

клеточного цикла, дифференцировки, морфогенеза и апоптоза (Phan et al., 2015; Barzaman et al., 2022).

Таким образом, в потомстве наиболее резистентных к темозоломиду клеток линий A172 и R1 мы наблюдали увеличенную экспрессию гена *MGMT*, что может служить причиной более высокой устойчивости этих клеток к препарату. Однако в отношении прочих исследованных генов в клетках линий A172 и R1 были отмечены разнонаправленные тенденции. В резистентных клетках A172 экспрессия большинства исследованных генов, связанных с устойчивостью к химиотерапии и более агрессивным течением заболевания, ожидаемо увеличивалась, а в резистентных клетках R1, напротив, снижалась.

Полученные нами результаты подтверждают значимость *MGMT* в формировании резистентности к темозоломиду. Однако прогностическая ценность прочих обсуждаемых показателей представляется неоднозначной. Ранее было показано, что разработанные специфические ингибиторы MDR1 (ABCВ1), зо-суковидар и тариквидар, не дали преимуществ в терапии рака молочной железы в комбинации с антрациклинами и таксанами (Pusztai et al., 2005; Ruff et al., 2009). Неудачу этого подхода, по мнению Волкова (2021), можно объяснить тем, что выброс химиопрепаратов ABC-переносчиками не играет определяющей роли, а также возможностью компенсировать блокировку одного белка-транспортера активностью других. Ценность предиктивной значимости экспрессии IL-6 и IL-8 также остается неоднозначной. Для уточнения этого вопроса несомненна ценность клеточной линии R1, клетки которой на высоком уровне экспрессируют IL-6 и IL-8.

Итак, нами проведено сравнительное изучение действия темозоломида на хорошо известную линию глиобластомы A172 и на новую линию R1. Исследование клеточных популяций, которые явились потомками наиболее резистентных к темозоломиду клеток, показало, что они обладают молекулярным профилем, существенно отличающимся от молекулярного профиля исходных линий глиобластом A172 и R1.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Госзадания “Изучение резистентных опухолевых клеток на культурах глиобластом при моделировании стереотаксической радиохимиотерапии рецидивирующей глиобластомы” ФГБУ “РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова” (Санкт-Петербург, Россия).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Процедуры проводили в соответствии с нормативными требованиями научно-исследовательского этического комитета Российского научного центра радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.А. Пиневиц, Н.Л. Вартамян, А.В. Карташев, М.П. Самойлович: идея работы, ее планирование. А.А. Пиневиц, М.П. Самойлович: культивирование клеток. Н.Л. Вартамян: выделение РНК, проведение ПЦР. Л.Н. Киселева: иммуноцитохимия. Ж.Ю. Сидорова, С.П. Свитина: определение статуса метилирования гена *MGMT*. И.В. Смирнов: иммуноферментный анализ. А.А. Пиневиц, Н.Л. Вартамян, М.П. Самойлович: обработка результатов, написание текста, подготовка иллюстраций. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Волков Н.М. 2021. Резистентность к химиотерапии – исчерпаны ли возможности? Практическая онкология. Т. 22. № 2. С. 99. (Volkov N.M. 2021. Cancer resistance to chemotherapy – are all possibilities exhausted? Pract. Oncol. V. 22. № 2. P. 105.)
- Гриффитс Б. 1989. Культура животных клеток. Методы. С. 56. (Griffiths B. 1989. Animal cell culture. Methods. P. 56.)
- Киселева Л.Н., Карташев А.В., Вартамян Н.Л., Пиневиц А.А., Самойлович М.П. 2016. Характеристика клеточных линий A172 и T98G. Цитология. Т. 58. № 5. С. 349. (Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Samoilovich M.P. 2016. A172 and T98G cell lines characteristics. Cell Tiss. Biol. V. 10. № 5. P. 341.)
- Киселева Л.Н., Карташев А.В., Вартамян Н.Л., Пиневиц А.А., Самойлович М.П. 2018. Действие фотемустина на клетки линий глиобластом человека. Цитология. Т. 60. № 1. С. 21. (Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Samoilovich M.P. 2018. The effect of fotemustine on human glioblastoma cell lines. Cell Tiss. Biol. V. 12. № 2. P. 93.)
- Киселева Л.Н., Карташев А.В., Вартамян Н.Л., Пиневиц А.А., Филатов М.В., Самойлович М.П. 2017. Характеристика новых клеточных линий глиобластом человека. Цитология. Т. 59. № 10. С. 669. (Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Filatov M.V., Samoilovich M.P. 2017. Characterization of new human glioblastoma cell lines. Cell Tiss. Biol. V. 12. № 1. P. 1.)
- Кит О.И., Водолажский Д.И., Расторгуев Э.Е., Францьянц Е.М., Поркшеян Д.Х., Панина С.Б. 2017. Мультиформная глиобластома: патогенез и молекулярные маркеры. Вопросы онкологии. Т. 63. № 5. С. 694. (Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Rastorguev E.E., Frantsiyants E.M., Porkshayan D.Kh., Panina S.B. 2017. Glioblastoma multiforme: pathogenesis and molecular markers. Voprosy Oncologii. V. 63. № 5. P. 694.)
- Мацко М.В., Мацко Д.Е., Волков Н.М., Улитин А.Ю., Моисеев В.М., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г. 2019. Морфологические и молекулярно-генетические особенности первичных глиобластом у пациентов с необычно высокой продолжительностью жизни. Сибирский онкол. журнал. Т. 18. № 3. С. 34. (Matsko M.V., Matsko D.E., Volkov N.M., Ulitin A.Yu., Moiseev V.M., Imyanitov E.N., Ievleva A.G. 2019. Morphological and molecular-genetic characteristics of primary glioblastomas in patients with unusually high survival. Siberian oncol. journal. T. 18. № 3. P. 34.)

