

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-114-125>

Липидный профиль плазмы крови при глиальных опухолях

Л.М. Обухова¹, Е.В. Балавина², Т.А. Веселова², И.А. Медяник¹, А.С. Гришин¹, В.Ф. Лазукин¹, М.М. Конторщикова¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 603950 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»; Россия, 603022 Нижний Новгород, пр-кт Гагарина, 23

Контакты: Лариса Михайловна Обухова ObuhovaLM@yandex.ru

Введение. При глиальных опухолях обмен липидов нарушается. Анализ компонентов липидного обмена может быть важной характеристикой молекулярно-генетического профиля глиом.

Цель исследования – определить взаимосвязь параметров липидома плазмы и иммуногистохимических характеристик глиальных опухолей и оценить клиническую значимость анализа липидного спектра крови для дооперационной оценки молекулярного профиля глиом.

Материалы и методы. Иммуногистохимическое определение уровня онкомаркеров 0-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (*MGMT*), Ki-67, p53, *IDH1* проводили с использованием клонов соответствующих антител. Состав липидов плазмы крови анализировали методом тонкослойной хроматографии.

Результаты. Уже на начальных стадиях глиомогенеза выявлены значимые различия уровней эфиров холестерина, лизофосфатидилхолинов, соотношений фосфатидилхолин (ФХ)/лизофосфатидилхолин (ЛФХ), нейтральные липиды (НЛ)/фосфолипиды (ФЛ) в плазме крови. Показаны значимые корреляционные зависимости онкомаркеров Ki-67, *MGMT* от вышеназванных параметров липидома. Соотношения ФХ/ЛФХ, НЛ/ФЛ в плазме крови пациентов были значимо ниже в группах с высоким (более 10 %) и низким (менее 10 %) митотическими индексами Ki-67 по сравнению со здоровыми людьми. Таким образом, значения параметров липидома позволяют опосредованно судить о пролиферативной активности глиом, что может быть использовано для дооперационной диагностики этих образований. Значимых различий соотношений ФХ/ЛФХ и НЛ/ФЛ в плазме крови между группами с метилированием промотора *MGMT* и его отсутствием не обнаружено. Критериев-предикторов опосредованного выявления метилирования промотора *MGMT* не выявлено.

Заключение. На основе параметров липидного обмена плазмы крови невозможно определить снижение эпигенетической активности соответствующих транскриптов и дооперационный прогноз эффективности терапии с алкилирующим компонентом.

Ключевые слова: плазма крови, липид, эфир холестерина, соотношение фосфатидилхолин/лизофосфатидилхолин, соотношение нейтральные липиды/фосфолипиды, молекулярно-генетический маркер глиомы, *IDH1*, *MGMT*, Ki-67, p53, глиома

Для цитирования: Обухова Л.М., Балавина Е.В., Веселова Т.А. и др. Липидный профиль плазмы крови при глиальных опухолях. Успехи молекулярной онкологии 2024;11(3):114–25.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-114-125>

Blood plasma lipid profile in glial tumors

L.M. Obukhova¹, E.V. Balavina², T.A. Veselova², I.A. Medyanik¹, A.S. Grishin¹, V.F. Lazukin¹, M.M. Kontorshchikova¹

¹Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 10/1 Minina i Pozharskogo Ploshchad', Nizhny Novgorod 603950, Russia;

²National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; 23 Gagarina Prospekt, Nizhny Novgorod 603022, Russia

Contacts: Larisa Mikhailovna Obukhova ObuhovaLM@yandex.ru

Introduction. In glial tumors, lipid metabolism becomes abnormal. Analysis of lipid metabolism components can be an important characteristic of molecular and genetic profile of gliomas.

Aim. To determine the correlation between plasma lipidome profile and immunohistochemical characteristics of glial tumors and to evaluate clinical significance of blood lipid spectrum analysis in preoperative assessment of molecular profile of gliomas.

Materials and methods. Immunohistochemical measurement of O-6-methylguanine-DNA-methyl transferase (*MGMT*), Ki-67, p53, *IDH1* tumor markers was performed using the corresponding antibody clones. Composition of plasma lipids was assessed using thin layer chromatography.

Results. Even at the early stages of gliomagenesis, significant differences in cholesterol esters, lysophosphatidylcholines, phosphatidylcholine (PC)/lysophosphatidylcholine (LPC) ratio, neutral lipids (NL)/phospholipids (PL) in the blood were observed. Significant correlations between Ki-67, *MGMT* tumor markers and the above-mentioned lipidome parameters were found. The PC/LPC, NL/PL ratios in the blood of the patients from the groups with higher (above 10 %) and lower (below 10 %) Ki-67 mitotic indexes compared to healthy individuals were significantly lower. Therefore, the values of lipidome parameters allow to indirectly assess proliferative activity of gliomas which can be used for preoperative diagnosis of these tumors. No significant differences in the plasma PC/LPC and NL/PL ratios were found between the groups with *MGMT* promoter methylation and without it. No indirect predictor criteria for *MGMT* were found.

Conclusion. It is impossible to determine decreased epigenetic activity of corresponding transcripts and preoperative prognosis for alkylating agent therapy based on the parameters of plasma lipid metabolism.

Keywords: blood plasma, lipid, cholesterol ester, phosphatidylcholine/lysophosphatidylcholine ratio, and neutral lipids/phospholipids ratio, molecular genetic marker of glioma, *IDH1*, *MGMT*, Ki-67, p53, glioma

For citation: Obukhova L.M., Balavina E.V., Veselova T.A. et al. Blood plasma lipid profile in glial tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2024;11(3):114–25. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-114-125>

ВВЕДЕНИЕ

С целью диагностики глиальных новообразований и прогнозирования их поведения в практическом здравоохранении активно исследуют ряд молекулярных маркеров с использованием иммуногистохимического анализа. Наиболее значимыми из них считаются мутации в генах *IDH1* и *IDH2*, *TP53* с aberrантной экспрессией белка p53, метилирование промотора *MGMT*, а также маркер пролиферации клеток Ki-67 [1]. Молекулярные исследования проводят на операционном материале спустя значительное время после хирургического вмешательства. Возможность определения фенотипа опухоли с соответствующим молекулярным профилем до начала операции позволит спрогнозировать поведение новообразования, скорректировать тактику лечения, избежать ненужных хирургических вмешательств у пациентов с труднодоступной локализацией опухоли и предупредить возможные осложнения.

Для совершенствования диагностики и разработки более эффективных методов лечения исследования последних десятилетий были сосредоточены на изучении молекулярных aberrаций не только в геноме, но и в метаболизме [2]. Опухолевые клетки, включая клетки глиомы, могут переключаться на липидный метаболизм в результате активации липогенных ферментов [3]. Известно, что клетки глиом демонстрируют повышенный уровень общего содержания липидов по сравнению с немалигнизированными тканями [4, 5]. В связи с наличием гематоэнцефалического барьера липиды как гидрофобные соединения, способные к диффузии через мембраны клеток эндотелия, могут являться потенциальными биомаркерами различных заболеваний головного мозга,

в том числе глиом [6]. Однако работ, посвященных использованию отдельных фракций липидов плазмы в комплексной диагностике глиом, не достаточно.

