

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-68-73  
УДК: 618.14-006.6:615.2-038:615.837.3:577.29:57.085.23

Для цитирования: *Франциянц Е.М., Сурикова Е.И., Горошинская И.А., Моисеенко Т.И., Назаралиева Н.А., Потемкин Д.С., Васильченко Н.Г.* Изучение поврежденности ДНК клеток культуры HeLa методом ДНК-комет при комбинированном воздействии ультразвуком и 5-фторурацилом. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(5): 68–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-68-73.

For citation: *Frantsiyants E.M., Surikova E.I., Goroshinskaya I.A., Moiseenko T.I., Nazaralieva N.A., Potemkin D.S., Vasilchenko N.G.* Study of the DNA damage in HeLa cells exposed to the combination of ultrasound and 5-fluoruracil. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(5): 68–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-68-73.

## ИЗУЧЕНИЕ ПОВРЕЖДЕННОСТИ ДНК КЛЕТОК КУЛЬТУРЫ HeLa МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКОМ И 5-ФТОРУРАЦИЛОМ

**Е.М. Франциянц, Е.И. Сурикова, И.А. Горошинская, Т.И. Моисеенко, Н.А. Назаралиева, Д.С. Потемкин, Н.Г. Васильченко**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия  
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: sunsur2000@mail.ru

### Аннотация

Для понимания механизма эффективности локального применения 5 % геля 5-фторурацила (5-ФУ) с одновременным контактным ультразвуковым (УЗ) воздействием на опухоль у больных раком шейки матки в модельных условиях был изучен уровень поврежденности ДНК. Использована культура аденокарциномы шейки матки HeLa CCL-2, культивируемая в стандартных условиях в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % фетальной сыворотки теленка и 50 мкг/мл гентамицина. Воздействие ультразвуком осуществляли с помощью аппарата УЗТ-1.03У (Россия) в течение 10 мин с частотой 0,88 МГц и интенсивностью 0,2 Вт/см<sup>2</sup>. Доза 5-ФУ составила 0,7 мкМ, время воздействия 24 ч. Через 24 ч после начала воздействия уровень поврежденности ДНК клеток культуры исследовали методом ДНК-комет (Comet Assay) в щелочном варианте и оценивали по параметру % ДНК в хвосте кометы (% TDNA). Комбинированное воздействие УЗ/5-ФУ приводило к статистически значимому увеличению % TDNA – в 5,2 раза по сравнению с контрольной культурой, при этом % TDNA был в 1,9 раза выше показателя после воздействия только 5-ФУ и в 3,0 раза выше показателя после воздействия УЗ. Через 24 ч после комбинированного воздействия менее 50 % клеток культуры имели низкий уровень поврежденности ДНК (<10 % TDNA), то есть закончили процесс репарации и могли продолжить пролиферацию, а более 30 % клеток культуры все еще имели высокий уровень поврежденности (>30 % TDNA) и, вероятно, находились в процессе апоптоза. Таким образом, комбинированное воздействие УЗ/5-ФУ на культуру HeLa способствовало преодолению резистентности к химиопрепарату, оказывая синергический эффект.

**Ключевые слова:** поврежденность ДНК, ДНК-кометы, культура HeLa, 5-фторурацил, ультразвук, химиорезистентность, рак шейки матки.

## STUDY OF THE DNA DAMAGE IN HeLa CELLS EXPOSED TO THE COMBINATION OF ULTRASOUND AND 5-FLUORURACIL

**E.M. Frantsiyants, E.I. Surikova, I.A. Goroshinskaya, T.I. Moiseenko, N.A. Nazaralieva, D.S. Potemkin, N.G. Vasilchenko**

Rostov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia  
63, 14 Liniya Street, 344037-Rostov-on-Don. E-mail: sunsur2000@mail.ru

