DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-3-70-77

CC BY 4.0

Метилирование промотора гена *MGMT* как прогностический маркер глиобластомы

И.В. Ботезату, В.Н. Кондратова, А.М. Строганова, С.Л. Дранко, Д.Р. Насхлеташвили, А.В. Лихтенштейн

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Анатолий Владимирович Лихтенштейн *alicht@mail.ru*

Введение. Глиобластома является наиболее распространенной злокачественной опухолью головного мозга у взрослых и характеризуется неблагоприятным прогнозом. Лечение пациентов с данной патологией включает хирургическую резекцию, облучение и применение алкилирующего агента темозоломида (TMZ). Терапевтическая эффективность последнего, обусловленная способностью повреждать ДНК и индуцировать апоптоз, нейтрализуется экспрессией фермента репарации ДНК O^6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT). Метилирование промотора гена *MGMT* подавляет синтез этого фермента и повышает цитотоксическую эффективность TMZ.
Цель исследования – выявление феномена метилирования промотора *MGMT* у пациентов с глиобластомой и оценка его прогностической значимости.
Материалы и методы. Проанализированы обработанные бисульфитом образцы ДНК, выделенные из заключенной в парафиновые блоки опухолевой ткани. Метилирование *MGMT* выявляли с помощью качественного метода метил-специфичной полимеразной цепной реакции. Прогностическую значимость этого феномена в совокупности с рядом других клинических показателей оценивали с использованием однофакторного и многофакторного анализов.
Результаты. Установлено, что метилирование промотора *MGMT* является одним из наиболее значимых благоприятных прогностических факторов глиобластомы: риск развития рецидива заболевания или летального исхода в определенный период времени у таких больных примерно в 2 раза ниже, чем у пациентов с интактным *MGMT*.
Заключение. Метил-специфичная полимеразная цепная реакция, рутинно применяемая в клинической практике, дает возможность оценить статус метилирования *MGMT* как фактор прогноза, но не позволяет судить о его предсказательном потенциале.

Ключевые слова: глиобластома, метил-специфичная полимеразная цепная реакция, метилирование *MGMT*, темозоломид

Для цитирования: Ботезату И.В., Кондратова В.Н., Строганова А.М. и др. Метилирование промотора гена *MGMT* как прогностический маркер глиобластомы. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(3):70–7.
DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-3-70-77

Methylation of *MGMT* promoter as a prognostic marker of glioblastoma

I.V. Botezatu, V.N. Kondratova, A.M. Stroganova, S.L. Dranko, D.R. Naskhletashvili, A.V. Lichtenstein

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Anatoly Vladimirovitch Lichtenstein *alicht@mail.ru*

Introduction. Glioblastoma is the most common malignant brain tumor in adults with a poor prognosis. Treatment of patients includes surgical resection, radiation and the alkylating agent temozolomide (TMZ). The therapeutic efficacy of TMZ is due to its ability to damage DNA and induce apoptosis, but it is neutralized by the expression of the DNA repair enzyme O^6-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT). Methylation of the *MGMT* gene promoter suppresses the synthesis of the corresponding enzyme and increases the cytotoxic efficiency of TMZ.
Aim. To determine the *MGMT* promoter methylation in glioblastoma patients and to evaluate the prognostic significance of this phenomenon.
Materials and methods. Bisulfite-treated DNA samples isolated from formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissues obtained from glioblastoma patients were analyzed. *MGMT* methylation was assessed by qualitative methylation-specific polymerase chain reaction. The prognostic significance of this phenomenon in conjunction with a number of other clinical parameters was assessed by means of univariate and multivariate analysis.

Results. *MGMT* promoter methylation was found to be one of the most significant favorable prognostic factors of glioblastoma: the likelihood of disease reappearance or a fatal outcome at a specific point in time is approximately two-fold lower in such patients than in those with intact *MGMT*.
Conclusion. The methylation-specific polymerase chain reaction, which is routinely used in clinical practice, adequately assesses *MGMT* methylation status as a prognostic factor, but it does not allow for the evaluation of its predictive potential.

