikmesi ile oluşan tehditler genlerin fonksiyonlarında bozulmalara ve değişikliklere yol açabilirler. Hatta gen dizilimi içinde yer alan tümörleri baskılayan genlerin kaybolması veya silinmesi ve kansere yol açan genlerin ekspresyonunun yani miktarının artması ile genetik yapı tamamen bozularak görevini yerine getiremez hale gelir.

Memelilerde p53 proteini aktive olduğunda, DNA tamiri mümkün ise, hasarı gidermek için diğer genleri de aktive eder. Eğer DNA molekülünün tamiri mümkün değilse, bu protein hücre bölünmesini önler ve hücreyi apoptosise yönlendirir ve tümör oluşumunu engeller. Memelilerde p53 proteini aynı zamanda genomun bekçisi olarak da adlandırılmaktadır (Ma ve ark., 2016).

Genom araştırmaları sonucu DNA hasar durumunda bitkilerin yüksek canlılardakine benzer tepkiler verdiği belirlenmiş ancak memelilerde çok önemli fonksiyonu bulunan p53 tümör baskılayan proteininin olmadığı açığa çıkmıştır (Yoshiyama ve ark., 2013). Bu durum bitki ve hayvanların DNA hasarına farklı mekanizmalar ile tepki verdikleri şeklinde değerlendirilmiştir. DNA hasar tepkisi (DDR-DNA damage response) sadece hücrede temel işlemi yerine getirerek DNA molekülünü hasardan koruyan sistem değil aynı zamanda DNA kodlarının bir sonraki jenerasyona sağlıklı şekilde transferini sağlayan bir sistemi de içermektedir. Yüksek hücrelerin aksine, bitkiler buldukları yeri değiştiremediklerinden sürekli olarak stres faktörlerinin olumsuz etkilerine maruz kalırlar. Bundan dolayı, bitkilerin daha etkili bir DDR sisteminin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar, *Arabidopsis* bitkisinden elde edilen ve SOG1 adı verilen proteinin insanlardaki p53'e benzer bir mekanizma ile çalıştığını ortaya koymuştur. Mekanizma olarak, p53 hücrelerde birikmek suretiyle hücre döngü sistemini kontrol eden birçok geni idare edip, DNA tamiri, apoptosise ve yaşlanma gibi birçok fonksiyonları harekete

geçirirken, SOG1 proteininin biriktiği tespit edilememiş olup bu proteinin birikmeden de DDR mekanizmasını harekete geçirdiği görülmüştür. Her iki proteinin amino asit diziliminin birbirinden farklı olması ve SOG1'in birikmemesi, bitkilerde strese karşı spesifik tepkilerin verildiğini düşündürmektedir. Bu durum bitkilerin patojen ve abiyotik stres faktörlerine maruz kaldıklarında ayrı ayrı mekanizmalar ile etkilendiğini düşündürmektedir (Dikilitaş ve ark., 2017 ve 2018). Böylece mikroorganizmaların stres koşullarına nasıl adaptasyon sağlayabildiği ve bitkilerin hem abiyotik hem de biyotik strese karşı mücadelelerinde önemli bir aşamaya geçileceği umulmaktadır.

Nükleer genom, tıpkı hücre gibi üzerinde hasarları biriktirir (Sancar ve ark., 2004; Yoshiyama, 2015). Bu hasarlara lezyon adı verilir. DNA molekülünün her canlıda günlük olarak hasara uğradığı bilinmekte, bu durum tamir edilemez ise kalıtsal olarak bir sonraki hücreye aktarılabilecek seviyeye geldiğinde kanser ile ilgili genlerin aktivasyonuna da neden olmaktadır. Bundan dolayı, DNA hasarı ve tamiri çok kritik noktalar olup, kanser, yaşlanma ve hastalıkları karşı direncin azalması noktasında önemli kriter olarak kabul edilmektedir.