**Abstract**

To understand the mechanism of the effect of 5 % 5-fluorouracil (5-FU) gel used simultaneously with ultrasound (US) on a tumor in patients with cervical cancer, the level of DNA damage was studied *in vitro*. We used cervical adenocarcinoma HeLa CCL-2 cells cultured under standard conditions in RPMI-1640 medium with 10 % fetal bovine serum and 50 µg / ml gentamicin. Ultrasound exposure lasted 10 min. (frequency of 0.88 MHz and intensity of 0.2 W / cm<sup>2</sup>). The 5-FU dose was 0.7 мкМ, with the time of exposure of 24 hours. In 24 hours after starting exposure, the level of DNA damage to the cells of the culture was studied using the comet assay in the alkaline version and evaluated by the % DNA parameter in the comet tail (% TDNA). The statistical significance of the differences was evaluated using the Mann-Whitney U test and Fisher's exact test. The combined exposure to ultrasound / 5-FU led to a 5.2-fold increase in % TDNA compared to the control culture, % TDNA was 1.9 times higher after exposure to 5-FU alone and 3.0 times higher after exposure to ultrasound alone. In 24 hours after the combined exposure, less than 50 % of the culture cells had a low level of DNA damage (<10 % TDNA), i.e. completed the repair process and could continue to proliferate, and more than 30 % of the culture cells still had a high level of damage (>30 % TDNA) and were probably in the process of apoptosis. Thus, the results of the study showed that the combined effect of ultrasound / 5-FU on the HeLa culture helped to overcome resistance to chemotherapy, having a synergistic effect.

**Key words:** DNA damage, DNA comets, HeLa culture, 5-fluorouracil, ultrasound, chemoresistance, cervical cancer.

**Введение**

Одной из наиболее частых злокачественных опухолей женских половых органов является рак шейки матки (РШМ), при этом наблюдается рост заболеваемости среди женщин репродуктивного возраста – до 40 лет. Данный вид опухоли характеризуется высокой частотой местнораспространенных и первично нерезектабельных форм, долгое время он считался условно химиорезистентным [1–3]. Актуальной проблемой современной онкологической помощи таким больным является повышение эффективности противоопухолевого лечения при одновременном ослаблении токсических эффектов вводимых в организм пациента химиопрепаратов. Большое значение при этом имеет терапия больных в предоперационном периоде [4, 5]. Системная неoadъювантная полихимиотерапия, дополненная локальным применением 5 % геля 5-фторурацила (5-ФУ) и одновременным контактным ультразвуковым воздействием на опухоль, способствовала не только улучшению непосредственных результатов (увеличению частоты частичной и полной регрессии опухоли, уменьшению количества курсов неoadъювантной химиотерапии и кумулятивной дозы химиопрепаратов), но и снижению общетоксического действия противоопухолевых препаратов [6].

С целью понимания механизма эффективности такой модификации системной неoadъювантной химиотерапии больных раком шейки матки *in vitro* был изучен уровень поврежденности ДНК клеток аденокарциномы эндометрия человека (линия HeLa) при комбинированном воздействии на культуру клеток ультразвуком и 5-фторурацилом.

**Материал и методы**

В работе использована адгерентная культура клеток аденокарциномы шейки матки человека линии HeLa CCL-2, содержащей вирус папилломы человека HPV-18, 2 уровень биобезопасности. Куль-

