

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2698895

СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ МЕТАСТАЗОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ MAGEA1, MAGEB2 И PRAME1

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2018119089

Приоритет изобретения 23 мая 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 02 сентября 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 23 мая 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/57442 (2019.02); G01N 2800/56 (2019.02); C12Q 1/6806 (2019.02); C12Q 1/6844 (2019.02); C12Q 1/686 (2019.02); C12Q 1/6876 (2019.02); C12Q 2531/113 (2019.02); C12Q 2561/113 (2019.02); C12Q 2600/118 (2019.02); C12Q 2600/158 (2019.02)

(21)(22) Заявка: 2018119089, 23.05.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.05.2018

Дата регистрации:
02.09.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.05.2018

(45) Опубликовано: 02.09.2019 Бюл. № 25

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
РНИОИ, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Кит Олег Иванович (RU),
Кутилин Денис Сергеевич (RU),
Могушкова Хава Ахмедовна (RU),
Вереникина Екатерина Владимировна (RU),
Франциянц Елена Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Ростовский
научно-исследовательский онкологический
институт" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2605302 C1, 20.12.2016. KERKAR
S.P. et al. MAGE-A is More Highly Expressed
Than NY-ESO-1 in a Systematic
Immunohistochemical Analysis of 3668 Cases. J
Immunother. 2016 May; 39(4): 181-7.

ВОДОЛАЖСКИЙ Д.И. и др.
Траскрипционный профиль
раковотестикулярных антигенов у больных
раком молочной железы люминальных типов
А и В. Материалы IX Съезда (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ МЕТАСТАЗОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА
МАТКИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ MAGEA1, MAGEB2 И PRAME1

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к молекулярной биологии, онкологии, и предназначено для прогнозирования развития метастазов у больных раком тела матки. Осуществляют выделение тотальной РНК из тканевых проб матки с помощью метода гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. Проводят амплификацию в режиме реального времени генов MAGEA1, MAGEB2 и PRAME1. Рассчитывают относительную экспрессию генетических локусов с последующим

вычислением коэффициента относительной экспрессии К. Сравнивают полученные значения К с интервалом прогностического коэффициента экспрессии. При значениях $K_{MAGEA1} < 1,9 \pm 0,47$, $K_{MAGEB2} < 1,0 \pm 0,54$ и $K_{PRAME1} < 1,1 \pm 0,21$ прогнозируют течение заболевания без метастазов. При значениях $K_{MAGEA1} > 3,9 \pm 0,87$, $K_{MAGEB2} > 11,5 \pm 1,59$ и $K_{PRAME1} > 3,8 \pm 0,98$ прогнозируют развитие метастазов. Изобретение обеспечивает создание нового, простого в

исполнении, не дорогостоящего и более точного
способа прогнозирования развития метастазов у

(56) (продолжение):
онкологов России, Уфа, 14-16 июня 2017 г. Стр.40.

пациенток с диагнозом рак тела матки. 1 табл., 2
пр.

R U 2 6 9 8 8 9 5 C 1

R U 2 6 9 8 8 9 5 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

G01N 33/574 (2006.01)*C12Q 1/6876* (2018.01)*C12Q 1/6806* (2018.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/57442 (2019.02); *G01N 2800/56* (2019.02); *C12Q 1/6806* (2019.02); *C12Q 1/6844* (2019.02); *C12Q 1/686* (2019.02); *C12Q 1/6876* (2019.02); *C12Q 2531/113* (2019.02); *C12Q 2561/113* (2019.02); *C12Q 2600/118* (2019.02); *C12Q 2600/158* (2019.02)

(21)(22) Application: **2018119089, 23.05.2018**(24) Effective date for property rights:
23.05.2018Registration date:
02.09.2019

Priority:

(22) Date of filing: **23.05.2018**(45) Date of publication: **02.09.2019** Bull. № 25

Mail address:

**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63,
RNIIOI, Ishoninoy O.G.**

(72) Inventor(s):