- Volkov N.M., Ulitin A.Yu., Moiseenko V.M., Imyaninov E.N., Iyevleva A.G.* 2019. Morphologic and molecular features of primary glioblastoma in patients surviving more than 3 years. *Siberian J. Oncol.* V. 18. № 3. P. 34.)
- Пиневиц А.А., Бодэ И.И., Вартамян Н.Л., Киселева Л.Н., Карташев А.В., Самойлович М.П.* 2022. Клетки глиобластом человека линий T2 и T98G, резистентные к действию темозоломида. *Цитология.* Т. 64. № 2. С. 126. (*Pinevich A.A., Bode I.I., Vartanyan N.L., Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Samoilovich M.P.* 2022. Temozolomide-resistant human T2 and T98G glioblastoma cells. *Cell Tiss. Biol.* V. 16. № 4. P. 126.)
- Тягунова Е.Е., Захаров А.С., Костин Р.К., Шлапакова Т.И., Тягунова Т.Е., Захарова Ю.А., Малюгин Д.А.* 2022. Особенности химио- и радиотерапии пациентов с глиобластомой. *Медицинский альманах.* № 1(70). С. 49. (*Tyagunova E.E., Zakharov A.S., Kostin R.K., Shlapakova T.I., Tyagunova T.E., Zakharova Y.A., Malyugin D.A.* 2022. Features of chemo- and radiotherapy for patients with glioblastoma. *Medicinskij Al'manah.* № 1(70). P. 49.)
- Юкальчук Д.Ю., Пономаренко Д.М., Снетков Е.В., Юкальчук Т.Н., Шевчук А.В., Демченкова М.В., Шелехов А.В.* 2016. Применение парентеральной формы препарата Темодал® (темозолomid) в терапии глиобластом. Эффективная фармакотерапия. Т. 8. С. 46. (*Yukalchuk D.Yu., Ponomarenko D.M., Snetkov Ye.V., Yukalchuk T.N., Shevchuk A.V., Demchenkova M.V., Shelekhov A.V.* 2016. Use of parenteral Temodal® (temozolomide) in therapy of glioblastoma. *Effectivnaya pharmacoterapiya.* V. 8. P. 46.)
- Barzaman K., Vafaei R., Samadi M., Kazemi M.H., Hosseinzadeh A., Merikhian P., Moradi-Kalbolandi S., Eisa-vand M.R., Dinvari H., Farahmand L.* 2022. Anti-cancer therapeutic strategies based on HGF/MET, EpCAM, and tumor-stromal cross talk. *Cancer Cell Int.* V. 22. P. 259. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02658-z>
- Borst P., Evers R., Kool M., Wijnholds J.* 2000. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J. Natl. Cancer Inst.* V. 92. P. 1295–1302. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.16.1295>
- Brat D.J., Bellail A.C., Van Meir E.G.* 2005. The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neuro Oncol.* V. 7. P. 122–133. <https://doi.org/10.1215/S1152851704001061>
- Braun K., Ahluwalia S.* 2017. Treatment of glioblastoma in older adults. *Curr. Oncol. Rep.* V. 19. P. 81. <https://doi.org/10.1007/s11912-017-0644-z>
- Bunevicius A., Radziunas A., Tamasauskas S., Tamasauskas A., Laws E.R., Iervasi G., Bunevicius R., Deltuva V.* 2018. Prognostic role of high sensitivity C-reactive protein and interleukin-6 in glioma and meningioma patients. *Neurooncol.* V. 138. P. 351. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2803-y>
- Campos B., Olsen L.R., Urup T., Poulsen H.S.* 2016. A comprehensive profile of recurrent glioblastoma. *Oncogene.* V. 35. P. 5819. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.85>
- Christians A., Hartmann C., Benner A., Meyer J., von Deimling A., Weller M., Wick W., Weiler M.* 2012. Prognostic value of three different methods of MGMT promoter methylation analysis in a prospective trial on newly diagnosed glioblastoma. *PLoS One.* V. 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033449>