тивирование проводили в 12-луночных планшетах в среде RPMI-1640 («Биолот», Россия) с добавлением 10 % фетальной сыворотки теленка (Termo Scientific Nucleon, США) и при концентрации гентамицина 50 мкг/мл («Биолот», Россия) в стандартных условиях в мультигазовом инкубаторе CB 150 (Binder, Германия) при 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub>, влажность 95 %. Клетки заседали в количестве 3×10<sup>5</sup> клеток на 3 мл питательной среды в лунку. При достижении 70–80 % уровня конfluence осуществляли воздействие ультразвуком в течение 10 мин, 5-ФУ в дозе 0,7 мкМ в течение 24 ч и комбинированное воздействие УЗ/5-ФУ. Ультразвуковое воздействие осуществляли с использованием аппарата УЗТ-1.03У (Россия) с частотой колебаний 0,88 МГц и интенсивностью 0,2 Вт/см<sup>2</sup> (среднечастотное низкоинтенсивное воздействие). Время озвучивания и доза 5-ФУ были подобраны в предварительных экспериментах – достижение выраженного цитотоксического эффекта при дозах значительно ниже ЛД50 [7]. Определение общего количества клеток и соотношения живых и мертвых (нежизнеспособных) клеток проводили с использованием 0,4 % раствора трипанового синего в камере Горяева.

Через 24 ч после воздействия исследовали уровень поврежденности ДНК-методом гель-электрофореза единичных клеток (метод ДНК-комет) в щелочном варианте, согласно рекомендациям [8], протокол описан в работе Тарнопольской и соавт. [9]. После трипсинизации культуры и центрифугирования готовили суспензию клеток в 1 % легкоплавкой агарозе в конечной концентрации 2×10<sup>5</sup> кл/мл. Далее готовили слайды [9]: в двух экспериментах по два слайда на каждую точку в одной постановке – всего по 8 слайдов на каждую экспериментальную точку. Затем проводили лизис в течение 1 ч при 4 °С в буфере (2,5 M NaCl, 0,1M Na<sub>2</sub>EDTA, 0,01M трис-(гидроксиметил)-аминометан, 1 % тритон X-100, pH=10). Денатурацию проводили в течение 20 мин

Таблица 1

**Динамика показателя поврежденности ДНК клеток культуры HeLa при воздействии на культуру ультразвуком и 5-фторурацилом**

Параметр	Контрольная культура – через 24 ч	Через 24 ч после воздействия 10 мин УЗ	Через 24 ч после воздействия 0,7 мкМ 5-ФУ	Через 24 ч после воздействия 10 мин УЗ + 0,7 мкМ 5-ФУ
Доля живых клеток	98 %	92,5 % <sup>1</sup>	89 % <sup>1</sup>	72,5 % <sup>1,2,3</sup>
		% TDNA		
Базальный уровень	4,95 ± 0,26	8,54 ± 1,39 <sup>1</sup>	13,44 ± 1,10 <sup>1,2</sup>	25,89 ± 2,0 <sup>1,2,3</sup>
Позитивный контроль	47,41 ± 1,92	62,0 ± 2,79 <sup>1</sup>	64,29 ± 2,2 <sup>1</sup>	70,0 ± 2,32 <sup>1,2</sup>

Примечания: <sup>1</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в контрольной культуре (p<0,05); <sup>2</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в культуре после воздействия ультразвуком (p<0,05); <sup>3</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в культуре после воздействия 5-ФУ (p<0,05).

Таблица 2

**Динамика доли ДНК-комет с различным уровнем поврежденности ДНК при воздействии на культуру HeLa ультразвуком и 5-фторурацилом**

Параметр	Контрольная культура – через 24 ч	Через 24 ч после воздействия 10 мин УЗ	Через 24 ч после воздействия 0,7 мкМ 5-ФУ	Через 24 ч после воздействия 10 мин УЗ + 0,7 мкМ 5-ФУ
Доля живых клеток	98 %	92,5 % <sup>1</sup>	89 % <sup>1</sup>	72,5 % <sup>1,2,3</sup>
Доля нежизнеспособных клеток	2 %	7,5 % <sup>1</sup>	11 % <sup>1</sup>	27,5 % <sup>1,2,3</sup>
		Доля «комет»		
<10 %	87,5 %	74,5 % <sup>1</sup>	62,5 % <sup>1</sup>	45,2 % <sup>1,2,3</sup>
% TDNA 10–30 %	10,3 %	18,3 % <sup>1</sup>	24,0 % <sup>1</sup>	23,8 % <sup>1</sup>
>30 %	2,2 %	7,2 % <sup>1</sup>	13,5 % <sup>1</sup>	31,0 % <sup>1,2,3</sup>