Organizmada meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişikliği belirlemek için öncelikle genetik değişikliği ya da ekspresyonu belirlemek gerekmektedir. Organizmanın stres faktörlerine karşı verebileceği biyokimyasal ve fizyolojik tepkiler için gerekli olan şeker, karbohidrat ve protein gibi yapı elementlerinin sentezlenmesi veya parçalanmasında gerekli olan enzimlerin önceden kodlanması ve ribozomlarda üretilmesi gerekmektedir. Genetik değişiklikle meydana gelen değişimin kalıcı veya tamir edilebilir olması uygulanan stres faktörünün etkisini de göstermektedir. Dolayısı ile genomik stabilite yani genlerin normal fonksiyonlarda işlem yapması veya ekspresyonu hücre içinde DNA'nın etkili bir tamir mekanizmasına sahip olması ile mümkündür (Tian ve ark., 2015). Tamir edilememiş DNA sadece hücre döngüsünü durdurup apoptosise yol açmayıp genom içinde mutasyona da neden olabilir. Hasar derecesi yüksek DNA içeren hücre

genomik yapısının stabil olmayan olmasından dolayı normal fonksiyonlarını yerine getiremez. Stabil olmayan genomik yapı, hücreyi hastalıklara daha elverişli hale getirdiği gibi herhangi bir hastalık durumunda tedavi veya hücre tamirini de olumsuz olarak etkiler (Wyman ve Kanaar, 2006; Hoeijmakers, 2001; Tian ve ark., 2015; De Bont ve Van Larebeke, 2004; Dikilitaş ve ark., 2018). Hücre bölünmesinden önce hasarlı DNA'nın kopyalanması yanlış bazların eşleşmesine yol açar. Daha sonraki nesilde bu hatalı kopyaları taşıyan hücreler geri tamir edilemez boyutlara ulaşır (Jackson ve Bartek., 2009; Tian ve ark., 2015).

Normal fizyolojik koşullarda DNA hasarı birkaç yolla giderilmektedir. Bunlar *Base excision repair (BER)* (baz tamiri), *mismatch repair (MMR)*, yanlış eşleşen bazların tamiri), *nucleotide excision (NER)*, nukleotidleri buldukları yerlerden çıkararak tamir), *translesion DNA synthesis (TLS)* ve *homologous recombination (HR)* olarak isimlendirilmektedir.

Örneğin *BER* durumunda metabolik faaliyetler sonucu veya stres koşullarında oluşan ROS genellikle DNA'daki tek iplikçığı kırar ve bu kısımlar *BER* ile tamir edilebilir (Aebi ve ark., 1996; Tian ve ark., 2015). Öncelikle, DNA glycosylases enzimi apurinic-apyrininidinic (*AP*) yapı oluşturmak için uygun olarak yerleşmeyen bazları tanır ve uzaklaştırır. Daha sonra *AP* bağ bölgeleri *AP* endonuclease enzimleri ile tamir edilerek DNA'da bulunan tek iplikçikte oluşan kırıklar tamir edilir. Eğer hasarlı olan bazlar uzaklaştırılmaz ise DNA üzerinde yanlış eşleşme olacağı için, DNA replikasyonunun hızı düşebilir ve hatta durabilir (Aebi ve ark., 1996; Tian ve ark., 2015).

MMR: DNA replikasyonu veya DNA tamiri sonrasında oluşan yanlış eşleşen nukleotidleri ortadan kaldırmak için gidilen DNA tamir yollarından biridir. *NER* ise pirimidin bazlarını uzaklaştırmak için gidilen yoldur (Ermolaeva ve ark., 2015).

Genomik yapının sağlıklı işleyebilmesi için DNA tamir sistemi kompleksi hasarlanmış genom bölgesini uzaklaştırır. Önce hasarlı bölge tespit edilir. Bir DNA'da kırık varsa bu kırığın tespit edilmesi kolaydır. Fakat küçük çapta oluşan