Keywords: glioblastoma, methylation-specific polymerase chain reaction, *MGMT* methylation, temozolomide

For citation: Botezatu I.V., Kondratova V.N., Stroganova A.M. et al. Methylation of *MGMT* promoter as a prognostic marker of glioblastoma. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2025;12(3):70–7. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-3-70-77

ВВЕДЕНИЕ

Глиобластома – наиболее распространенная злокачественная первичная опухоль головного мозга у взрослых [1–3], характеризующаяся плохим прогнозом. Лечение пациентов с данной патологией включает хирургическую резекцию и облучение с одновременным применением алкилирующего агента темозоломида (TMZ). Терапевтическая эффективность TMZ обусловлена его способностью повреждать ДНК и индуцировать гибель опухолевых клеток. Однако экспрессия фермента репарации ДНК – O^6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT) – способна в значительной степени нейтрализовать цитотоксический эффект TMZ [4]. Метилирование промотора гена *MGMT*, характерное для многих раковых клеток, подавляет синтез соответствующего фермента и повышает тем самым цитотоксическую эффективность TMZ. Известно также, что у пациентов с глиобластомой с метилированным *MGMT* наблюдаются более высокие показатели общей (ОВ) и безрецидивной (БРВ) выживаемости, чем у пациентов с неметилированным геном [5, 6]. Таким образом, статус *MGMT* является важным прогностическим и предсказательным (в отношении эффективности TMZ) маркером глиобластомы.

Метилирование *MGMT* определяют разными методами, эффективность которых является предметом исследований [1, 7–16]. Рутинно используемый в клинической практике качественный метод метил-специфичной полимеразной цепной реакции (МС-ПЦР) с последующим гель-электрофорезом продуктов амплификации [17, 18] предполагает визуальную оценку электрофоретических полос и по этой причине может считаться не вполне объективным. В связи с необходимостью оценки достоверности получаемых с помощью этого метода результатов на 1-м этапе исследования сравнили эффективность МС-ПЦР и апробированного коммерческого набора, основанного на ПЦР в реальном времени. Задачей 2-го этапа явилось определение прогностической значимости феномена метилирования *MGMT* с учетом других клинических показателей.

Цель исследования – выявление феномена метилирования промотора MGMT у пациентов с глиобластомой и оценка его прогностической значимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические образцы. В ретроспективное исследование включены больные, получавшие лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина ($n = 74$). Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1.

Таблица 1. *Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование (n = 74)*

Table 1. *Clinical characteristics of patients included in the study (n = 74)*

Показатель Parameter	Значение Value
Пол, *n*: Sex, *n*: мужской male женский female	 38 36
Возраст, медиана (диапазон), лет Age, median (range), years	57 (28–82)
Хирургическая резекция, *n*: Surgery resection, *n*: полная и субтотальная complete and subtotal частичная и биопсия partial and biopsy	 24 50
Гистологический тип опухоли, *n*: Histological type of tumor, *n*: астроцитома astrocytoma глиобластома glioblastoma	 15 59
IDH, *n*: дикого типа wild type мутантный mutant	 53 14
Индекс Карновского (%), *n*: Karnofsky score (%), *n*: 20 30 40 60	 10 29 32 3

Выделение ДНК. Выделение ДНК из заключенной в парафиновые блоки опухолевой ткани проводили после ее депарафинизации ксилолом методом фенольно-хлороформной депротеинизации. ДНК конвертировали обработкой бисульфитом натрия посредством коммерческого набора EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Метил-специфичная полимеразная цепная реакция. МС-ПЦР промотора гена *MGMT* (GenBank accession number NG_052673.1; локализация ампликона – chr10: 131155502–131155623, hg18) проводили, как описано ранее [17, 18]. Для амплификации метилированной последовательности использовали сенс-праймер 5'-TTTCGACGTTCGTAGGTTTTCGC и 2 антисенс-праймера: 5'-GCACTCTTCCGAAAACGAAACG и 5'-ACCACT CGAAACTACCACCGTCC. Для амплификации неметилированной последовательности применяли сенс-праймер 5'-GTGTTTTGATGT-TTGTAGGTTTTTGT и 2 антисенс-праймера: 5'-AACTCCACACTCTTCCAAAAACAAAACA и 5'-ACCACTCAAAACTAC CACCATCC. Условия ПЦР: начальная денатурация – 5 мин при 95 °C; 40 циклов – 30 с при 95 °C, 30 с при 60 °C, 40 с при 72 °C; 10 мин при 72 °C (для метилированной последовательности); начальная денатурация – 5 мин при 95 °C; 40 циклов – 30 с при 95 °C, 30 с при 64 °C, 40 с при 72 °C; 10 мин при 72 °C (для неметилированной последовательности).