Примечания: <10 % TDNA – отсутствие повреждения ДНК или его низкий уровень; 10–30 % – умеренный уровень повреждения ДНК; >30 % – высокий и очень высокий уровень повреждения ДНК; <sup>1</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в контрольной культуре (p<0,05); <sup>2</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в культуре после воздействия ультразвуком (p<0,05); <sup>3</sup> – различия значимы по сравнению с показателем в культуре после воздействия 5-ФУ (p<0,05).

при 4 °С в щелочном буфере (0,3М NaOH, 0,001М Na<sub>2</sub>EDTA, pH>13), в другой порции того же буфера проводили электрофорез (4 °С, 20 мин, 300 мА, 20 В, источник тока Эльф-4 (ДНК-технология), камера BIO-RAD Sub-Cell model 96). Препараты фиксировали в 70 ° этаноле и окрашивали в растворе этидиум бромид (2 мкг/мл). В качестве позитивного контроля использовали препараты, которые перед этапом лизиса инкубировали 10 мин при 4 °С в растворе H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (150 мкМ). Микроскопирование производили на флюоресцентном микроскопе MC300FX Infinite (Micros, Австрия), возбуждающий фильтр EX490, дихроичное зеркало DM510, отсекающий фильтр BA530. Захват изображений производили цветной цифровой камерой DCM-510. Обработку микрофотографий осуществляли с специализированным программным обеспечением с алгоритмами расчета стандартных параметров ДНК-комет [10]. На каждом слайде измеряли по 100–150 комет. Уровень поврежденности ДНК оценивали по параметру % ДНК в хвосте кометы (% TDNA), вычисляя средний % TDNA для каждого слайда, затем рассчитывая среднее значение для слайдов из двух экспериментов.

Статистический анализ проводили с помощью программ Microsoft Exel 2010 и Statistica 6.0. Статистическую значимость различий оценивали с ис-

пользованием U-критерия Манна – Уитни, точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при p<0,05. Результаты представлены в виде среднего значения % TDNA ± стандартная ошибка среднего (M±SE).

**Результаты**

Через 24 ч после 10-минутного воздействия на культуру ультразвуком базальный % TDNA в клетках был статистически значимо увеличен – на 72,5 % по сравнению с уровнем в контрольной культуре – рост культуры без воздействия (p<0,05) (табл. 1). После обработки 0,7 мкМ 5-ФУ % TDNA был статистически значимо выше по сравнению как с уровнем в контрольной культуре (в 2,7 раза), так и уровнем показателя после воздействия ультразвуком – на 57,4 % (p<0,05). Комбинированное воздействие ультразвука и 5-ФУ приводило к статистически значимому увеличению показателя % TDNA – в 5,2 раза по сравнению с уровнем в контрольной культуре, при этом в данной постановке опыта % TDNA был в 1,9 раза выше величины показателя после воздействия 5-ФУ и в 3,0 раза выше показателя после воздействия только ультразвуком (p<0,05).

При анализе результатов позитивного контроля можно отметить, что в контрольной культуре об-