yapısal değişiklikler spesifik moleküllere ihtiyaç duyduğundan, spesifik DNA polimeraz enzimleri ile bu hasarlar tespit edilebilmektedir. Ma ve ark., (2015) askorbik asit (Vitamin C) kullanarak DNA üzerindeki hasarı tamir etmek istemişler, askorbik asit tek sarmal kırıklarının tamir etmede etkili bulunurken, çift sarmal kırıklarında tamir edici etkisi minimal düzeyde kalmıştır. Kenmotmsu ve ark. (2013) ultrases dalgası sonucu T4-DNA moleküllerinde oluşan sarmal yapıda çift kırıkların oluşumunu floresan mikroskop ile belirlemişler ve DNA'da oluşan hasarı, antioksidant özelliğe sahip 2-mercaptoethanol (2-Me) uygulayarak tamir etmeye çalışmışlardır, araştırmacılar çift kırıkların tamirinde bu maddenin etkisinin görülmediğini ortaya koymuşlardır. Ma ve ark., (2015) askorbik asit'in büyük bir DNA molekülünün (T4 DNA, 166 kbp) çift kırıklarının tamir etmede etkili olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada 1 mM askorbik asit konsantrasyonunun gün ışığı veya gamma ışınları yolu ile oluşturulan DNA hasarlarını sırası ile %30 ve %70 oranlarında azaltmasına rağmen ultrases dalgası yolu ile açılan hasarı tamir etmede etkili olmadığını belirlemişlerdir. Bu durumu ultrases dalgasının DNA molekülü üzerinde hem fiziksel hem de kimyasal yani fiziko-kimyasal zarar açtığı için tamir edilemediği şeklinde izah etmişlerdir. Çünkü vitamin C (askorbik asit) ile sağlanan ROS seviyesindeki azalma ultrases dalgası yolu ile oluşturulan ROS miktarının azaltılmasında etkili bulunmamıştır. DNA replikasyonu ile transfer edilen hatalar popülasyonda çeşitliliği meydana getirmesine rağmen bir sonraki jenerasyona transfer edildiğinde organizmanın tamir kapasitesini de azalttığından bu tip organizmalar yüksek stres altında faaliyet göstermeye mecbur bırakılan organizmalar haline gelirler. Bu durum stres koşullarına adaptasyonu beraberinde getirirse bile organizmanın ilave bir stresi kaldıramayacağı anlamına da gelmektedir.

6. Ses dalgası ile diğer metotlar kombine ederek DNA hasarının hızlandırılması

Yu ve ark., (2009) ultrases dalgasını kemoterapi ilaçlarına dayanıklılık gösteren ilaçların etkililiğini

arttırmak için kullanmışlar, ultrases dalgası ve/veya cylosporin A maddesi dayanıklı yumurtalık kanser hücre hattına ayrı ayrı uygulandığında etkili bulunmaz iken birlikte uygulandıklarında kanser hücrelerinde 2.55 kez daha fazla DNA hasarına yol açmışlardır. Böylece kemoterapi ilaçlarına dayanıklı kanser hücrelerinin elemine edilmesi için ultrasonik kemoterapi adı verilen önemli bir tedavi alanı oluşmuştur. Bu sayede hem ilaçların etkinlikleri arttırılmış hem de ilaçlardan kaynaklanan yan etki azaltılmıştır. Hasarın devam etmesinin muhtemel nedenini daha stabil yapıda olan H₂O₂ üretiminin devam etmesi ile açıklamak mümkündür (Dikilitaş ve ark., 2017).

Shiferaw Terefe ve ark., (2015) ultrases dalgasının ısı ile kombine edildiğinde mikroorganizmaların enzimlerini inaktive ettiğini belirtmişlerdir. Ses dalgasının meyvelerde kalite parametrelerini düşüren polygalakturonaz (PG), peroksidaz (POD), polifenol oksidaz (PPO) ve lipoksigenaz (LOX) enzimlerinin aktivitesini inaktive ederek meyvelerin bozulmasının önüne geçilmesi başarılmıştır. Ses dalgasına ısı ilave ederek mikroorganizmaların ısıya dayanıklı enzimlerini inaktive etmek de mümkün olmuştur. Hussein ve ark., (2000) DNA kırıklarının etkili ve yüksek seviyede olması için ultrases dalgasını doxorubicin (DOX) adlı kimyasal (kemoterapi ilacı) ile birlikte kullanmışlar ve H260 (Human leukemia) hücreleri üzerinde hızlı ve etkili DNA hasarı oluşturmayı başarmışlardır. Bu yöntemle kemoterapi ilaçlarına dayanıklılık gösteren kanser hücrelerinin elemine edilmesi daha etkili bir biçimde başarılmıştır. Dikilitaş ve ark., (2015) bitkilerde DNA hasarının NaCl ile de mümkün olabileceğini belirtmişler, bu stres faktörü ve ultrases dalgasının birlikte uygulanması ile yabancı ot kontrolünün mümkün olabileceği düşünülmüştür.

7. Sonuçlar

Ses dalgası çeşitli biyolojik işlemleri ve gen ekspresyonunu etkilemektedir. Ses dalgası ile hücre içinde sinyal iletişim mekanizması uyarılır,

düşük doz ve sürede hücre dayanıklılığı mekanizması arttırılırken, yüksek dozda ROS oluşturulur ki hücrenin yıkımı sağlanabilir. Bu yolla organizmada kalıntı bırakmadan, organizmayı etkisiz hale getirmek mümkündür. Ses dalgasının dozu ve süresi arttırılarak doğrudan DNA'da hasar oluşturmak da mümkündür. Böylece hedef organizmanın savunma metabolitlerini üretmeden ve dolayısı ile adaptasyon kazanmasına fırsat verilmeden kontrol altına alınması mümkün olacaktır. Ses dalgasının organizmalar, özellikle patojen mikroorganizmalar, üzerinde etkisi daha detaylı olarak hem biyokimyasal hem de moleküler düzeyde incelenerek DNA hasarı üzerinde etkilerini konu alan çalışmalar bu yöntemin etkinliğini test etmede önemli bir aşama olacaktır. Ses dalgası organizmalar üzerinde ilave stres faktörleri ile kullanıldığında tamir mekanizması geri dönülmez bir noktaya gelebilir.