- Christofides A., Kosmopoulos M., Piperi C.* 2015. Pathophysiological mechanisms regulated by cytokines in gliomas. *Cytokine.* V. 71. P. 377. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.09.008>
- Coyle B., Kessler M., Sabnis D.H., Kerr I.D.* 2015. ABCB1 in children's brain tumors. *Biochem. Soc. Trans.* V. 43. P. 1018. <https://doi.org/10.1042/BST20150137>
- Daniel P., Sabri S., Chaddad A., Meehan B., Jean-Claude B., Rak J., Abdulkarim B.S.* 2019. Temozolomide induced hypermutation in glioma: evolutionary mechanisms and therapeutic opportunities. *Front. Oncol.* V. 9. P. 41. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00041>
- Feldheim J., Kessler A.F., Feldheim J.J., Schulz E., Wend D., Lazaridis L., Kleinschnitz C., Glas M., Ernestus R.-I., Brandner S., Monoranu C.M., Löhr M., Hagemann C.* 2022. Effects of long-term temozolomide treatment on glioblastoma and astrocytoma WHO grade 4 stem-like cells. *Int. J. Mol. Sci.* V. 23. P. 5238. <https://doi.org/10.3390/ijms23095238>
- Giard D.J., Aaronson S.A., Todaro G.J., Arnstein P., Kersey J.H., Dosik H., Parks W.P.* 1973. *In vitro* cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. *J. Nat. Cancer Inst.* V. 51. P. 1417. <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1417>
- de Gooijer M.C., de Vries N.A., Buckle T., Buil L.C.M., Beijnen J.H., Boogerd W., van Tellingen O.* 2018. Improved brain penetration and antitumor efficacy of temozolomide by inhibition of ABCB1 and ABCG2. *Neoplasia.* V. 20. P. 710. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2018.05.001>
- Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E.* 2002. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat. Rev. Cancer.* V. 2. P. 48. <https://doi.org/10.1038/nrc706>
- Goutnik M., Lucke-Wold B.* 2022. Commentary: evaluating potential glioma serum biomarkers, with future applications. *World J. Clin. Oncol.* V. 13. P. 412. <https://doi.org/10.5306/wjco.v13.i5.412>
- Ha H., Debnath B., Neamati N.* Role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases. *Theranostics.* V. 7. P. 1543. <https://doi.org/10.7150/thno.15625>
- Hegi M.E., Diserens A.-C., Gorlia T., Hamou M.-F., de Tribolet N., Weller M., Kros J.M., Hainfellner J.A., Mason W., Mariani L., Bromberg J.E.C., Hau P., Mirimanoff R.O., Cairncross J.G., Janzer R.C., Stupp R.* 2005. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* V. 352. P. 997. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043331>
- Herman J.G., Graff J.R., Myöhänen S., Nelkin B.D., Baylin S.B.* 1996. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 93. P. 9821. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.18.9821>
- Hermisson M., Klumpp A., Wick W., Wischhusen J., Nagel G., Roos W., Kaina B., Weller M.* 2006. O6-methylguanine DNA methyltransferase and p53 status predict temozolomide sensitivity in human malignant glioma cells. *J. Neurochem.* V. 96. P. 7666. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03583.x>
- Kathawala R.J., Gupta P., Ashby C.R., Chen Z.-S.* 2015. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade. *Drug Resist.*