работка  $H_2O_2$  вызывала увеличение % TDNA в 9,6 раза по сравнению с соответствующим базальным уровнем % TDNA ( $p < 0,05$ ). После воздействия на культуру клеток ультразвуком, 5-ФУ и после комбинированного воздействия этих факторов увеличение % TDNA в позитивном контроле составило соответственно 7,2; 4,8 и 2,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Данные по доле ДНК-комет с различным уровнем поврежденности ДНК представлены в табл. 2. В контрольной культуре у 87,5 % клеток отсутствует повреждение ДНК или наблюдается его низкий уровень – до 10 % TDNA, при этом у 2,2 % клеток обнаружен высокий или очень высокий уровень поврежденности ДНК – ДНК-кометы с показателем от 30 до 50 % TDNA и больше 50 % TDNA. Через 24 ч после воздействия на культуру клеток как ультразвуком, так и 5-ФУ мы наблюдали статистически значимое уменьшение доли комет с низким уровнем поврежденности ДНК (до 10 % TDNA) – на 14,8 и 28,6 % ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контролем, что свидетельствует об уменьшении доли клеток, не получивших повреждение ДНК или закончивших к этому сроку репарацию повреждений и готовых продолжить пролиферацию. При этом существует значительное количество клеток – от 18 до 24 %, – имеющих умеренный уровень поврежденности ДНК (10–30 % TDNA), которые, вероятно, еще не закончили процесс репарации после воздействия. Кроме того, мы наблюдали статистически значимое увеличение доли комет с высоким и очень высоким уровнем поврежденности ДНК – в 3,3 раза после озвучивания культуры и в 6,1 раза после инкубации с 5-ФУ по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать об увеличении доли клеток, которые не смогут отрепарировать ДНК и, возможно, уже находятся в процессе апоптоза. Однако в целом через 24 ч после воздействия 5-ФУ более 60 % клеток культуры HeLa имели низкий уровень поврежденности ДНК или она отсутствовала вовсе, и только 13,5 % клеток культуры имели высокий уровень повреждения и могли находиться в процессе апоптоза. Таким образом, эти результаты могут свидетельствовать о резистентности большей части клеток исследованной культуры к химиопрепарату 5-ФУ.

Через 24 ч после комбинированного воздействия ультразвука и 5-ФУ доля комет с  $< 10$  % TDNA статистически значимо снижалась – на 48,3 % по сравнению с показателем в контроле, при этом в 14,1 раза увеличилась доля комет с  $> 30$  % TDNA ( $p < 0,05$ ), т.е. через 24 ч после комбинированного воздействия менее 50 % клеток культуры закончили процесс репарации ДНК и могли продолжить процесс пролиферации, а более 30 % клеток культуры все еще имели высокий уровень поврежденности ДНК и могли находиться в процессе апоптоза.

Таким образом, комбинированное воздействие ультразвука и 5-ФУ на клетки культуры HeLa

оказывало гораздо более выраженный повреждающий ДНК-эффект, чем каждое из них отдельно. Это подтверждается не только статистически значимым увеличением доли комет с высоким и очень высоким уровнем поврежденности ДНК – в 4,3 раза по сравнению с показателем после озвучивания культуры и в 2,3 раза по сравнению с показателем после инкубации с 5-ФУ ( $p < 0,05$ ), но также статистически значимым уменьшением доли комет с низким уровнем поврежденности ДНК ( $< 10$  % TDNA) – на 39,3 % по сравнению с показателем после воздействия ультразвуком и на 27,7 % по сравнению с показателем после воздействия 5-ФУ ( $p < 0,05$ ).

### Обсуждение

В целом похожие результаты были получены в работе Z. Hu et al. [11], на линиях гепатоцеллюлярной карциномы человека *in vitro* и *in vivo* было показано, что совместная обработка низкоинтенсивным ультразвуком и 5-ФУ приводила к увеличению поглощения химиопрепарата клетками, увеличению поврежденности ДНК, активации митохондриального пути апоптоза клеток и более выраженному противоопухолевому эффекту. Авторы отметили синергический эффект совместного воздействия ультразвука и 5-ФУ. Результаты нашего исследования также свидетельствуют о существовании синергизма при комбинированном использовании ультразвука и 5-ФУ в выбранных дозах, который проявлялся не только в значительном увеличении доли нежизнеспособных клеток (по результатам теста с трипановым синим), но и в значительном увеличении показателя поврежденности ДНК и доли «комет» с высоким и очень высоким уровнем поврежденности ДНК (% TDNA  $> 30$  %). Кроме того, Z. Hu et al. показали, что основным механизмом повреждения в результате воздействия ультразвуком и химиопрепаратом является усиление генерации активных форм кислорода. Это также согласуется с полученными нами результатами позитивного контроля, анализ которых свидетельствует об ослаблении клеточного ответа на воздействие  $H_2O_2$ , что может происходить за счет активации клеточной антиоксидантной системы в результате интенсификации образования активных форм кислорода под воздействием ультразвука и 5-ФУ.