Çoğunluğu tıp alanından gelen çalışmalar ile izah edilmeye çalışılan bu derlemede ses dalgasının çeşitleri ve hücreler üzerinde oluşturduğu etkilerden bahsedilmiş, ilave stres ile ses dalgasının daha etkili olabileceği tartışılmış özellikle hastalık, böcek ve yabancı ot kontrolünde hatta sistemik olarak ilerleyen patojenlerin kontrolünde ses dalgasının etkili olabileceği değerlendirilmiştir.

Kaynaklar

Aebi, S., Kurdi-Haidar, B., Gordon, R., Cenni, B., Zheng, H., Fink, D., Christen, R.D., Boland, C.R., Coi, M., Fishel, R., & Howell, S.B. (1996). Loss of DNA mismatch repair in acquired resistance to cisplatin. *Cancer Research*, 56(13), 3087-3090.

Alenko, A., Fleming, A.M., & Burrows, C.J. (2017). Reverse transcription past products of guanine oxidation in RNA leads to insertion of a and c opposite 8-oxo-7, 8-dihydroguanine and a and g opposite 5-guanidinohydantoin and spiroiminodihydantoin diastereomers. *Biochemistry*, 56(38), 5053-5064.

Ali, M.H., Al-Saad, K.A., & Ali, C.M. (2014). Biophysical studies of the effect of high power ultrasound on the DNA solution. *Physica Medica: European Journal of Medical Physics*, 30(2), 221-227.

Ananthkrishnan, G., Xia, X., Amutha, S., Singer, S., Muruganatham, M., Yablonsky, S., Fischer, E., & Gaba, V. (2007). Ultrasonic treatment stimulates multiple shoot regeneration and explant

enlargement in recalcitrant squash cotyledon explants *in vitro*. *Plant Cell Reports*, 26(3), 267-276.

Appel, H.M., & Cocroft, R.B. (2014). Plants respond to leaf vibrations caused by insect herbivore chewing. *Oecologia*, 175(4), 1257-1266.

Ceylan, N., Kaba, S., Karaman, K., Celiker, M., Basbugan, Y., & Demir, N. (2016). Investigation of the effect of the efficiency of noise at different intensities on the DNA of the newborns. *Noise & Health*, 18(80), 7.

Chehab, E.W., Eich, E., & Braam, J. (2009). Thigmomorphogenesis: A complex plant response to mechano-stimulation. *Journal of Experimental Botany*, 60(1), 43-56.

Cuellar-Villarreal, M.D., Ortega-Hernández, E., Becerra-Moreno, A., Welte-Chanes, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D.A. (2016). Effects of ultrasound treatment and storage time on the extractability and biosynthesis of nutraceuticals in carrot (*Daucus carota*). *Postharvest Biology and Technology*, 119, 18-26.

De Bont, R., & Van Larebeke, N. (2004). Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*, 19 (3), 169-185.

De Luca, P.A., & Vallejo-Marín, M. (2013). What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 429-435.

Di Paolo, C., Müller, Y., Thalmann, B., Hollert, H., & Seiler, T.B. (2018). p53 induction and cell viability modulation by genotoxic individual chemicals and mixtures. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(5), 4012-4022.

Dikilitaş, M. (2003). *Effect of salinity, its interactions with Verticillium albo-atrum on the disease development in tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) and lucerne (Medicago sativa and M. media) plants.* (Doctoral dissertation), University of Wales, Swansea.

Dikilitaş, M., Collins, A.R., Kocuyigit, A., El Yamani, N., & Karakas, S. (2015). DNA damage in potato plants exposed to high level of NaCl stress. *Frontiers in Genetics, Conference Abstract: 11th International Comet Assay Workshop (ICAW)*, Antwerpen, Belgium.