Цель исследования – проанализировать клиническую значимость липидного спектра крови и взаимосвязь параметров липидного обмена и иммуногистохимических характеристик глиальных опухолей для дооперационной оценки молекулярного профиля глиом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы плазмы крови и послеоперационного материала 21 пациента с глиомами в возрасте 39–61 года до проведения противоопухолевой терапии, которым выполнено микрохирургическое удаление опухоли под навигационным и нейрофизиологическим мониторингом с интраоперационным пробуждением и контролем речевой функции. Клинический диагноз пациентов подтвержден данными гистологического исследования в соответствии с классификацией опухолей центральной нервной системы Всемирной организации здравоохранения [1]: опухоли G₁ (n = 1), G₂ (n = 6), G₃ (n = 4), G₄ (n = 10). Контролем служила плазма практически здоровых доноров сопоставимого возраста (6 образцов) (табл. 1).

Иммуногистохимическое исследование маркеров глиальных опухолей. Послеоперационный материал фиксировали в 10 % растворе формалина. До окрашивания осуществляли стандартную депарафинизацию и демаскировку.

Использовали следующие клоны антител: Anti-IDH1 R132H (Dianova International, Испания), anti-MGMT (клон EP337) (артикул AC-0307RUO;

Таблица 1. Характеристика пациентов в зависимости от степени анаплазии глиом

Table 1. Characteristics of the patients depending on the level of glioma anaplasia

Показатель Characteristic	Контроль (n = 6) Control (n = 6)	Глиома G ₁ (n = 1) Glioma G ₁ (n = 1)	Глиома G ₂ (n = 6) Glioma G ₂ (n = 6)	Глиома G ₃ (n = 4) Glioma G ₃ (n = 4)	Глиома G ₄ (n = 10) Glioma G ₄ (n = 10)
Возраст, n: Age, n:					
<60	4	1	2	3	3
≥60	2	—	4	1	7
Пол, n: Sex, n:					
мужской male	4	—	2	2	7
женский female	2	1	4	2	3
Средний объем опухоли, см ³ Mean tumor volume, cm ³	—	121,9	99,0	66,6	89,7
Средний индекс массы тела, кг/м ² Mean body mass index, kg/m ²	24,25	23,7	25,8	24,0	26,3
Число курящих пациентов в группе, % Number of smoking patients in the group, %	16,67	0	16,6	0	20,0

Epitomics, США), Anti-p53 (клон DO-7) (Leica Biosystems, Германия), антитела Ki-67 (клон SP6) (Thermo Scientific, США). О наличии мутации *IDH1* свидетельствовало окрашивание цитоплазмы в опухолевых клетках в коричневый цвет. Уровень маркеров *MGMT*, Ki-67 и p53 оценивали по доле положительно ядерного окрашивания с умеренной или высокой выраженностью. Подсчет Ki-67 и *MGMT* осуществляли в 10 полях зрения при увеличении ×400. Значения результатов выражались как доля окрашенных клеток в 10 полях зрения. При исследовании метилирования промотора *MGMT* ядерное окрашивание менее чем в 10 % клеток считалось положительным результатом. Примеры иммуногистохимической экспрессии маркеров показаны на рис. 1–4.

Исследование состава липидов плазмы крови. Липиды экстрагировали из плазмы крови с использованием смеси хлороформа с метанолом в соотношении 2:1 и применяли для дальнейшего анализа методом тонкослойной хроматографии [7]. Полученные экстракты липидов последовательно фракционировали в системах хлороформ – метанол – вода – н-гептан в соотношении 65:25:4:9 и н-гептан – диэтиловый эфир – уксусная кислота в соотношении 95:4:1 с использованием пластин Sorbfil («ИМИД», Россия) [8]. Идентифицирование отдельных фракций липидов проводили после обработки хроматограмм 10 % раствором фосфорномолибденовой кислоты в этаноле с использованием липидов-свидетелей (Avanti, США). Относительное содержание каждой фракции (% суммы

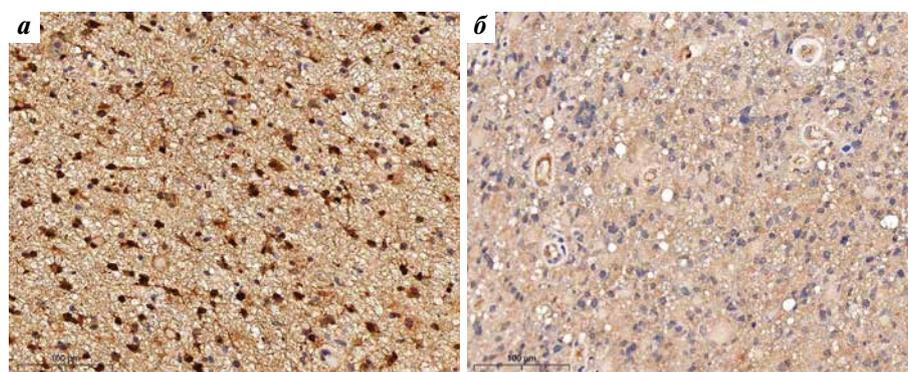


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование *IDH1*: а – выраженная цитоплазматическая экспрессия *IDH* в глиоме G₂; б – отсутствие экспрессии *IDH* в глиоме G₄, ×200. Шкала – 100 мкм

Fig. 1. *IDH1* immunohistochemical study: а – marked cytoplasmic *IDH* expression in G₂ glioma; б – absence of *IDH* expression in G₄ glioma, ×200. Scale: 100 μm

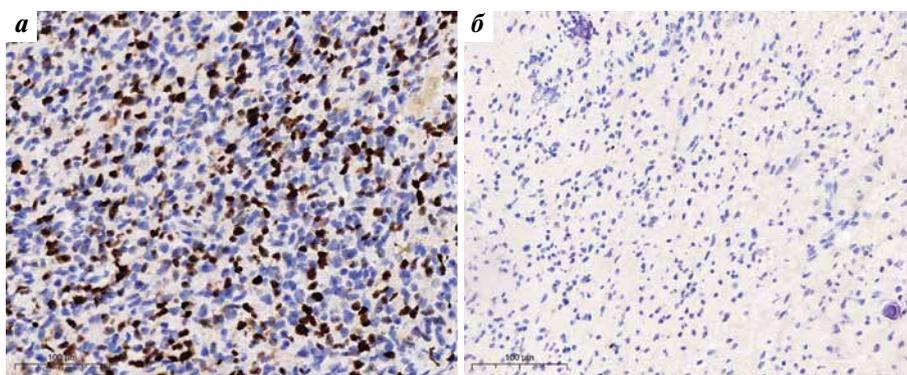


Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование MGMT: а – выраженная ядерная экспрессия MGMT (отсутствие метилирования промотора) в глиоме G_4 ; б – отсутствие экспрессии MGMT (наличие метилирования промотора) в глиоме G_3 , $\times 200$. Шкала – 100 мкм
Fig. 2. MGMT immunohistochemical study: а – marked nuclear MGMT expression (absence of promotor methylation) in G_4 glioma; б – absence of MGMT expression (presence of promotor methylation) in G_3 glioma, $\times 200$. Scale: 100 μ m