Эффективность использования ультразвука низкой интенсивности в терапии злокачественных опухолей подтверждается многочисленными исследованиями *in vitro* и *in vivo* [12–15]. Физические механизмы ультразвукового воздействия создают широкий спектр биологических эффектов в ткани опухоли, способствуя усилению поглощения химиопрепарата клетками, что приводит к преодолению химиорезистентности. Однако существуют исследования, демонстрирующие различный эффект ультразвука на чувствительные и

резистентные клеточные линии в зависимости от схемы/последовательности комбинированной обработки ультразвуком и химиопрепаратом [16, 17]. В связи с этим необходимы дальнейшие экспериментальные и клинические исследования в области комбинированного использования ультразвука и химиопрепаратов, которые привели бы к пониманию механизмов усиления регрессии опухоли или возможного усиления ее агрессивности.

### Заключение

Результаты данного исследования показали, что через 24 ч после воздействия как ультразвуком, так

и 5-ФУ в культуре HeLa еще наблюдается значительное повреждение ДНК. При этом комбинированное воздействие ультразвука и 5-ФУ на клетки оказывало синергический эффект, который проявлялся в более высоком уровне поврежденности ДНК и в увеличении доли «комет» с высоким и очень высоким уровнем поврежденности ДНК, т.к. через 24 ч менее 50 % клеток культуры закончили процесс репарации ДНК и могли продолжить процесс пролиферации, а более 30 % клеток культуры все еще имели высокий уровень повреждения ДНК и могли находиться в процессе апоптоза.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Мерабшвили В.М., Бахидзе Е.В., Лалианци Э.И., Урманчиева А.Ф., Красильников И.А. Распространенность гинекологического рака и выживаемость больных. Вопросы онкологии. 2014; 60(3): 288–297. [Merabishvili V.M., Bakhidze E.V., Laliantsy E.I., Urmancheeva A.F., Krasilnikov I.A., Atroshchenko A.V. Prevalence of gynecological cancer and survival of patients. Problems in Oncology. 2014; 60(3): 288–297. (in Russian)].
2. Кит О.И., Франциянц Е.М., Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Ушакова Н.Д., Попова Н.Н., Якушин А.В. Роль плазмафереза и ксенонотерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016; 117(03). URL: <http://ej.kubagro.ru/2016/03/pdf/29.pdf>. (дата обращения: 24.01.2019). [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Men'shenina A.P., Moiseenko T.I., Ushakova N.D., Popova N.N., Yakushin A.V. Role of plasmapheresis and xenon therapy in correcting the acute effects of surgical menopause in patients with cervical cancer. Scientific Journal of Kuban State Agrarian University. 2016; 117(03). URL: <http://ej.kubagro.ru/2016/03/pdf/29.pdf>. (дата обращения: 24.01.2019). (in Russian)].
3. Аксель Е.М., Виноградова Н.Н. Статистика злокачественных новообразований женских репродуктивных органов. Онкогинекология. 2018; 27(3): 64–78. [Aksel E.M., Vinogradova N.N. Statistics of malignant neoplasms of female reproductive organs. Oncogynecology. 2018; 27(3): 64–78. (in Russian)].
4. Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Ушакова Н.Д. Возможности оптимизации предоперационной полихимиотерапии у больных инвазивным раком шейки матки. Злокачественные опухоли. 2014; (3): 30–36. [Menshenina A.P., Moiseenko T.I., Ushakova N.D. Possibilities for optimizing preoperative polychemotherapy in patients with invasive cervical cancer. Malignant tumors. 2014; (3): 30–36. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2014-3-30-36. Malignant tumors. 2014; (3): 30–36. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2014-3-30-36.
5. Меньшенина А.П., Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М., Ушакова Н.Д., Назаралиева Н.А. Сравнительная оценка различных модификаций предоперационной полихимиотерапии у больных местно-распространенным раком шейки матки. Фундаментальные исследования. 2015; (1–8): 1629–1633. [Menshenina A.P., Moiseenko T.I., Frantsiyants E.M., Ushakova N.D., Nazaralieva N.A. Comparative assessment of various modifications preoperative polychemotherapy in patients with locally advanced cervical cancer. Fundamental research. 2015; (1–8): 1629–1633. (in Russian)].