**Kit Oleg Ivanovich (RU),
Kutlin Denis Sergeevich (RU),
Mogushkova Khava Akhmedovna (RU),
Verenikina Ekaterina Vladimirovna (RU),
Frantsiyants Elena Mikhajlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
uchrezhdenie "Rostovskij
nauchno-issledovatel'skij onkologicheskij
institut" Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) METHOD FOR PREDICTION OF DEVELOPING METASTASES IN UTERINE CANCER PATIENTS BASED ON ANALYSIS OF MAGEA1, MAGEB2 AND PRAME1 GENE EXPRESSION

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly to molecular biology, oncology, and aims at predicting the development of metastases in uterine cancer patients. Total RNA is recovered from uterine tissue samples by guanidine-thionate-phenol-chloroform extraction method. MAGEA1, MAGEB2 and PRAME1 genes are real-time amplified. Relative expression of the genetic loci is calculated with subsequent calculation of the relative expression coefficient K. Obtained values of K are compared with

an interval of the prognostic expression coefficient. At values of $K_{MAGEA1} < 1.9 \pm 0.47$, $K_{MAGEB2} < 1.0 \pm 0.54$ and $K_{PRAME1} < 1.1 \pm 0.21$ one predicts the course of the disease without metastases. At values of $K_{MAGEA1} > 3.9 \pm 0.87$, $K_{MAGEB2} > 11.5 \pm 1.59$ and $K_{PRAME1} > 3.8 \pm 0.98$ shows development of metastases.

EFFECT: invention provides creating a new, easy-to-implement, inexpensive and more accurate method for prediction of developing metastases in patients diagnosed with uterine body cancer.

1 cl, 1 tbl, 2 ex

Изобретение относится к медицине, а именно, к молекулярной биологии, онкологии, и касается способа прогнозирования развития метастазов у больных раком тела матки на основе анализа экспрессии РТА-генов: MAGEA1, MAGEB2 и PRAME1.

5 Рак тела матки является самой распространенной злокачественной опухолью органов малого таза у женщин (см. World Cancer Report 2014. World Health Organization. Chapter 5.12.). Рецидивы являются одной из ведущих причин неудач в лечении рака тела матки и определяют неблагоприятный прогноз заболевания.

Частота возникновения рецидивов достигает 40% при железисто-плоскоклеточном раке и 10% при высокодифференцированной аденокарциноме эндометрия (см. 10 Урманчеева А.Ф., Ульрих Е.А., Нейштадт Э.Л. и др. Серозно-папиллярный рак эндометрия (клинико-морфологические особенности). *Вопр. онкологии* 2002; 48 (6): 679-83.). Более 80% рецидивов возникает в первые 2 года после радикального лечения (см. Кузнецов В.В., Нечушкина В.М. Хирургическое лечения рака тела матки. *Практ. онкология* 2004; (17): 25-32.).

15 С увеличением промежутка времени после операции прогрессивно снижается вероятность появления местного рецидива. Причинами возникновения ранних рецидивов являются крайне агрессивное течение заболевания, имплантационный путь метастазирования, неадекватный объем хирургического вмешательства.

Причины и сроки возникновения поздних рецидивов не определены и достаточно 20 не изучены, но, скорее всего, зависят от биологических особенностей опухоли. Биологические особенности опухоли связаны с экспрессией огромного количества генов, в том числе РТА-генов.

Раково-тестикулярные антигены (РТА, Cancer Testis Antigens (СТА)) человека, экспрессируются в опухолях различного гистологического происхождения, и 25 практически не экспрессируются в нормальных тканях (за исключением семенников и плаценты) (см. Водолажский Д.И., Кит О.И., Могушкова Х.А., Пушкин А.А., Тимошкина Н.Н. Раковые тестикулярные антигены в иммунотерапии злокачественных опухолей. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 16(2):71-81. DOI: 10.21294/1814-4861 - 2017-16-2-71-81).