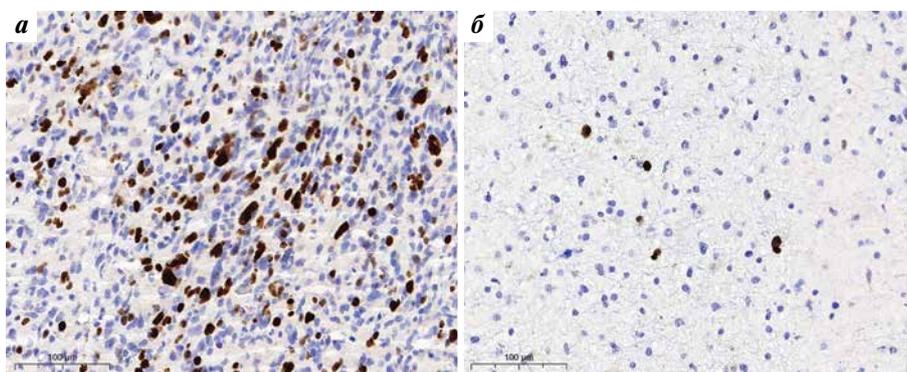


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование митотического индекса Ki-67: а – высокий уровень экспрессии Ki-67 в глиоме G_4 ; б – низкий уровень экспрессии Ki-67 в глиоме G_2 , $\times 200$. Шкала – 100 мкм
Fig. 3. Ki-67 mitotic index immunohistochemical study: а – high level of Ki-67 expression in G_4 glioma; б – low level of Ki-67 expression in G_2 glioma, $\times 200$. Scale: 100 μ m

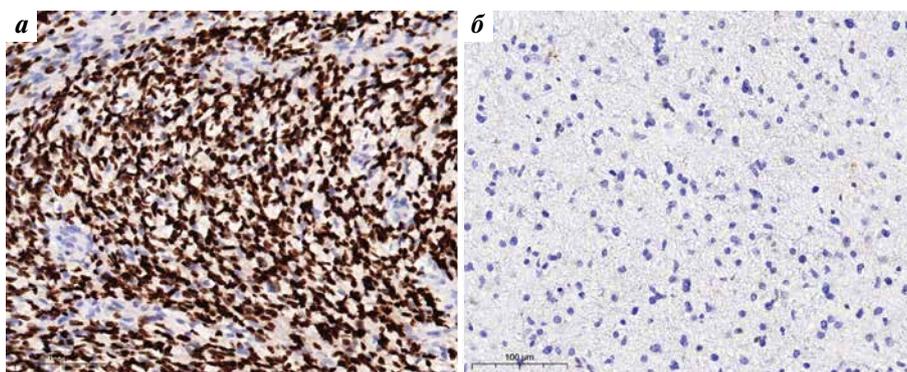


Рис. 4. Иммуногистохимическое исследование p53: а – выраженная ядерная экспрессия p53 в глиоме G_4 ; б – отсутствие экспрессии p53 в глиоме G_2 , $\times 200$. Шкала – 100 мкм
Fig. 4. p53 immunohistochemical study: а – marked nuclear p53 expression in G_4 glioma; б – absence of p53 expression in G_2 glioma, $\times 200$. Scale: 100 μ m

липидов) оценивали с помощью программы ImageJ (<https://imagej.net/ij/index.html>).

Оценка интенсивности свободнорадикального окисления. Интенсивность свободнорадикального процесса измеряли с помощью программного комплекса

биохемилюминесцентного анализа БХЛ-07 («Медозонс», Россия). Оценку свободнорадикальной активности проводили методом индуцированной биохемилюминесценции по интенсивности максимальной вспышки (I_{\max}), отражающей способность био-

логического объекта к свободнорадикальному окислению [9].

Статистический анализ данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета AnalystSoft Inc., StatPlus, версия 6 (www.analystsoft.com/ru/). Статистические критерии выбирали с учетом распределения Гаусса по критериям Колмогорова–Смирнова/Лиллифорса и Шапиро–Уилка. Поскольку распределение данных отличалось от нормального, результаты представлены в виде медианы и 25-го и 75-го квартилей (Q_{25} – Q_{75}). Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Для всех критериев значения считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для маркеров *IDH*, *MGMT*, p53 использовался рангово-бисериальный коэффициент корреляции (Rrb), так как полученные результаты представлены в номинальной дихотомической шкале (да/нет), а параметры липидного спектра плазмы крови измеряли в порядковой шкале. Для анализа взаимосвязи маркера Ki-67 и показателей липидного спектра плазмы крови применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена для непараметрических данных с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости, поскольку митотический индекс Ki-67 имеет численное выражение.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменение липидного спектра плазмы крови пациентов с глиомами. Статистически значимое увеличение уровня триглицеридов в плазме крови наблюдалось только на поздних стадиях глиальных опухолей: на 25 и 55 % при глиомах G₃ и G₄ соответственно (см. табл. 2).

Значимое снижение содержания фосфолипидов (ФЛ) плазмы крови также выявлено при глиомах с высокой степенью анаплазии: фосфатидилэтаноламинов – на 46 и 50 % при глиомах G₃ и G₄ соответственно; фосфатидилхолина (ФХ) – на 54 % только при глиомах G₄, сфингомиелинов – на 54 и 58 % при глиомах G₃ и G₄ соответственно (см. табл. 2). Однако задачей данной работы было выявление параметров липидного обмена, уровень которых изменялся бы при всех степенях анаплазии, поскольку именно эти показатели могут быть использованы для ранней дооперационной диагностики глиом. Такими параметрами липидного спектра плазмы крови стали холестерол и его эфиры, лизофосфатидилхолин (ЛФХ) и соотношения ФХ/ЛФХ, нейтральные липиды (НЛ)/ФЛ, а также свободнорадикальная активность (см. табл. 2).

Содержание холестерола в плазме крови было статистически значимо выше по сравнению с практически здоровыми людьми у пациентов с глиомами G_{1,2} на 23 %, G₃ – на 32 %, G₄ – на 54 %. Содержание эфиров

Таблица 2. Параметры липидного обмена крови в зависимости от степени анаплазии глиом

Table 2. Blood lipid metabolism parameters of gliomas with varying degree of anaplasia

Показатель Parameter	Степень анаплазии Degree of anaplasia	Контроль (n = 6) Control (n = 6)	Глиома G _{1,2} (n = 7) Glioma G _{1,2} (n = 7)	Глиома G ₃ (n = 4) Glioma G ₃ (n = 4)	Глиома G ₄ (n = 10) Glioma G ₄ (n = 10)
Эфиры холестерола Cholesterol esters	Медиана, % (Q_{25} – Q_{75}) Median, % (Q_{25} – Q_{75})	28,1 (27,8; 31,3)	21,6 (20,4; 26,3)	31,7 (31,3; 33,1)	33,2 (31,7; 35,4)
	95 % ДИ 95 % confidence interval (CI)	27,6–31,1	19,8–26,0	31,1–32,7	31,4–35,2
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	$p = 0,002^*$	$p = 0,046^*$	$p = 0,003^*$
Триглицериды Triglycerides	Медиана, % (Q_{25} – Q_{75}) Median, % (Q_{25} – Q_{75})	15,9 (12,8; 18,5)	16,0 (14,6; 17,8)	19,8 (18,7; 23,8)	21,4 (20,5; 24,0)
	95 % ДИ 95 % CI	13,5–18,4	13,0–19,4	19,3–23,1	21,5–23,6
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	$p = 1,000$	$p = 0,041^*$	$p = 0,03^*$
Холестерол Cholesterol	Медиана, % (Q_{25} – Q_{75}) Median, % (Q_{25} – Q_{75})	34,3 (30,0; 38,4)	42,2 (39,2; 44,1)	45,3 (40,2; 51,0)	52,8 (41,0; 59,8)
	95 % ДИ 95 % CI	29,5–38,3	40,7–46,6	39,2–51,8	38,9–60,5
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	$p = 0,043^*$	$p = 0,008^*$	$p = 0,003^*$