- Updat. V. 18. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.drug.2014.11.002>
- Kim H., Zheng S., Amini S.S., Virk S.M., Mikkelsen T., Brat D.J., Grimsby J., Sougnéz C., Muller F., Hu J., Sloan A.E., Cohen M.L., Van Meir E.G., Scarpace L., Laird P.W., et al. 2015. Whole-genome and multisector exome sequencing of primary and post-treatment glioblastoma reveals patterns of tumor evolution. *Genome Res.* V. 25. P. 16.
<https://doi.org/10.1101/gr.180612.114>
- Kinashi Y., Ikawa T., Takahashi S. 2020. The combined effect of neutron irradiation and temozolomide on glioblastoma cell lines with different MGMT and P53 status. *Appl. Radiat. Isot.* V. 163. P. 109204.
<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109204>
- Kristensen L.S., Hansen L.L. 2009. PCR-based methods for detecting single-locus DNA methylation biomarkers in cancer diagnostics, prognostics, and response to treatment. *Clin. Chem.* V. 55. P. 1471.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.121962>
- Lee S.Y. 2016. Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme. *Genes Dis.* V. 3. P. 198.
<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.04.007>
- Li Z., Li M., Xia P., Lu Z. 2022. HOTTIP mediated therapy resistance in glioma cells involves regulation of EMT-related miR-10b. *Front. Oncol.* V. 12. P. 873561.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.873561>
- Livak K.J., Schmittgen T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻Delta Delta C(T) method. *Methods.* V. 25. P. 402.
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., Ohgaki H., Wiestler O.D., Kleihues P., Ellison D.W. 2016. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol.* V. 131. P. 803.
<https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Lu V.M., Jue T.R., McDonald K.L., Rovin R.A. 2018. The survival effect of repeat surgery at glioblastoma recurrence and its trend: a systematic review and meta-analysis. *World Neurosurg.* V. 115. P. 453.
<https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.04.016>
- Marucci G., Fabbri P.V., Morandi L., Biase D.D., Oto E.D., Tallini G., Sturiale C., Franceschi E., Frezza G.P., Foschinin M.P. 2015. Pathological spectrum in recurrences of glioblastoma multiforme. *Pathologica.* V. 107. P. 1.
- Matsko M.V., Imaynitov E.N. 2015. Predictive role of O6-methylguanine DNA methyltransferase status for the treatment of brain tumors. *Epigen. Terr. Cancer.* P. 251.
https://doi.org/10.1007/978-94-017-9639-2_9
- Mirzayans R., Murray D. 2020. Intratumor heterogeneity and therapy resistance: contributions of dormancy, apoptosis reversal (anastasis) and cell fusion to disease recurrence. *Int. J. Mol. Sci.* V. 15. P. 1308.
<https://doi.org/10.3390/ijms21041308>
- Mostofa A.G.M., Punganuru S.R., Madala H.R., Al-Obaide M., Srivenugopal K.S. 2017. The process and regulatory components of inflammation in brain oncogenesis. *Biomolecules.* P. 7. P. 34.
<https://doi.org/10.3390/biom7020034>
- Oliva C.R., Nozell S.E., Diers A., McCluggage 3rd S.G., Sarkaria J.N., Markert J.M., Darley-Usmar V.M., Bailey S.M., Gillespie G.Y., Landar A., Griguer C.E. 2010. Acquisition of temozolomide chemoresistance in gliomas leads to remodeling of mitochondrial electron transport chain. *J. Biol. Chem.* V. 285. P. 39759.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.147504>