Продукты ПЦР разделяли в 4 % агарозном геле с бромистым этидием (0,5 мкг/мл). Каждому образцу ДНК соответствовали 4 дорожки геля (по 2 для метилированных и неметилированных последовательностей *MGMT*). Полосы метилированного *MGMT* – 81 пара оснований (п.о.) и 118 п.о., полосы неметилированного *MGMT* – 90 и 121 п.о. О статусе метилирования *MGMT* судили по присутствию полос в дорожках: обязательному – в дорожках 1 и 2 (их отсутствие свидетельствует о неэффективности ПЦР) и показательному – в дорожках 3 и 4 (указывают на наличие в образце метилированного *MGMT*).

В качестве метода сравнения использовали коммерческий набор MGMT Gene Methylation Detection Kit (Xiamen Spacegen, Китай), основанный на ПЦР в реальном времени (FAM-меченный зонд отражает амплификацию метилированного *MGMT*, VIC-меченный зонд – амплификацию фрагмента гена актина как внутреннего контроля).

Статистический анализ. Согласованность результатов 2 качественных методов детекции метилированного *MGMT* (МС-ПЦР и использование коммерческого набора Xiamen Spacegen) оценивали с помощью определения величины коэффициента межэкспертного согласия (Cohen's kappa testing) (κ) [19] (табл. 2). Для однофакторного анализа выживаемости по методу Каплана–Майера и многофакторного анализа (регрессия Кокса) использовали программы Cutoff Finder [20], GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software, США) и MedCalc (MedCalc Software, Бельгия). Все статистические тесты двусторонние, различия считались статистически значимыми при p <0,05.

Таблица 2. *Сила межэкспертного согласия*
Table 2. *Strength of inter-expert agreement*

Коэффициент межэкспертного согласия (κ) The coefficient of inter-expert agreement (κ)	Характеристика Characteristic
<0,20	Слабая Poor
0,21–0,40	Удовлетворительная Fair
0,41–0,60	Средняя Moderate
0,61–0,80	Хорошая Good
0,81–1,00	Почти идеальная Almost perfect

РЕЗУЛЬТАТЫ

Метил-специфичная ПЦР широко применяется для оценки степени метилирования промотора *MGMT*. Варианты этого метода различаются способом регистрации ампликонов метилированных и неметилированных последовательностей (М+ и М– соответственно). Используются, в частности, визуальная оценка разделенных гель-электрофорезом полос (как в данном исследовании), или сопоставление кривых амплификации ПЦР в реальном времени (как в избранном нами методе сравнения) (рис. 1).

Сравнение проводили на 25 образцах ДНК, случайно выбранных из общего массива (совпадение результатов получено в 22 случаях; конкордантность – 88 %). При сопоставлении качественных методов принято использовать коэффициент κ [19], величина которого характеризует степень согласованности результатов (табл. 2). В данном случае результаты теста (табл. 3) оказались вполне удовлетворительными: κ = 0,76; стандартная ошибка – 0,13; доверительный интервал 0,52–1,00.