30 Для некоторых РТА в результате многочисленных исследований было выявлено их прогностическое значение, которое может быть использовано для уточняющей диагностики и при раке тела матки (см. Matkovic B., Juretic A., Spagnoli G.C., Separovic V., Gamulin M., Separovic R., Saric N., Basic-Koretic M., Novosel I., Kruslin B. Expression of MAGE-A and NY-ESO-1 cancer/testis antigens in medullary breast cancer: retrospective 35 immunohistochemical study. *Croat Med J.*, 2011, no 2, pp.171-177).

MAGEA1 (Melanoma-associated antigen 1) - первый РТА определенный в меланоме, относится к группе тестикулярно-ограниченных РТ-генов, которые экспрессируются только в семенниках и больше ни в какой другой нормальной зрелой ткани, кроме плаценты (см. Hoon D.S., Yuzuki D., Hayashida M. et al. Melanoma patients immunized with 40 melanoma cell vaccine induce antibody responses to recombinant MAGE-1 antigen 2. // *The Journal of Immunology*. - 1995. - Vol. 154. - P. 730-737).

MAGEB2 (Melanoma Antigen Family B2) относится к семейству MAGEB, информация о прогностическом потенциале отсутствует (см. NCBI).

PRAME1 (Melanoma antigen preferentially expressed in tumors) кодирует антиген, который 45 преимущественно экспрессируется в меланомах человека и распознается цитолитическими Т-лимфоцитами. Он не экспрессируется в нормальных тканях, кроме семенников.

Профиль экспрессии аналогичен другим антигенам, таких семейств как MAGE, BAGE

и GAGE. Для этого гена были обнаружены пять альтернативных вариантов транскрипции, кодирующих один и тот же белок (см. www.ncbi.nlm.nih.gov).

Из патентных источников известны:

1) «Способ прогнозирования выживаемости больных эндометриоидным раком тела матки» (см. патент RU 2299690 C1, опубл. 27.05.2007, Бюл. №15), в котором на основе оценки исходного соматического состояния больной и ряда иммуногистохимических параметров опухоли прогнозируется выживаемость больной эндометриоидным раком тела матки. В качестве иммуногистохимических параметров используются Ki-67 и HER2.

2) «Способ определения эффективности лечения рака тела матки» (см. патент RU 2424806 C1, опубл. 27.07.2011 г., Бюл. №21): на основе определения коэффициента соотношения тетрагидро-11-дезоксикортизола к кортизолу через 1,5-2 недели после окончания лечения в суточной моче прогнозируют длительность безрецидивного периода.

3) «Способ прогнозирования развития рецидива при раке тела матки» (см. патент RU 2250077 C2, опубл. 20.04.2005 г., Бюл. №11): включает биохимическое исследование в ткани злокачественной опухоли и эндометрия, при этом до и после проведения комплексного лечения определяют активности катепсина Д и кислотостабильных ингибиторов, рассчитывают коэффициент соотношения катепсина Д и кислотостабильных ингибиторов, и при уровне коэффициента, превышающем показатели, характерные для ткани интактного эндометрия, более чем в 2,4-2,8 раза, прогнозируют развитие рецидива рака эндометрия в срок до 6 месяцев.

4) «Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1» (патент RU 2611352 C1, опубл. 21.02.2017 Бюл. №6). Основан на расчете относительной экспрессии генетического локуса ESR1 с последующим вычислением соотношения экспрессии этого гена в опухолевой ткани относительно нормальной ткани матки по формуле $K = RE_{cancer} / RE_{normal}$. При значении К в пределах $0,31 \leq K_{ESR1} \leq 0,81$ прогнозируют благоприятный исход заболевания. При значении К в пределах $5,84 \leq K_{ESR1} \leq 9,32$ прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Описанные изобретения используют более трудоемкие и сложные в анализе способы, при этом обладающие меньшей чувствительностью и специфичностью, чем предлагаемый нами.