- Pegg A.E., Byers T.L. 1992. Repair of DNA containing O6-alkylguanine. *FASEB J.* V. 6. P. 2302.
<https://doi.org/10.1096/fasebj.6.6.1544541>
- Peignan L., Garrido W., Segura R., Melo R., Rojas D., Carcamo J.G., San Martín R., Quezada C. 2011. Combined use of anticancer drugs and an inhibitor of multiple drug resistance-associated protein-1 increases sensitivity and decreases survival of glioblastoma multiforme cells in vitro. *Neurochem. Res.* V. 36. P. 1397.
<https://doi.org/10.1007/s11064-011-0464-8>
- Perazzoli G., Prados J., Ortiz R., Caba O., Cabeza L., Berdasco M., Gonzalez B., Melguizo C. 2015. Temozolomide resistance in glioblastoma cell lines: implication of MGMT, MMR, P-glycoprotein and CD133 expression. *PLoS One.* V. 10. P. e0140131.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140131>
- Phan L.M., Fuentes-Mattei E., Wu W., Velazquez-Torres G., Sircar K., Wood C.G., Hai T., Jimenez C., Cote G.J., Ozsari L., Hofmann M.-C., Zheng S., Verhaak R., Pagliaro L., Cortez M.A. et al. 2015. Hepatocyte growth factor/cMET pathway activation enhances cancer hallmarks in adrenocortical carcinoma. *Cancer Res.* V. 75. P. 4131.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3707>
- Pusztai L., Wagner P., Ibrahim N., Rivera E., Theriault R., Booser D., Symmans F.W., Wong F., Blumenschein G., Fleming D.R., Rouzier R., Boniface G., Hortobagyi G.N. 2005. Phase II study of tariquidar, a selective P-glycoprotein inhibitor, in patients with chemotherapy-resistant, advanced breast carcinoma. *Cancer.* V. 104. P. 682.
<https://doi.org/10.1002/cncr.21227>
- Rabe M., Dumont S., Alvarez-Arenas A., Janati H., Belmonte-Beitia J., Calvo G.F., Thibault-Carpentier C., Sery Q., Chauvin C., Joalland N., Briand F., Blandin S., Scotet E., Pecqueur C., Clairambault J. et al. 2020. Identification of a transient state during the acquisition of temozolomide resistance in glioblastoma. *Cell Death Dis.* V. 11. P. 19.
<https://doi.org/10.1038/s41419-019-2200-2>
- Rolhion C., Penault-Llorca F., Kemeny J.L., Lemaire J.J., Julien C., Labit-Bouvier C., Finat-Duclos F., Verrelle P. 2001. Interleukin-6 overexpression as a marker of malignancy in human gliomas. *J. Neurosurg.* V. 94. P. 97.
<https://doi.org/10.3171/jns.2001.94.1.0097>
- Ruff P., Vorobiof D.A., Jordaán J.P., Demetriou G.S., Moodley S.D., Nosworthy A.L., Werner I.D., Raats J., Burgess L.J. 2009. A randomized, placebo-controlled, double-blind phase 2 study of docetaxel compared to docetaxel plus zosuquidar (LY335979) in women with metastatic or locally recurrent breast cancer who have received one prior chemotherapy regimen. *Cancer Chemother. Pharmacol.* V. 64. P. 763.
<https://doi.org/10.1007/s00280-009-0925-9>
- Samaras V., Piperi C., Levidou G., Zisakis A., Kavantzias N., Themistocleous M.S., Boviatsis E.I., Barbatis C., Lea R.W., Kalofoutis A., Korkolopoulou P. 2009. Analysis of interleukin (IL)-8 expression in human astrocytomas: associations with IL-6, cyclooxygenase-2, vascular endothelial growth factor, and microvessel morphometry. *Hum. Immunol.* V. 70. P. 391.
<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2009.03.011>