Dikilitaş, M., Yucel, N., & Dervis, S. (2017). Production of antioxidant and oxidant metabolites in tomato plants infected with *Verticillium dahliae* under saline conditions. In: Khan, M., Khan, N., (Eds.) *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*, (pp. 315-329) Springer, Singapore.

Dikilitaş, M., Balak, V., & Karakaş, S. (2016). Ses dalgalarının tarımsal ürünlerin muhafazası ve bitki gelişimi üzerine etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20 (4), 338-355.

Dikilitaş, M., Balak, V., Şimşek, E., & Karakaş, S. (2018). Ses dalgaları ile mikroorganizmaların kontrolü. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22 (3), 431-444.

Ermolaeva, M.A., Dakhovnik, A., & Schumacher, B. (2015). Quality control mechanisms in cellular and systemic DNA damage responses. *Ageing Research Reviews*, 23, 3-11.

Frenzilli, G., Lenzi, P., Scarcelli, V., Fornai, F., Pellegrini, A., Soldani, P., & Nigro, M. (2004). Effects of Loud Noise

- Exposure on DNA Integrity in Rat Adrenal Gland. *Environmental Health Perspectives*, 112(17), 1671–1672.
- Furusawa, Y., & Kondo, T. (2017). DNA Damage Induced by Ultrasound and Cellular Responses. *Molecular Biology*, 6(2), 1-6.
- Ghosh, R., Gururani, M.A., Ponpandian, L.N., Mishra, R.C., Park, S.C., Jeong, M.J., & Bae, H. (2017). Expression analysis of sound vibration-regulated genes by touch treatment in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8(100), 1-13.
- Ghosh, R., Mishra, R.C., Choi, B., Kwon, Y.S., Bae, D.W., Park, S.C., Jeong, M.J., & Bae, H. (2016). Exposure to sound vibrations lead to transcriptomic, proteomic and hormonal changes in *arabidopsis*. *Scientific Reports*, 6, 33370.
- Hoeijmakers, J.H. (2001). Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*, 411(6835), 366-374.
- Hoeijmakers, J.H. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(15), 1475-1485.
- Husseini, G.A., El-Fayoumi, R.I., O'Neill, K.L., Rapoport, N.Y., & Pitt, W.G. (2000). DNA damage induced by micellar-delivered doxorubicin and ultrasound: comet assay study. *Cancer Letters*, 154(2), 211-216.
- Izadifar, Z., Babyn, P., & Chapman, D. (2017). Mechanical and biological effects of ultrasound: A review of present knowledge. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 43(6), 1085-1104.
- Jackson, S.P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461(7267), 1071-1078.
- Jacobo-Velázquez, D.A., González-Agüero, M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Cross-talk between signaling pathways: the link between plant secondary metabolite production and wounding stress response. *Scientific Reports*, 5(8608), 1-10.
- Kenmotmsu, T., Ogawa, N., Kubota, R., Yoshida, K., Kagawa, Y., Watanabe, Y., Yoshikawa, Y., & Yoshikawa, K. (2013). Double-strand breaks on a genomic DNA caused by ultrasound: Evaluation by single DNA observation. *International Symposium on Micro-Nanomechanics and Human Science (MHS)*, (pp. 1-3), Nagoya, Japan.
- Kubota, R., Yamashita, Y., Kenmotsu, T., Yoshikawa, Y., Yoshida, K., Watanabe, Y., Imanaka, T., & Yoshikawa, K. (2017). Double-Strand Breaks in Genome-Sized DNA Caused by Ultrasound. *ChemPhysChem*, 18(8), 959-964.
- Kumari, R., Sen, N., & Das, S. (2014). Tumour suppressor p53: understanding the molecular mechanisms inherent to cancer. *Current Science*, 107(5), 786-794.
- Lindahl, T., & Barnes, D.E. (2000). Repair of endogenous DNA damage. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology Vol. 65. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 127-134 pp.
- Ma, H., Song, T., Wang, T., & Wang, S. (2016). Influence of human p53 on plant development. *PLoS One*, 11(9), e0162840.
- Ma, Y., Ogawa, N., Yoshikawa, Y., Mori, T., Imanaka, T., Watanabe, Y., & Yoshikawa, K. (2015). Protective effect of ascorbic acid against double-strand breaks 350-358.
- in giant DNA: Marked differences among the damage induced by photo-irradiation, gamma-rays and ultrasound. *Chemical Physics Letters*, 638, 205-209.
- McKeague, M. (2017). Aptamers for DNA Damage and Repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2212.
- Miller, D.L., & Thomas, R.M. (1996). The role of cavitation in the induction of cellular DNA damage by ultrasound and lithotripter shock waves *in vitro*. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 22(5), 681-687.
- Milowska, K., & Gabryelak, T. (2007). Reactive oxygen species and DNA damage after ultrasound exposure. *Biomolecular Engineering*, 24(2), 263-267.
- Mishra, R.C., Ghosh, R., & Bae, H. (2016). Plant acoustics: in the search of a sound mechanism for sound signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 67(15), 4483-4494.
- Nawaz, S.K., & Hasnain, S. (2013). Occupational noise exposure may induce oxidative DNA damage. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22, 1547-51.
- Nowacka, M., & Wedzik, M. (2016). Effect of ultrasound treatment on microstructure, colour and carotenoid content in fresh and dried carrot tissue. *Applied Acoustics*, 103, 163-171.
- Rokhina, E.V., Lens, P., & Virkutyte, J. (2009). Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art. *Trends in Biotechnology*, 27(5), 298-306.
- Safari, M., Ghanati, F., Behmanesh, M., Hajnorouzi, A., Nahidian, B., & Mina, G. (2013). Enhancement of antioxidant enzymes activity and expression of CAT and PAL genes in hazel (*Corylus avellana* L.) cells in response to low-intensity ultrasound. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(9), 2847-2855.
- Saliev, T., Begimbetova, D., Baiskhanova, D., Abetov, D., Kairov, U., Gilman, C. P., Matkarimov, B., & Tachibana, K. (2018). Apoptotic and genotoxic effects of low-intensity ultrasound on healthy and leukemic human peripheral mononuclear blood cells. *Journal of Medical Ultrasonics*, 45(1), 31-39.
- Sancar, A., Lindsey-Boltz, L.A., Ünsal-Kaçmaz, K., & Linn, S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annual Review of Biochemistry*, 73(1), 39-85.
- Shiferaw Terefe, N., Buckow, R., & Versteeg, C. (2015). Quality-related enzymes in plant-based products: effects of novel food-processing technologies part 3: ultrasonic processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 147-158.
- Silva, J.A., & Dobránszki, J. (2014). Sonication and ultrasound: Impact on plant growth and development. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 117(2), 131-143.
- Tian, H., Gao, Z., Li, H., Zhang, B., Wang, G., Zhang, Q., Pei, D., & Zheng, J. (2015). DNA damage response—a double-edged sword in cancer prevention and cancer therapy. *Cancer Letters*, 358(1), 8-16.
- Udroiu, I., Marinaccio, J., Bedini, A., Giliberti, C., Palomba, R., & Sgura, A. (2018). Genomic damage induced by 1-MHz ultrasound *in vitro*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59(1), 60-68.
- Wang, H., Zhang, X., Teng, L., & Legerski, R.J. (2015). DNA damage checkpoint recovery and cancer development. *Experimental Cell Research*, 334(2),
- Wu, J., & Lin, L. (2002). Ultrasound-induced stress responses