6. Моисеенко Т.И., Назаралиева Н.А., Меньшенина А.П., Непомнящая Е.М., Вереникина Е.В., Черкасова А.А., Адамян М.Л. Комбинированная сонодинамическая неoadьювантная полихимиотерапия в лечении больных раком шейки матки. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2016; 8(10): 42–48. [Moiseenko T.I., Nazaralieva N.A., Menshenina A.P., Nepomnjashaja E.M., Verenikina E.V., Cherkasova A.A., Adamyan M.L. Combined sonodynamic neoadjuvant chemotherapy in the treatment of patients with cervical cancer. Journal of scientific articles «Health and Education Millennium». 2016; 8(10): 42–48. (in Russian)].
7. Водолажский Д.И., Назаралиева Н.А., Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М., Потемкин Д.С., Васильченко Н.Г., Меньшенина А.П. Усиление цитотоксического действия 5-фторурацила при сочетании применения с ультразвуком. Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2018; 198(2): 100–105. [Vodolazhskiy D.I., Nazaralieva N.A., Moiseenko T.I., Frantsiyants E.M., Potemkin D.S., Vasilchenko N.G., Menshenina A.P. Intensification of cytotoxic activity of 5-fluorouracil in combined use with ultrasound. University news. North-caucasian region. Natural sciences series. 2018; 198(2): 100–105. (in Russian)]. doi: 10.23683/0321-3005-2018-2-100-105.
8. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет in vitro. Методические рекомендации МР 4.2 0014-10. М., 2010. 15 с. [Assessment of genotoxic properties by the method of DNA comets in vitro. Guidelines MR 4.2 0014-10. Moscow, 2010. 15 p. (in Russian)].
9. Тарнопольская О.В., Сурикова Е.И., Горошинская И.А., Тихановская Н.М. Способы оценки повреждения ДНК в лейкоцитах крови у пациенток раком молочной железы методом ДНК-комет. Клиническая и экспериментальная морфология. 2016; 18(2): 60–65. [Tarnopolskaya O.V., Surikova E.I., Goroshinskaya I.A., Tichanovskaya N.M. Evaluation of DNA damage by comet assay in blood leukocytes in patients with breast cancer. 2016; 18(2): 60–65. (in Russian)].
10. Chemeris N.K., Gapeyev A.B., Sirota N.P., Gudkova O.Y., Kornienko N.V., Tankanag A.V., Kononov I.V., Buzoverya M.E., Suvorov V.G., Logunov V.A. DNA damage in frog erythrocytes after in vitro exposure to a high peak-power pulsed electromagnetic field. Mutat Res. 2004; 558(1–2): 27–34. doi: 10.1016/j.mrgentox.2003.10.017.
11. Hu Z., Lv G., Li Y., Li E., Li H., Zhou Q., Yang B., Cao W. Enhancement of anti-tumor effects of 5-fluorouracil on hepatocellular carcinoma by low-intensity ultrasound. J Exp Clin Cancer Res. 2016 Apr 22; 35: 71. doi: 10.1186/s13046-016-0349-4.
12. Wang X., Wang Y., Wang P., Cheng X., Liu Q. Sonodynamically induced anti-tumor effect with protoporphyrin IX on hepatoma-22 solid tumor. Ultrasonics. 2011 Jul; 51(5): 539–46. doi: 10.1016/j.ultras.2010.12.001.
13. Gao Z., Zheng J., Yang B., Wang Z., Fan H., Lv Y., Li H., Jia L., Cao W. Sonodynamic therapy inhibits angiogenesis and tumor growth in a xenograft mouse model. Cancer Lett. 2013 Jul 10; 335(1): 93–9. doi: 10.1016/j.canlet.2013.02.006.
14. Wood A.K.W., Sehgal C.M. A review of low-intensity ultrasound for cancer therapy. Ultrasound Med Biol. 2015 Apr; 41(4): 905–28. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.11.019.
15. Sengupta S., Balla V.K. A review on the use of magnetic fields and ultrasound for non-invasive cancer treatment. J Adv Res. 2018 Jun 20; 14: 97–111. doi: 10.1016/j.jare.2018.06.003.
16. Yu T., Bai J., Hu K., Wang Z. Biological effects of ultrasound exposure on adriamycin-resistant and cisplatin-resistant human ovarian carcinoma cell lines in vitro. Ultrason Sonochem. 2004 Apr; 11(2): 89–94. doi: 10.1016/S1350-4177(03)00160-3.
17. Hassan M.A., Furusawa Y., Minemura M., Rapoport N., Sugiyama T., Kondo T. Ultrasound-induced new cellular mechanism involved in drug resistance. PLoS One. 2012; 7(12): e48291. doi: 10.1371/journal.pone.0048291.