Определение прогностических маркеров глиобластомы. В качестве факторов прогноза ОВ и БРВ больных глиобластомой рассматривали возраст, пол пациентов, гистологический тип опухоли (астроцитома или глиобластома), статус гена *IDH* (дикий тип или мутантный), функциональное состояние больного (по шкале Карновского), степень хирургического вмешательства (радикальное или частичное), а также наличие метилирования промотора *MGMT* (обнаружено в 36 (49 %) образцах ДНК из 74). Проведен однофакторный ана-

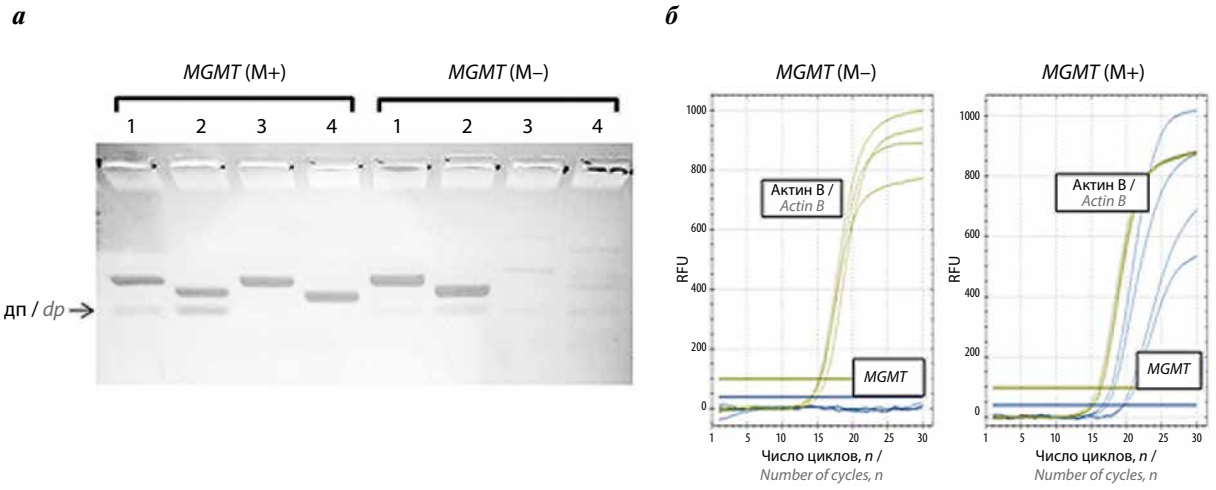

Рис. 1. *Метил-специфичная полимеразная цепная реакция промотора MGMT: а – идентификация метилированных (M+) и неметилированных (M–) последовательностей методом гель-электрофореза ампликонов; б – полимеразная цепная реакция в реальном времени (FAM-меченный зонд отражает амплификацию метилированного MGMT, VIC-меченный зонд – амплификацию фрагмента гена актина как внутреннего контроля). Дорожки 1 и 2 – ампликоны (длинный и короткий соответственно) неметилированных последовательностей, 3 и 4 – ампликоны (длинный и короткий соответственно) метилированных последовательностей; дп – димеры праймеров; RFU – относительные единицы флуоресценции*
Fig. 1. *Methylation-specific polymerase chain reaction of the MGMT promoter: a – identification of methylated (M+) and unmethylated (M–) sequences by gel electrophoresis of amplicons; б – real-time polymerase chain reaction (FAM-labelled probe reflects amplification of methylated MGMT, VIC-labelled probe reflects amplification of actin gene fragment as an internal control). Lanes: 1 and 2 – amplicons (long and short, accordingly) of unmethylated sequences, 3 and 4 – amplicons (long and short, accordingly) of methylated sequences; dp – primer dimers; RFU – relative fluorescence units*

Таблица 3. *Согласованность результатов*
Table 3. *Consistency of results*

Метил-специфичная полимеразная цепная реакция Methyl-specific polymerase chain reaction	Коммерческий набор MGMT Gene Methylation Detection Kit (Xiamen Spacegen, Китай) Commercial MGMT Gene Methylation Detection Kit (Xiamen Spacegen, China)		
	M–	M+	Всего, *n* (%) Total, *n* (%)
M–	10	3	13 (52)
M+	0	12	12 (48)
Всего *Total*	*10 (40)*	*15 (60)*	*25*

Примечание. *«M+» – ампликоны метилированных последовательностей; «M–» – ампликоны неметилированных последовательностей.*
Note. *"M+" – amplicons of methylated sequences; "M–" – amplicons of unmethylated sequences.*

лиз (кривые выживаемости Каплана–Майера и *log-rank*-тест), ориентированный на выявление взаимосвязи между 1 зависимой и 1 независимой переменными (рис. 2). Статистически значимые различия в ОВ и БРВ выявлены в группах больных, дихотомизированных по следующим факторам: возраст (порог 39,5 года), хирургическое вмешательство (полная или частичная резекция; статистически значимые различия только по ОВ), статус *MGMT* (метилированный или неметилированный).