Окончание табл. 2

End of table 2

Показатель Parameter	Степень анаплазии Degree of anaplasia	Контроль (n = 6) Control (n = 6)	Глиома G _{1,2} (n = 7) Glioma G _{1,2} (n = 7)	Глиома G ₃ (n = 4) Glioma G ₃ (n = 4)	Глиома G ₄ (n = 10) Glioma G ₄ (n = 10)
Фосатидилэтаноламины Phosatidylethanolamine	Медиана, % (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median, % (Q ₂₅ –Q ₇₅)	4,23 (2,72; 5,61)	3,48 (1,79; 5,11)	2,30 (2,22; 2,34)	2,13 (2,06; 2,49)
	95 % ДИ 95 % CI	3,0–5,4	1,5–5,6	2,2–2,4	1,5–2,6
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,519	p = 0,042*	p = 0,013*
Фосфатидилхолины Phosphatidylcholines	Медиана, % (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median, % (Q ₂₅ –Q ₇₅)	11,6 (9,3; 14,4)	16,4 (9,8; 19,9)	10,5 (7,3; 13,6)	5,4 (2,5; 10,1)
	95 % ДИ 95 % CI	8,9–14,3	9,7–21,8	5,2–15,8	1,2–11,8
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,197	p = 0,497	p = 0,039*
Сфингомиелины Sphingomyelins	Медиана, % (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median, % (Q ₂₅ –Q ₇₅)	3,5 (2,2; 4,8)	3,1 (2,6; 4,1)	1,6 (1,6; 2,0)	1,5 (1,4; 1,8)
	95 % ДИ 95 % CI	2,1–5,3	2,0–4,6	1,3–2,1	1,2–2,0
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,699	p = 0,046*	p = 0,042*
Лизофосфатидилхолин Lysophosphatidylcholines	Медиана, % (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median, % (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,2 (0,4; 2,1)	2,9 (1,5; 4,4)	2,4 (2,2; 3,1)	2,5 (1,9; 3,7)
	95 % ДИ 95 % CI	0,6–2,1	1,3–4,8	2,1–3,4	1,5–4,1
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,039*	p = 0,042*	p = 0,039*
Соотношение ней- тральные липиды/ фосфолипиды Neutral lipids/phospholipids ratio	Медиана (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median (Q ₂₅ –Q ₇₅)	4,3 (4,2; 4,4)	1,9 (1,8; 2,1)	1,8 (1,5; 2,0)	1,9 (1,4; 4,4)
	95 % ДИ 95 % CI	4,2–4,5	1,7–2,2	1,4–2,2	0,7–4,3
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,003*	p = 0,008*	p = 0,045*
Соотношение фосфати- дилхолин/лизофосфа- тидилхолин Phosphatidylcholines/ lysophosphatidylcholines ratio	Медиана (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median (Q ₂₅ –Q ₇₅)	11,9 (11,0; 13,9)	4,8 (3,9; 9,2)	4,0 (3,4; 4,3)	2,7 (0,9; 4,3)
	95 % ДИ 95 % CI	10,4–13,5	2,4–10,2	3,05–4,8	0,1–4,9
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,022*	p = 0,008*	p = 0,003*
I _{max}	Медиана, мВ (Q ₂₅ –Q ₇₅) Median, mV (Q ₂₅ –Q ₇₅)	144,0 (106,0; 149,0)	214,0 (162,5; 309,0)	308,0 (297,3; 325,5)	383,5; 229,0; 577,3
	95 % ДИ 95 % CI	111,6–165,3	125,2–338,8	285,8–334,7	240,7–632,1
	U-критерий Манна–Уитни Mann–Whitney U-test	–	p = 0,045*	p = 0,008*	p = 0,003*

*Различия с контролем (практически здоровые люди) статистически значимы.

Примечание. I_{max} – интенсивность максимальной вспышки; ДИ – доверительный интервал; Q₂₅ – 25-й квартиль; Q₇₅ – 75-й квартиль.

*Differences compared to control (practically healthy individuals) are statistically significant.

Note. I_{max} – maximum flash intensity; CI – confidence interval; Q₂₅ – 25th quartile; Q₇₅ – 75th quartile.

холестерола в плазме крови снижалось на начальных стадиях глиальных опухолей на 23 %, но было значимо больше, чем у больных контрольной группы при III (на 13 %) и IV (на 18 %) степени анаплазии (см. табл. 2).

Статистически значимое увеличение уровня ЛФХ в плазме крови по сравнению с контрольной группой выявлено уже на начальных стадиях глиоматоза: на 149, 105 и 113 % при глиомах G_{1,2}, G₃ и G₄ соответственно (см. табл. 2).

Характеристика липидома плазмы крови в зависимости от иммуногистохимического профиля глиом. Для выявления взаимосвязей между параметрами липидома крови и иммуногистохимическими маркерами глиом рассчитаны рангово-бисериальный коэффициент корреляции для *IDH*, *MGMT*, *p53* (Rrb) и коэффициент Спирмена для *Ki-67* (Rho) (табл. 3). Значимые взаимосвязи выявлены только для *Ki-67* и *MGMT*.

Для подтверждения диагностической значимости выявленных параметров липидного обмена плазмы крови

данные были разделены по группам в зависимости от иммуногистохимического профиля опухоли по соответствующему маркеру. На рис. 5–7 представлены только данные, значимо различающиеся между группами.

Содержание эфиров холестерина в плазме крови при высоком митотическом индексе *Ki-67* (>10 %) было значимо выше, чем при низком (<10 %) (см. рис. 5).

Если содержание эфиров холестерина в плазме крови больных с глиомами с низким митотическим индексом *Ki-67* значимо отличалось от такового у здоровых людей (U-критерий Манна–Уитни; $p < 0,05$), то между пациентами с высоким индексом *Ki-67* и здоровыми людьми различий по этому показателю обнаружено не было ($p > 0,05$).

Значимые различия между группами здоровых людей, пациентов с низким и высоким митотическими индексами *Ki-67* выявлены только для соотношений НЛ/ФЛ ($p < 0,05$) и ФХ/ЛФХ ($p < 0,05$) в плазме крови (см. рис. 6, 7).