- Shan Y., He X., Song W., Han D., Niu J., Wang J.* 2015. Role of IL-6 in the invasiveness and prognosis of glioma. *Int. J. Clin. Exp. Med.* V. 8. P. 9114.
- Sharma I., Singh A., Sharma K.C., Saxena S.* 2017. Gene expression profiling of chemokines and their receptors in low and high grade astrocytoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* V. 18. P. 1307.
<https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.5.1307>
- Sharma I., Singh A., Siraj F., Saxena S.* 2018. IL-8/CXCR1/2 signalling promotes tumor cell proliferation, invasion and vascular mimicry in glioblastoma. *J. Biomed. Sci.* V. 25. P. 62.
<https://doi.org/10.1186/s12929-018-0464-y>
- Shrivastava R., Gandhi P., Gothwal R.* 2022. The road-map for establishment of a prognostic molecular marker panel in glioma using liquid biopsy: current status and future directions. *Clin. Transl. Oncol.* V. 24. P. 1702.
<https://doi.org/10.1007/s12094-022-02833-8>
- Soni V., Adhikari M., Lin L., Sherman J.H., Keidar M.* 2022. Therapeutic potential of adaptive cold atmospheric plasma with temozolomide to checkmate glioblastoma: an in vitro study. *Cancers.* V. 14. P. 3116.
<https://doi.org/10.3390/cancers14133116>
- Strobel H., Baisch T., Fitzel R., Schilberg K., Siegelin M.D., Karpel-Massler G., Debatin K.-M., Westhoff M.-A.* 2019. Temozolomide and other alkylating agents in glioblastoma therapy. *Biomedicines.* V. 7. P. 69.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines7030069>
- Tchirkov A., Khalil T., Chautard E., Mokhtari K., Veronese L., Irthum B., Vago P., Kemeny J.-L., Verrelle P.* 2007. Interleukin-6 gene amplification and shortened survival in glioblastoma patients. *Br. J. Cancer.* V. 96. P. 474.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603586>
- Thomas A., Tanaka M., Trepel J., Reinhold W.C., Rajapakse V.N., Pommier Y.* 2017. Temozolomide in the era of precision medicine. *Cancer Res.* V. 77. P. 823.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2983>
- Tiek D.M., Rone J.D., Graham G.T., Pannkuk E.L., Haddad B.R., Riggins R.B.* 2018. Alterations in cell motility, proliferation, and metabolism in novel models of acquired temozolomide resistant glioblastoma. *Sci. Rep.* V. 8. P. 7222.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25588-1>
- Vimalraj S.* 2022. A concise review of VEGF, PDGF, FGF, Notch, angiopoietin, and HGF signalling in tumor angiogenesis with a focus on alternative approaches and future directions. *Int. J. Biol. Macromol.* V. 221. P. 1428.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.129>
- Wang D., Wang C., Wang L., Chen Y.* 2019. A comprehensive review in improving delivery of small-molecule chemotherapeutic agents overcoming the blood-brain/brain tumor barriers for glioblastoma treatment. *Drug Deliv.* V. 26. P. 551.
<https://doi.org/10.1080/10717544.2019.1616235>
- Wang H., Lathia J.D., Wu Q., Wang K., Li Z., Heddleston J.M., Eyler C.E., Elderbroom J., Gallagher J., Schuschu J., MacSwords J., Cao Y., McLendon R.E., Wang X.-F., Hjelmeland A.B., Rich J.N.* 2009. Targeting interleukin 6 signaling suppresses glioma stem cell survival and tumor growth. *Stem Cells.* V. 27. P. 2393.
<https://doi.org/10.1002/stem.188>
- Xia Q., Liu L., Li Y., Zhang P., Han D., Dong L.* 2021. Therapeutic perspective of temozolomide resistance in glioblastoma treatment. *Cancer Invest.* V. 39. P. 627.
<https://doi.org/10.1080/07357907.2021.1952595>
- Xu B., Yu D.-M., Liu F.-S.* 2014. Effect of siRNA induced inhibition of IL-6 expression in rat cerebral gliocytes on cerebral edema following traumatic brain injury. *Mol. Med. Rep.* V. 10. P. 1863.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2462>
- Yuhaz Y., Ashkenazi S., Berent E., Weizman A.* 2015. Immunomodulatory activity of ketamine in human astroglial A172 cells: possible relevance to its rapid antidepressant activity. *Neuroimmunol.* V. 282. P. 33.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.03.012>
- Zhang B., Shi L., Lu S., Sun X., Liu Y., Li H., Wang X., Zhao C., Zhang H., Wang Y.* 2015. Autocrine IL-8 promotes F-actin polymerization and mediate mesenchymal transition via ELMO1-NF- κ B-Snail signaling in glioma. *Cancer Biol. Ther.* V. 16. P. 898.
<https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1028702>
- Zhu Y., Chen Z., Kim S.N., Gan C., Ryl T., Lesjak M.S., Rodermerk J., Zhong R.D., Wrede K., Dammann P., Sure U.* 2022. Characterization of temozolomide resistance using a novel acquired resistance model in glioblastoma cell lines. *Cancers (Basel).* V. 14. P. 2211.
<https://doi.org/10.3390/cancers14092211>