Для выявления взаимосвязи между 1 зависимой и 2 или более независимыми переменными дополнительно использовали многофакторный анализ (регрессия Кокса). В ходе применения пошагового метода введения переменных в анализируемую модель получено подтверждение прогностической значимости возраста, хирургического вмешательства и метилирования *MGMT* как для ОВ, так и для БРВ пациентов с глиобластомой (по другим исследованным факторам различия статистически незначимы) (табл. 4 и 5).

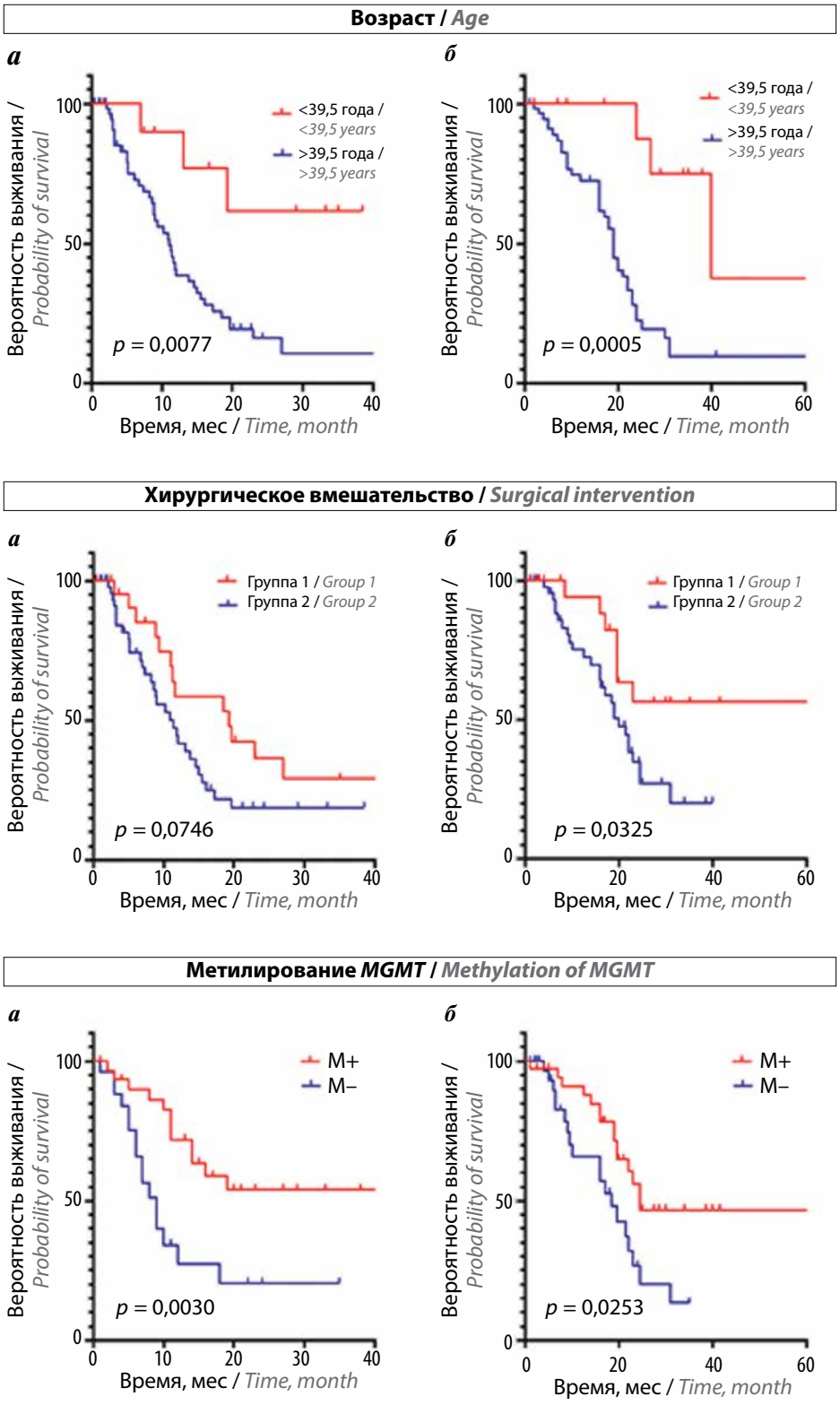

Рис. 2. *Безрецидивная (а) и общая (б) выживаемость пациентов с глиобластомой в зависимости от возраста (порог – 39,5 года), хирургического вмешательства (радикального – группа 1, частичного – группа 2) и метилирования MGMT*

Fig. 2. *Recurrence-free (a) and overall (б) survival curves of glioblastoma patients depending on age (threshold – 39.5 years), surgical intervention (radical – group 1, partial – group 2), and MGMT methylation*

Таблица 4. *Результаты многофакторного анализа безрецидивной выживаемости*
Table 4. *Results of multivariate analysis of progression free survival*

Показатель Parameter	*p*	Отношение рисков Hazard ratio	95 % доверительный интервал 95 % confidence interval
Возраст Age	0,0040	5,89	1,76–19,69
MGMT (M+)	0,0208	0,48	0,25–0,89
Хирургическое вмешательство Surgery	0,0356	0,48	0,23–0,95

Примечание. *Здесь и в табл. 5: «M+» – ампликоны метилированных последовательностей.*
Note. *Here and in table 5: "M+" – amplicons of methylated sequences.*

Таблица 5. *Результаты многофакторного анализа общей выживаемости*
Table 5. *Results of multivariate analysis of overall survival*

Показатель Parameter	*p*	Отношение рисков Hazard ratio	95 % доверительный интервал 95 % confidence interval
Возраст Age	0,0173	5,86	1,36–25,14
MGMT (M+)	0,0360	0,46	0,22–0,95
Хирургическое вмешательство Surgery	0,0215	0,35	0,14–0,86

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что феномен метилирования промотора *MGMT* является одним из наиболее важных прогностических факторов глиобластомы. Риск развития неблагоприятных событий (рецидива или смерти) в определенный момент времени у таких больных, судя по величине отношения рисков, существенно (примерно в 2 раза) ниже, чем у больных с интактным *MGMT*. Установлено также, что качественный метод МС-ПЦР, рутинно применяемый в клинической практике, позволяет определить статус метилирования этого гена как фактора прогноза.