Таблица 3. Корреляция между иммуногистохимическими маркерами глиом и параметрами липидного спектра плазмы крови

Table 3. Correlations between immunohistochemical markers of gliomas and parameters of the lipid spectrum of blood plasma

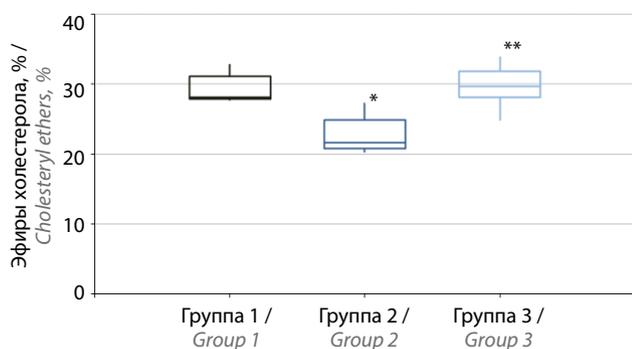
Параметр липидного спектра Parameter of the lipid spectrum	Маркер опухолевого роста Tumor growth marker			
	<i>IDH</i> (Rrb)	<i>Ki-67</i> (Rho)	<i>MGMT</i> (Rrb)	<i>p53</i> (Rrb)
Эфиры холестерина Cholesterol esters	–0,525; 0,55	0,705*; 0,005	–0,714**; 0,67	0,150; 0,67
Триглицериды Triglycerides	–0,425; 0,55	0,543**; 0,045	–0,857**; 0,67	–0,050; 0,67
Холестерол Cholesterol	–0,175; 0,55	0,497; 0,071	–0,571; 0,67	0,050; 0,67
Фосатидилэтанолламины Phosphatidylethanolamines	–0,025; 0,55	0,319; 0,266	–0,571; 0,67	–0,350; 0,67
Фосфатидилхолины Phosphatidylcholines	0,675**; 0,55	–0,253; 0,383	0,857**; 0,67	0,450; 0,67
Сфингомиелины Sphingomyelins	–0,225; 0,55	0,228; 0,432	–0,857**; 0,67	0,050; 0,67
Лизофосфатидилхолины Lysophosphatidylcholines	–0,125; 0,55	0,217; 0,456	–0,429; 0,67	–0,350; 0,67
Соотношение нейтральные липиды/фосфолипиды Neutral lipids/phospholipids ratio	0,438; 0,58	–0,017; 0,957	1,000**; 0,71	0,600; 0,67
Соотношение фосфатидилхолин/лизофосфатидилхолин Phosphatidylcholines/lysophosphatidylcholines ratio	0,5; 0,55	–0,567**; 0,034	0,714**; 0,67	0,700**; 0,67
I_{max}	–0,45; 0,55	0,363; 0,202	–0,286; 0,67	0,000; 0,67

*Статистически высокозначимые корреляционные взаимосвязи ($p < 0,01$). **Статистически значимые корреляционные взаимосвязи ($p < 0,05$).

Примечание. Rho – коэффициент ранговой корреляции Спирмена (для маркера клеточной пролиферации *Ki-67*); Rrb – рангово-бисериальный коэффициент корреляции (для маркеров *IDH*, *MGMT*, *p53*); I_{max} – интенсивность максимальной вспышки.

*Statistically highly significant correlations ($p < 0.01$). **Statistically significant correlations ($p < 0.05$).

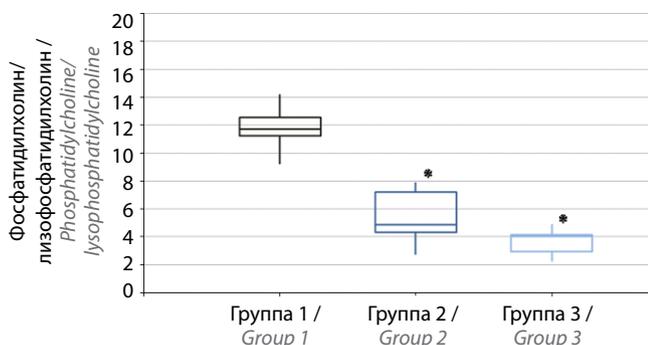
Note. Rho – Spearman's rank correlation coefficient (for cell proliferation marker *Ki-67*); Rrb – rank-biserial correlation coefficient (for *IDH*, *MGMT*, *p53* markers); I_{max} – maximum flash intensity.



- Группа 1 – контроль (n = 6) / Group 1 – control (n = 6)
- Группа 2 – низкого митотического индекса Ki-67 (n = 7) / Group 2 – low Ki-67 mitotic index (n = 7)
- Группа 3 – высокого митотического индекса Ki-67 (n = 14) / Group 3 – high Ki-67 mitotic index (n = 14)

Рис. 5. Содержание эфиров холестерина в плазме крови в зависимости от величины митотического индекса Ki-67. Есть значимые различия по данному параметру между группами с низким и высоким митотическими индексами Ki-67 (U-критерий Манна–Уитни; $p < 0,05$). *Статистически значимые различия уровня эфиров холестерина по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). **Статистически значимые различия уровня в группах с низким и высоким митотическим индексом Ki-67 ($p < 0,05$)

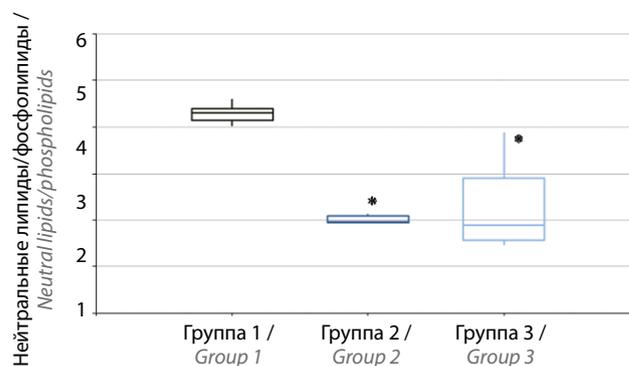
Fig. 5. Level of cholesteryl ethers in the plasma depending on the value of Ki-67 mitotic index. There are significant differences in this parameter between the groups with low and high Ki-67 mitotic indices (Mann–Whitney U-test; $p < 0.05$). *Statistically significant differences in cholesteryl ether levels compared to the control group ($p < 0.05$). **Statistically significant differences between the groups with high and low Ki-67 mitotic index ($p < 0.05$)



- Группа 1 – контроль (n = 6) / Group 1 – control (n = 6)
- Группа 2 – низкого митотического индекса Ki-67 (n = 7) / Group 2 – low Ki-67 mitotic index (n = 7)
- Группа 3 – высокого митотического индекса Ki-67 (n = 14) / Group 3 – high Ki-67 mitotic index (n = 14)

Рис. 7. Соотношение фосфатидилхолин/лизофосфатидилхолин в плазме крови в зависимости от величины митотического индекса Ki-67. Значимых различий по данному показателю между группами с низким и высоким митотическими индексами Ki-67 не выявлено (U-критерий Манна–Уитни; $p > 0,05$). *Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

Fig. 7. Phosphatidylcholine/lysophosphatidylcholine ratio in the plasma depending on the value of Ki-67 mitotic index. There are no significant differences in this parameter between the groups with low and high Ki-67 mitotic indices (Mann–Whitney U-test; $p > 0.05$). *Statistically significant differences compared to the control group ($p < 0.05$)



- Группа 1 – контроль (n = 6) / Group 1 – control (n = 6)
- Группа 2 – низкого митотического индекса Ki-67 (n = 7) / Group 2 – low Ki-67 mitotic index (n = 7)
- Группа 3 – высокого митотического индекса Ki-67 (n = 14) / Group 3 – high Ki-67 mitotic index (n = 14)

Рис. 6. Соотношение нейтральные липиды/фосфолипиды в плазме крови в зависимости от величины митотического индекса Ki-67. Значимых различий по данному показателю между группами с низким и высоким митотическими индексами Ki-67 не выявлено (U-критерий Манна–Уитни; $p > 0,05$). *Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

Fig. 6. Neutral lipids/phospholipids ratio in the plasma depending on the value of Ki-67 mitotic index. There are no significant differences in this parameter between the groups with low and high Ki-67 mitotic indices (Mann–Whitney U-test; $p > 0.05$). *Statistically significant differences compared to the control group ($p < 0.05$)

При этом значимых различий между группами с низким и высоким митотическими индексами Ki-67 для соотношений ФХ/ЛФХ и НЛ/ФЛ не выявлено (см. рис. 6, 7).