Поступила/Received 24.01.19  
Принята в печать/Accepted 26.03.19

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Франциянц Елена Михайловна**, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: [super.gormon@ya.ru](mailto:super.gormon@ya.ru). SPIN-код: 9427-9928. ORCID: 0000-0003-3618-6890.

**Сурикова Екатерина Игоревна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: sunsur2000@mail.ru. SPIN-код: 2401-4115. AuthorID (РИНЦ): 301537. ORCID: 0000-0002-4318-7587.

**Горошинская Ирина Александровна**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9070-4855. ORCID: 0000-0001-6265-8500.

**Моисеенко Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения гинекологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6341-0549. ORCID: 0000-0002-9683-2164.

**Назаралиева Нелли Альбертовна**, аспирант, отделение гинекологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия).

**Потемкин Дмитрий Сергеевич**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). ORCID: 0000-0002-5221-3644

**Васильченко Никита Геннадьевич**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия).

### **Финансирование**

*Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.*

### **Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### **Благодарность**

*Мы выражаем благодарность старшему научному сотруднику лаборатории радиационной и молекулярной биологии ФГБУН «ИТЭБ» РАН Николаю Петровичу Сироте за ценные рекомендации в процессе выполнения работы.*

## ABOUT THE AUTHORS

**Elena M. Frantsiyants**, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: super.gormon@ya.ru. ORCID: 0000-0003-3618-6890.

**Ekaterina I. Surikova**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: sunsur2000@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4318-7587.

**Irina A. Goroshinskaya**, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0001-6265-8500.

**Tatiana I. Moiseenko**, MD, Professor, Senior Researcher, Department of Gynecologic Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-9683-2164.

**Nelli A. Nazaralieva**, Postgraduate, Department of Gynecologic Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

**Dmitriy S. Potemkin**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-5221-3644.

**Nikita G. Vasilchenko**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

### **Funding**

*This study required no funding*

### **Competing interests**

*Authors declare lack of the possible conflicts of interests*

### **Acknowledgements**

*We are grateful to Senior Researcher at Laboratory of Radiation and Molecular Biology (Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of Russian Academy of Sciences) Nikolai Petrovich Sirota for valuable recommendations in the process of performing the work.*