Необходимо отметить, что, по данным литературы, феномен метилирования *MGMT* обладает не только прогностическим, но и важным предсказательным потенциалом (имеется в виду эффективность лечения темозоломидом) [3, 15, 21]. Для его реализации необходимо, однако, применять метод, дающий возможность не только констатировать факт метилирования, но и количественно оценить его. Определение оптимального порога метилирования в этом случае может позволить дихотомизировать больных на группы риска [22, 23]. Поскольку пиросеквенирование, являющееся «золотым стандартом» количественной оценки метилирования *MGMT* [8, 10], сопряжено с необходимостью постамплификационного секвенирования, наличием дорогостоящего оборудования, значительными затратами времени и труда, осложняющими его практическое применение, существует потребность в новых методических подходах, лишенных этих недостатков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Качественный метод МС-ПЦР дает возможность оценить феномен метилирования промотора *MGMT* как одного из наиболее показательных прогностических факторов глиобластомы, но не позволяет использовать его предсказательный потенциал (эффективность терапии темозоломидом). Это обстоятельство стимулирует разработку новых количественных методов, пригодных для рутинного применения в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Gibson D., Vo A.H., Lambing H. et al. A systematic review of high impact CpG sites and regions for *MGMT* methylation in glioblastoma [A systematic review of *MGMT* methylation in GBM]. BMC Neurol 2024(1);24:103. DOI: 10.1186/s12883-024-03605-3
2. Chiesa S., Mangraviti A., Martini M. et al. Clinical and NGS predictors of response to regorafenib in recurrent glioblastoma. Sci Rep 2022;12(1):16265. DOI: 10.1038/s41598-022-20417-y
3. Brandner S., McAleenan A., Kelly C. et al. *MGMT* promoter methylation testing to predict overall survival in people with glioblastoma treated with temozolomide: a comprehensive meta-analysis based on a Cochrane Systematic Review. Neuro Oncol 2021;23(9):1457–69. DOI: 10.1093/neuonc/noab105
4. Esteller M., Garcia-Foncillas J., Andion E. et al. Inactivation of the DNA-repair gene *MGMT* and the clinical response of gliomas to alkylating agents. N Engl J Med 2000;343(19):1350–4. DOI: 10.1056/NEJM200011093431901
5. Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T. et al. *MGMT* gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. N Engl J Med 2005;352(10):997–1003. DOI: 10.1056/NEJMoa043331
6. Wick A., Kessler T., Platten M. et al. Superiority of temozolomide over radiotherapy for elderly patients with RTK II methylation class, *MGMT* promoter methylated malignant astrocytoma. Neuro Oncol 2020;2298:1162–72. DOI: 10.1093/neuonc/noaa033
7. Sepulveda A.R., Jones D., Ogino S. et al. CpG methylation analysis – current status of clinical assays and potential applications in molecular diagnostics: a report of the Association for Molecular Pathology. J Mol Diagn 2009;11(4):266–78. DOI: 10.2353/jmoldx.2009.080125
8. Quillien V., Lavenu A., Karayan-Tapon L. et al. Comparative assessment of 5 methods (methylation-specific polymerase chain reaction, MethyLight, pyrosequencing, methylation-sensitive high-resolution melting, and immunohistochemistry) to analyze O^6-methylguanine-DNA-methyltranferase in a series of 100 glioblastoma patients. Cancer 2012;118(17):4201–11. DOI: 10.1002/cncr.27392
9. Bienkowski M., Berghoff A.S., Marosi C. et al. Clinical Neuropathology practice guide 5-2015: *MGMT* methylation pyrosequencing in glioblastoma: unresolved issues and open questions. Clin Neuropathol 2015;34(5):250–7. DOI: 10.5414/np300904
10. Chai R.C., Liu Y.Q., Zhang K.N. et al. A novel analytical model of *MGMT* methylation pyrosequencing offers improved predictive performance in patients with gliomas. Mod Pathol 2019;32(1):4–15. DOI: 10.1038/s41379-018-0143-2