Значимые различия в метилировании промотора гена *MGMT* с контрольной группой в зависимости выявлены только для соотношений ФХ/ЛФХ и НЛ/ФЛ в плазме крови. В группе с метилированным промотором (фермент не экспрессируется) соотношение ФХ/ЛФХ в плазме крови было значимо ниже (U-критерий Манна–Уитни; $p < 0,05$), чем у практически здоровых людей. Между группой пациентов с неметилированным промотором гена *MGMT* и контрольной группой различий по данному параметру выявлено не было ($p > 0,05$). Не обнаружено значимых различий по этому показателю и между группами больных с метилированием *MGMT* и его отсутствием (U-критерий Манна–Уитни; $p > 0,05$). Соотношение ФХ/ЛФХ в плазме крови пациентов с глиальными опухолями было значимо ниже как в группе метилирования промотора *MGMT* ($p < 0,05$), так и в группе без его него (фермент O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза экспрессируется) (U-критерий Манна–Уитни; $p < 0,05$), чем у практически здоровых людей. Между группами метилирования *MGMT* и без него по данному параметру значимых различий не выявлено (U-критерий Манна–Уитни; $p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

С учетом небольшого размера выборки далее мы будем говорить о предварительных результатах, которые указывают на определенные тенденции. Однако увеличение объема выборки не может отменить найденные статистически значимые корреляции. Это связано с тем, что критический уровень любого критерия для принятия/непринятия нулевой гипотезы об относительной статистической значимости результата будет понижаться с увеличением выборки [10].

Ткань глиальных опухолей производит избыточное количество холестерина, поддерживающего их рост и пролиферацию [11, 12]. Известно, что клеткам этих опухолей свойственен аномальный метаболизм холестерина: активация его синтеза, поглощения экзогенного холестерина посредством липопротеиновых рецепторов и активная этерификация, опосредованная высокой активностью холестеролацилтрансферазы [13]. Избыточный холестерол преобразуется и сохраняется в форме эфира холестерина с помощью ацил-КоА-холестеролацилтрансферазы (стерол-О-ацилтрансферазы) [14]. Этот дисбаланс отражается в увеличении количества внутриклеточных эфиров холестерина в клетках глиобластом. Эти клетки накапливают липидные капли для удовлетворения своих потребностей в быстром росте [15]. Данные капли представляют собой субклеточные органеллы, которые хранят большое количество НЛ, триглицеридов и/или эфиров холестерина [16]. Накопление липидных капель коррелирует с прогрессированием глиобластом и низкими показателями выживаемости [17].

Расположенный в эндотелиальных клетках капилляров головного мозга гематоэнцефалический барьер обладает специфическими свойствами жесткого контроля, однако они могут быть изменены при патологии [18]. При опухолях головного мозга происходит модификация физических и метаболических свойств гематоэнцефалического барьера, который переименовывают в гематоэнцефалический опухолевый барьер [19]. По мере прогрессирования глиального роста проницаемость этого барьера возрастает [20]. В связи с этим липидные перестройки в глиомах могли послужить причиной накопления в плазме крови пациентов холестерина и его эфиров, триглицеридов, лизофосфолипидов и изменения соотношений ФХ/ЛФХ, НЛ/ФЛ.

Данные об изменениях липидного профиля плазмы при различных типах опухолей, в том числе глиомах, довольно противоречивы. Однако есть предположение, что накопление холестерина и его эфиров в сыворотке крови может служить биомаркером злокачественных опухолей головного мозга [21]. В работе Y. Kou и соавт. [17, 22, 23] и других исследованиях показано, что потенциальными липидными биомаркерами глиом могут быть триглицериды, ФХ и ЛФХ; изменения уровней этих липидов в плазме отражают нарушение метаболизма липидов в тканях глиом (табл. 4).

Митотический индекс Ki-67 активно используется в диагностике глиальных новообразований. Ki-67 является ядерным белком, принимающим участие в синтезе рибосомной РНК [24]. Его экспрессия отражает выраженность пролиферативной активности клеток. В глиальных новообразованиях индекс митотической активности Ki-67 используется для дифференциальной диагностики опухолей G_{1-2} и G_{3-4} [25, 26]. Увеличение его значения, как правило, коррелирует со степенью злокачественности [27, 28].

Таким образом, выявленная положительная корреляция между уровнями триглицеридов и эфиров холестерина в плазме крови и иммуногистохимического маркера активности пролиферации клеток ядерного белка Ki-67 с большой долей вероятности обусловлено увеличением активности ацил-КоА-холестеролацилтрансферазы и повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера при глиобластомах.

Фосфатидилхолины также играют большую роль в развитии глиом [29]. Основным путем деградации ФХ в глиобластомах является образование ЛФХ [30]. В общебиологическом плане развитию патологического процесса в значительной степени способствуют изменения количества ЛФХ и сфингомиелинов и соотношения ФХ/ЛФХ, поскольку эти показатели отражают нарушение функционирования клеточных мембран под действием повреждающего фактора.

Метаболизм мембран во многом определяется интенсивностью процессов перекисного окисления липидов, активация которого обусловлена свободнорадикальными процессами. В представленном исследовании мы продемонстрировали повышение более чем в 1,5 раза свободнорадикальной активности уже на начальной стадии глиомагенеза (см. табл. 2), при этом с увеличением степени анаплазии I_{max} возрастает все более значительно. При активации этого процесса наблюдаются увеличение активности фосфолипазы A2 и превращение ФХ в ЛФХ. Соответственно будет изменяться и количественное соотношение этих фракций.

При назначении химиотерапии наиболее значимым предиктивным маркером является метилирование промотора *MGMT* [31]. O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза осуществляет репарацию ДНК [32]. Присоединение метильной группы к промотору ограничивает способность ДНК-полимеразы связываться с ним, что делает невозможным дальнейшую экспрессию гена [33]. Это приводит к снижению способности опухолевых клеток восстанавливать поврежденные участки ДНК после действия химиопрепаратов с алкилирующим агентом [34–36].