Growth and Molecular Characteristics of Temozolomide-Resistant Human A172 and R1 Glioblastoma Cells

A. A. Pinevich^{a, b, *}, N. L. Vartanyan^a, A. V. Kartashev^a, L. N. Kiseleva^a, I. V. Smirnov^a, Z. U. Sidorova^{c, d}, S. P. Svitina^c, and M. P. Samoilovich^{a, b}

^aGranov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, 197758 Russia

^bSaint Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034 Russia

^cRussian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, 191024 Russia

^dKonstantinov Saint Petersburg Nuclear Physics Institute of National Research Centre "Kurchatov Institute", Saint Petersburg, 188300 Russia

*e-mail: agniapinevich@gmail.com

Glioblastoma recurrence is caused by initial and acquired as a result of therapy resistance of tumor cells. Studies searching the markers that would allow predicting the level of glioblastoma cell resistance to therapy are in progress. The complexity of the problem is related to the high heterogeneity of individual tumors and the cellular content of

each tumor. In present work, a comparative study of the influence of single temozolomide (in Temodal® form) exposure on the well-known glioblastoma cell line A172 and a new one R1 was performed. In A172 (highly temozolomide-sensitive cell line) after treatment with 0.1 mM of this drug only individual cells persisted and resumed proliferation. In R1 glioblastoma cell line single cells survived and resumed proliferation after treatment with 1 mM temozolomide. The populations resulting from the proliferation of these cells were designated as resistant. The expression of MGMT, as well as genes responsible for resistance to chemotherapy and tumor progression (*MGMT*, *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCG2*), growth factor genes (*VEGF*, *HGF*), cytokines IL-6 and IL-8, and their encoding genes was examined in resistant A172 and R1 cells. In A172 cells, the methylated status of *MGMT* gene promoter was confirmed, as well as the absence of the corresponding gene expression. It was shown for the first time that glioblastoma R1 is heterogeneous by the methylation status of *MGMT* gene promoter and expression of the relevant enzyme. In A172 and R1 resistant cell populations, the level of *MGMT* gene promoter methylation was lower than in the intact cells, and *MGMT* gene expression was enhanced. We suspect that this may be the reason for greater resistance of such cells to chemotherapy. The expression of most genes associated with resistance to chemotherapy and a more aggressive course of the disease, genes of growth factors, and interleukins in resistant A172 cells was higher than in intact cells. In contrast, in resistant R1 cells, the expression of most of the same genes (with the exception of *ABCC1* and *VEGF*, for which the expression level changed insignificantly) was lower than in the intact cells. These results confirm the significance of MGMT in the formation of glioblastoma cell resistance to temozolomide. The prognostic value of the other studied parameters is still ambiguous.

Keywords: glioblastoma, A172, R1, resistant cells, temozolomide, MGMT, multiple drug resistance, IL-6, IL-8, Temodal®