11. Estival A., Sanz C., Ramirez J.L. et al. Pyrosequencing versus methylation-specific PCR for assessment of *MGMT* methylation in tumor and blood samples of glioblastoma patients. Sci Rep 2019; 9(1):11125. DOI: 10.1038/s41598-019-47642-2
12. Yamashita S., Yokogami K., Matsumoto F. et al. *MGMT* promoter methylation in patients with glioblastoma: is methylation-sensitive high-resolution melting superior to methylation-sensitive polymerase chain reaction assay? J Neurosurg 2019;130(3):780–8. DOI: 10.3171/2017.11.JNS171710
13. Filipits M., Preusser M., Hainfellner J.A. et al. Evaluation of an assay for *MGMT* gene promoter methylation in glioblastoma samples. Anticancer Res 2020;40:6229–36. DOI: 10.21873/anticanres.14643
14. Malmstrom A., Lysiak M., Kristensen B.W. et al. Do we really know who has an *MGMT* methylated glioma? Results of an international survey regarding use of *MGMT* analyses for glioma. Neurooncol Pract 2020;7(1):68–76. DOI: 10.1093/nop/npz039
15. McAleenan A., Kelly C., Spiga F. et al. Prognostic value of test(s) for O^6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation for predicting overall survival in people with glioblastoma treated with temozolomide. Cochrane Database Syst Rev 2021;3(3):CD013316. DOI: 10.1002/14651858.CD013316.pub2
16. Lhotska H., Janeckova K., Cechova H. et al. Validating a clinically based MS-MLPA threshold through comparison with Sanger sequencing in glioblastoma patients. Clin Epigenetics 2025;17(1):16. DOI: 10.1186/s13148-025-01822-2
17. Табаков Д.В., Строганова А.М., Сендерович А.И. и др. Анализ метилирования гена *MGMT* в глиомах методом модифицированной метил-специфичной ПЦР. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина 2015;26:29–33.
Tabakov D.V., Stroganova A.M., Senderovich A.I. et al. Analysis of *MGMT* gene methylation in gliomas by modified methyl-specific PCR. Vestnik RONTS im. N.N. Blohina = Bulletin of the N.N. Blokhin Russian Scientific Research Center 2015;26:29–33. (In Russ.).
18. Табаков Д.В., Катаргин А.Н., Строганова А.М. и др. Мутации изоцитратдегидрогеназ 1 и 2 и метилирование гена *MGMT* в глиомах. Успехи молекулярной онкологии 2017;4:53–9. DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-1-53-59
Tabakov D.V., Katargin A.N., Stroganova A.M. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 genes mutations and *MGMT* methylation in gliomas. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2017;4(1):53–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-1-53-59
19. Pum J.K. W. Evaluation of analytical performance of qualitative and semi-quantitative assays in the clinical laboratory. Clinica Chimica Acta 2019;497:197–203. DOI: 10.1016/j.cca.2019.07.018
20. Budczies J., Klauschen F., Sinn B.V. et al. Cutoff finder: a comprehensive and straightforward web application enabling rapid biomarker cutoff optimization. PLoS One 2012;7(12):e51862. DOI: 10.1371/journal.pone.0051862
21. Gomes I., Moreno D.A., Dos Reis M.B. et al. Low *MGMT* digital expression is associated with a better outcome of IDH1 wildtype glioblastomas treated with temozolomide. J Neurooncol 2021;151(2):135–44. DOI: 10.1007/s11060-020-03675-6
22. Silva F.F. V. E., Di D.M., Caponio V.C. A. et al. Pyrosequencing analysis of O^6-methylguanine-DNA methyltransferase methylation at different cut-offs of positivity associated with treatment response and disease-specific survival in isocitrate dehydrogenase-wildtype grade 4 glioblastoma. Int J Mol Sci 2024;25(1):612. DOI: 10.3390/ijms25010612
23. Nguyen N., Redfield J., Ballo M. et al. Identifying the optimal cutoff point for *MGMT* promoter methylation status in glioblastoma. CNS Oncol 2021;10(3):CNS74. DOI: 10.2217/cns-2021-0002