Выявленные отрицательные корреляционные связи уровня *MGMT* в ткани глиальных опухолей с уровнями общих липидов, триацилглицеридов и эфиров холестерина соответствуют имеющимся литературным данным о худших показателях выживаемости пациентов с высоким уровнем холестерина и липопротеинов

Таблица 4. Липидом крови при глиальных опухолях (по данным литературы)

Table 4. Blood lipidome in glial tumors (literature data)

Изменения состава липидов в плазме (сыворотке) крови Changes in plasma (serum) lipid composition	Метод определения Measurement technique	Источник Source
Снижение содержания лизофосфатидилхолина, накопление фосфатидилхолина и триглицеридов Decreased lysophosphatidylcholine, accumulation of phosphatidylcholine and triglycerides	Высокоэффективная жидкостная хроматография и масс-спектрометрия High-performance liquid chromatography and mass spectrometry	[6]
Накопление фосфолипидов, холестерина и его эфиров Accumulation of phospholipids, cholesterol and its ethers	Одноимпульсная спектроскопия ядерного магнитного резонанса (1H, 31P) Single-pulse nuclear magnetic resonance spectroscopy (1H, 31P)	[21]
Высокий уровень холестерина до операции и увеличение содержания липопротеинов низкой плотности от дооперационного периода до его окончания как параметры снижения показателей выживаемости High cholesterol level before surgery and increased low density lipoproteins from the preoperative period until its end as parameters of decreased survival	Ретроспективный анализ пациентов с глиомой Retrospective analysis of patients with glioma	[37]
Повышение уровня липопротеинов низкой плотности как потенциального биомаркера плохого прогноза Increased low density lipoproteins as potential biomarkers of poor prognosis	Газовая хроматография-масс-спектрометрия, жидкостная хроматография и масс-спектрометрия или спектроскопия ядерного магнитного резонанса Gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography and mass spectrometry or nuclear magnetic resonance spectroscopy	[23]
Изменения содержания триглицеридов, фосфатидилхолина и лизофосфатидилхолина, отражающие нарушения метаболизма липидов в тканях глиом Changes in triglycerides, phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine reflecting abnormal lipid metabolism in glioma tissues	Высокоэффективная жидкостная хроматография High-performance liquid chromatography	[17]

низкой плотности в сыворотке крови до проведения терапии [37]. Однако значимых различий липидного профиля плазмы крови между группами метилирования промотора гена *MGMT* и без него обнаружено не было. Следовательно, дооперационный прогноз эффективности терапии препаратами с алкилирующим механизмом действия на основе параметров липидного обмена плазмы крови маловероятен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, были выявлены параметры липидома плазмы крови, содержание которых значимо

меняется уже при минимальной степени анаплазии глиальных опухолей. Из данных показателей как наиболее перспективные для клинических исследований отобраны те, уровень которых значимо различался в зависимости от иммуногистохимического профиля по соответствующему маркеру. Соотношения НЛ/ФЛ и ФХ/ЛФХ в плазме крови позволяют опосредованно судить о пролиферативной активности опухоли, которую отражает митотический индекс Ki-67. Это может быть использовано для дооперационной диагностики глиальных опухолей с неопределенным потенциалом злокачественности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Louis D.N., Perry A., Wesseling P. et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro Oncol* 2021;23(8):1231–51. DOI: 10.1093/neuonc/noab190
- Marien E., Meister M., Muley T. et al. Non-small cell lung cancer is characterized by dramatic changes in phospholipid profiles. *Int J Cancer* 2015;137(7):1539–48. DOI: 10.1002/ijc.29517
- Bensaad K., Favaro E., Lewis C.A. et al. Fatty acid uptake and lipid storage induced by HIF-1 α contribute to cell growth and survival after hypoxia-reoxygenation. *Cell Rep* 2014;9(1):349–65. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.08.056
- Guo D., Bell E.H., Chakravarti A. Lipid metabolism emerges as a promising target for malignant glioma therapy. *CNS Oncol* 2013;2(3):289–99. DOI: 10.2217/cns.13.20
- El Khayari A., Bouchmaa N., Taib B. et al. Metabolic rewiring in glioblastoma cancer: EGFR, IDH and beyond. *Front Oncol* 2022;12:901–51. DOI: 10.3389/fonc.2022.901951
- Zhou J., Ji N., Wang G. et al. Metabolic detection of malignant brain gliomas through plasma lipidomic analysis and support vector machine-based machine learning. *BioMedicine* 2022;8(1):104097. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104097
- Wu X., Geng F., Cheng X. et al. Lipid droplets maintain energy homeostasis and glioblastoma growth via autophagic release of stored fatty acids. *iScience* 2020;23(10):1–11. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101569
- Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: в 2 т. М., Мир, 1980. 295 с.
Sharshunova M., Schwarz V., Michalec C. Thin-layer chromatography in pharmacy and clinical biochemistry: in 2 vol. Moscow: Mir; 1980. 295 p. (In Russ.).
- Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободно-радикальных реакций в биологических субстратах. В кн.: Межвузовский сборник биохимии и биофизики микроорганизмов. Горький: Волго-Вятское издательство, 1983. С. 179–183.
Kuzmina E.I., Nelyubin A.S., Shchennikova M.K. The use of induced chemiluminescence for the assessment of free radical reactions in biological substrates. In: Interuniversity collection of biochemistry and biophysics of microorganisms. Gor'kiy: Volgo-Vyatskoe izdatel'stvo, 1983. Pp. 179–183. (In Russ.).
- Горяинова Е.Р., Панков А.Р., Платонова Е.Н. Прикладные методы анализа статистических данных: учеб. пособие для вузов. М.: Издательский дом Высшей школы экономики, 2012. С. 113–151.
Goryainova E.R., Pankov A.R., Platonova E.N. Applied methods for analyzing statistical data: textbook for universities. Moscow: Izdatel'skiy dom Vyshej shkoly ekonomiki, 2012. Pp. 113–151. (In Russ.).
- Eibinger G., Fauler G., Bernhart E. et al. On the role of 25-hydroxycholesterol synthesis by glioblastoma cell lines. Implications for chemo-tactic monocyte recruitment. *Exp Cell Res* 2013;319:1828–38. DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.03.025
- Cigliano L., Spagnuolo M.S., Napolitano G. et al. 24S-hydroxycholesterol affects redox homeostasis in human glial U-87 MG cells. *Mol Cell Endocrinol* 2019; 486:25–33. DOI: 10.1016/j.mce.2019.02.013
- Ríos-Marco P., Martín-Fernández M., Soria-Bretones I. et al. Alkylphospholipids deregulate cholesterol metabolism and induce cell-cycle arrest and autophagy in U-87 MG glioblastoma cells. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831(8):1322–34. DOI: 10.1016/j.bbali.2013.05.004
- Chang T.Y., Li B.L., Chang C.C., Urano Y. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferases. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297:E1–9. DOI: 10.1152/ajpendo.90926.2008
- Geng F., Cheng X., Wu X. et al. Inhibition of SOAT1 suppresses glioblastoma growth via blocking SREBP-1-mediated lipogenesis. *Clin Cancer Res* 2016;22(21):5337–48. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-17-0063
- Geng F., Guo D. Lipid droplets, potential biomarker and metabolic target in glioblastoma. *Intern Med Rev (Wash D C)* 2017;3(5):10.18103. DOI: 10.18103/imr.v3i5.443
- Kou Y., Geng F., Guo D. Lipid metabolism in glioblastoma: from de novo synthesis to storage. *Biomedicines* 2022;10(8):1943–25. DOI: 10.3390/biomedicines10081943
- Deligne C., Hachani J., Duban-Deweer S. et al. Development of a human in vitro blood-brain tumor barrier model of diffuse intrinsic pontine glioma to better understand the chemoresistance. *Fluids Barriers CNS* 2020;17(1):37. DOI: 10.1186/s12987-020-00198-0
- Abbott N.J. Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery. *J Inher Metab Dis* 2013;36(3):437–49. DOI: 10.1007/s10545-013-9608-0
- Sarkaria J.N., Hu L.S., Parney I.F. et al. Is the blood-brain barrier really disrupted in all glioblastomas? A critical assessment of existing clinical data. *Neuro-Oncology* 2018;20(2):184–91. DOI: 10.1093/neuonc/nox175
- Красникова О.В., Кондратьева А.Р., Баду С.К. и др. Потенциальные диагностические биомаркеры глиом в жидких средах организма. Журнал медико-биологических исследований 2022;10(1):52–63. DOI: 10.37482/2687-1491-z090
Krasnikova O.V., Kondrat'eva A.R., Badu S.K. et al. Potential diagnostic biomarkers of glioma in the liquid media of the body. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy = Journal of Medical and Biological Research* 2022;10(1):52–63. DOI: 10.37482/2687-1491-z090
- Zhou J., Ji N., Wang G. et al. Metabolic detection of malignant brain gliomas through plasma lipidomic analysis and support vector machine-based machine learning. *Articles* 2022;81:1–13. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104097
- Kao T.-J., Lin Ch.-L., Yang W.-B. et al. Dysregulated lipid metabolism in TMZ-resistant glioblastoma: pathways, proteins, metabolites and therapeutic opportunities. *Lipids Health Dis* 2023;22(114):1–13. DOI: 10.1186/s12944-023-01881-5
- Bullwinkel J., Baron-Luehr B., Ludemann A. et al. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol* 2006;206(3):624–35. DOI: 10.1002/jcp.20494
- Theresia E., Malueka R.G., Pranappta S. et al. Association between Ki-67 labeling index and histopathological grading of glioma in Indonesian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2020;21(4):1063–8. DOI: 10.31557/apjcp.2020.21.4.1063
- Yoda R.A., Marxen T., Longo L. et al. Mitotic index thresholds do not predict clinical outcome for IDH-mutant astrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2019;78(11):1002–10. DOI: 10.1093/jnen/nlz082
- Dahlrot R.H., Bangsø J.A., Petersen J.K. et al. Prognostic role of Ki-67 in glioblastomas excluding contribution from non-neoplastic cells. *Sci Rep* 2021;11(1):17918. DOI: 10.1038/s41598-021-95958-9
- Chen W.J., He D.S., Tang R.X. et al. Ki-67 is a valuable prognostic factor in gliomas: evidence from a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(2):411–20. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.2.411
- Abdul Rashid K., Ibrahim K., Wong J.H.D., Mohd Ramli N. Lipid alterations in glioma: a systematic review. *Metabolites* 2022;12(12):1280. DOI: 10.3390/metabo12121280
- Morash S.C., Cook H.W., Spence M.W. Lysophosphatidylcholine as an intermediate in phosphatidylcholine metabolism and glycerophosphocholine synthesis in cultured cells: an evaluation