- of panax ginseng cells: enzymatic browning and phenolics production. *Biotechnology Progress*, 18(4), 862-866.
- Wyman, C., & Kanaar, R. (2006). DNA double-strand break repair: all's well that ends well. *Annual Review of Genetics*, 40, 363-383.
- Xiaocheng, Y., Bochu, W., & Chuanren, D. (2003). Effects of sound stimulation on energy metabolism of *Actinidia chinensis* callus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 30(1-2), 67-72.
- Yoshida, K., Ogawa, N., Kagawa, Y., Tabata, H., Watanabe, Y., Kenmotsu, T., Yoshikawa, Y., & Yoshikawa, K. (2013). Effect of low-frequency ultrasound on double-strand breaks in giant DNA molecules. *Applied Physics Letters*, 103(6), 063705.
- Yoshiyama, K.O. (2015). SOG1: a master regulator of the DNA damage response in plants. *Genes & Genetic Systems*, 90(4), 209-216.
- Yoshiyama, K.O., Sakaguchi, K., & Kimura, S. (2013). DNA damage response in plants: conserved and variable response compared to animals. *Biology*, 2(4), 1338-1356.
- Yu, J., Engeseth, N.J., & Feng, H. (2016). High intensity ultrasound as an abiotic elicitor-effects on antioxidant capacity and overall quality of romaine lettuce. *Food and Bioprocess Technology*, 9(2), 262-273.
- Yu, T., Yang, Y., Liu, S., & Yu, H. (2009). Ultrasound increases DNA damage attributable to cisplatin in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 33(3), 355-359.