Вклад авторов
И.В. Ботезату, В.Н. Кондратова: разработка дизайна исследования, проведение экспериментов;
А.М. Строганова: характеристика клинических образцов, курирование проекта;
С.Л. Дранко: получение и характеристика клинических образцов;
Д.Р. Насхлеташвили: сбор материала, курирование проекта;
А.В. Лихтенштейн: разработка концепции исследования, написание текста статьи.

Authors' contributions
I.V. Botezatu, V.N. Kondratova: research design development, conducting experiments;
A.M. Stroganova: characterization of clinical samples, curating the project;
S.L. Dranko: obtaining and characterization clinical samples;
D.R. Naskhletashvili: characterization of clinical samples, curating the project;
A.V. Lichtenstein: research concept, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors
И.В. Ботезату / I.V. Botezatu: https://orcid.org/0000-0002-0297-4963
В.Н. Кондратова / V.N. Kondratova: https://orcid.org/0000-0003-0614-8789
А.М. Строганова / A.M. Stroganova: https://orcid.org/0000-0002-7297-5240
С.Л. Дранко / S.L. Dranko: https://orcid.org/0000-0003-3315-0817
Д.Р. Насхлеташвили / D.R. Naskhletashvili: https://orcid.org/0000-0002-4218-9652
А.В. Лихтенштейн / A.V. Lichtenstein: https://orcid.org/0000-0002-0190-5069

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Финансируется в рамках госбюджетной темы.
Funding. It is funded under the state budget theme.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики
Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia.

Статья поступила: 23.06.2024. **Принята к публикации:** 23.07.2025. **Опубликована онлайн:** 06.10.2025.
Article submitted: 23.06.2024. **Accepted for publication:** 23.07.2025. **Published online:** 06.10.2025.