- of the roles of 1-acyl- and 2-acyl-lysophosphatidylcholine. *Biochim Biophys Acta* 1989;1004(2):221–9. DOI: 10.1016/0005-2760(89)90271-3
31. Butler M., Pongor L., Su Y.T. et al. MGMT status as a clinical biomarker in glioblastoma. *Trends Cancer* 2020;6(5):380–91. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.02.010
 32. Tano K., Shiota S., Collier J et al. Isolation and structural characterization of a cDNA clone encoding the human DNA repair protein for O6-alkylguanine. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990;87(2):686–90. DOI: 10.1073/pnas.87.2.686
 33. Chen X., Zhang M., Gan H. et al. A novel enhancer regulates MGMT expression and promotes temozolomide resistance in glioblastoma. *Nat Commun* 2018;9(1):2949. DOI: 10.1038/s41467-018-05373-4
 34. Pandith A.A., Qasim I., Zahoor W. et al. Concordant association validates MGMT methylation and protein expression as favorable prognostic factors in glioma patients on alkylating chemotherapy (temozolo-mide). *Sci Rep* 2018;8(1):6704. DOI: 10.1038/s41598-018-25169-2
 35. Dahlrot R.H., Larsen P., Boldt H.B. et al. Posttreatment effect of MGMT methylation level on glioblastoma survival. *J Neuropathol Exp Neurol* 2019;8(7):633–40. DOI: 10.1093/jnen/nlz032
 36. Aoki K., Natsume A. Overview of DNA methylation in adult diffuse gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2019;36(2):8491. DOI: 10.1007/s10014-019-00339-w
 37. Huang F., Li S., Wang X. et al. Serum lipids concentration on prognosis of high-gradeglioma. *Cancer Causes Control* 2023;34(9):801–11. DOI: 10.1007/s10552-023-01710-1

Вклад авторов

Л.М. Обухова: разработка концепции и методологии исследования, написание текста статьи, редактирование;
 Е.В. Балавина: анализ данных литературы по теме статьи, проведение инструментальных исследований, исследование состава липидов плазмы крови, редактирование;
 Т.А. Веселова: интерпретация результатов исследования, редактирование;
 И.А. Медяник: проведение инструментальных исследований, микрохирургическое удаление опухоли, сбор и систематизация данных клинических исследований;
 А.С. Гришин: проведение инструментальных исследований и иммуногистохимического исследования маркеров глиальных опухолей;
 В.Ф. Лазукин: анализ и систематизация экспериментальных данных, статистическая обработка данных;
 М.М. Конторшиков: сбор данных литературы, пробоподготовка образцов, проведение инструментальных исследований, оценка интенсивности свободнорадикального окисления.

Authors' contributions

L.M. Obukhova: development of the concept and methodology of research, article writing, editing;
 E.V. Balavina: analysis of literature data on the topic of the article, conducting instrumental studies, studying the composition of blood plasma lipids, editing;
 T.A. Veselova: interpretation of research results, editing;
 I.A. Medyanik: instrumental research, microsurgical tumor removal, collection and systematization of clinical research data;
 A.S. Grishin: conducting instrumental studies and immunohistochemical studies of glial tumor markers;
 V.F. Lazukin: analysis and systematization of experimental data, statistical data processing;
 M.M. Kontorshchikov: collection of literature data, sample preparation of samples, conducting instrumental studies, assessment of the intensity of free radical oxidation.

ORCID авторов / ORCID of authors

Л.М. Обухова / L.M. Obukhova: <https://orcid.org/0000-0003-4064-9616>
 Е.В. Балавина / E.V. Balavina: <https://orcid.org/0009-0002-9711-2502>
 Т.А. Веселова / T.A. Veselova: <https://orcid.org/0000-0002-0230-6965>
 И.А. Медяник / I.A. Medyanik: <https://orcid.org/0000-0002-7519-0959>
 А.С. Гришин / A.S. Grishin: <https://orcid.org/0000-0001-7885-8662>
 В.Ф. Лазукин / V.F. Lazukin: <https://orcid.org/0000-0003-0916-0468>
 М.М. Конторшиков / M.M. Kontorshchikov: <https://orcid.org/0000-0002-0262-5448>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Программы развития ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России «Приоритет – 2030» (грант № 204).

Funding. The work was carried out with the financial support of the Development Program “Priority – 2030” of the Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia (grant No. 204).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (протокол № 6 от 17.04.2019).

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committees of Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 6 dated 17.04.2019).

Статья поступила: 24.03.2024. **Принята к публикации:** 15.07.2024. **Опубликована онлайн:** 09.10.2024.

Article submitted: 24.03.2024. **Accepted for publication:** 15.07.2024. **Published online:** 09.10.2024.