Изобретение «Способ прогнозирования развития метастазов у больных раком тела матки на основе анализа экспрессии генов MAGEA1, MAGEB2 и PRAME1» является новым, так как относительная экспрессия данных РТА генов ранее не использовалась для решения поставленного технического результата.

Техническим результатом заявляемого изобретения является создание нового, простого в исполнении, не дорогостоящего и более точного способа прогнозирования развития метастазов у пациенток с диагнозом рак тела матки.

Технический результат достигается тем, что получают кДНК на матрице тотальной РНК с помощью реакции обратной транскрипции, проводят амплификацию кДНК с высокоспецифичными праймерами для генов MAGEA1, MAGEB2, PRAME1 и GAPDH, анализируют первичные данные и вычисляют коэффициент относительной экспрессии (К) (соотношения относительной экспрессии генов MAGEA1, MAGEB2, PRAME1 в опухолевой ткани относительно условно нормальной ткани матки), сравнивают полученные значения K_{MAGEA1} , K_{MAGEB2} , K_{PRAME1} с интервалами прогностических коэффициентов экспрессии, и при значении $K_{MAGEA1} < 1,9 \pm 0,47$, $K_{MAGEB2} < 1,0 \pm 0,54$ и

$K_{PRAME1} < 1,1 \pm 0,21$ прогнозируют течение заболевания без метастазов (чувствительность 95%, специфичность 90%), а при значении $K_{MAGEA1} > 3,9 \pm 0,87$, $K_{MAGEB2} > 11,5 \pm 1,59$ и $K_{PRAME1} > 3,8 \pm 0,98$ прогнозируют развитие метастазов (чувствительность 85%, специфичность 90%). При значениях коэффициента K между указанными интервалами считают полученный результат неопределенным.

Заявленный анализ основан на определении экспрессии генов MAGEA1, MAGEB2, PRAME1, предварительно нормализованных относительно референсного локуса GAPDH, и последующем вычислении соотношения экспрессии гена в опухолевой ткани по отношению к нормальной ткани: $K = E_{\text{cancer}} / E_{\text{normal}}$.

Заявленный способ включает следующие приемы: выделение тотальной РНК из тканевых проб с помощью метода гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции; определение относительной экспрессии генетических локусов методом ПЦР-РВ в присутствии красителя EvaGreen Dye и специфичных праймеров на матрице синтезированной кДНК; анализ первичных данных с помощью программного продукта амплификатора; расчет экспрессии гена на основании соотношения сигналов, продуцируемых ампликонами изучаемой и референсной последовательностей, и обработка данных на соответствие значениям коэффициентов экспрессии, характерным для групп пациенток с метастазами или без метастазов.

Заявляемый способ осуществляется следующим образом.

На первом этапе отбирают образцы тканей пациенток - опухолевые и условно здоровые, из операционного или биопсийного материала. Образцы для транспортировки в лабораторию и хранения замораживают в жидком азоте.

Фрагменты ткани измельчают скальпелем и/или ножницами, дополнительно растирают в фарфоровых ступках в присутствии лизирующего раствора, содержащего 4 М гуанидин тиоцианат, 25 мМ цитрат натрия, 0,5% саркозил и 0,1 М 2-меркаптоэтанол.

Затем в лизат добавляют 1М цитрат Na pH 4,0, кислый фенол и смесь хлороформ/изоамиловый спирт, перемешивают на вортексе и охлаждают образцы при 0°C в течение 15 мин.

Дальнейшее выделение РНК из тканей проводят по методу по P. Chomczynski & N. Sacchi (2006) (см. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. Nat Protoc. 2006; 1(2):581-5). Выделенная РНК обрабатывается ДНКазой.

Перед проведением реакции обратной транскрипции для проверки качества выделенной РНК проводят электрофорез в 2% геле агарозы по методу Masek T. et al. (см. Masek T., Vopalensky V., Suchomelova P., Pospisek M. Denaturing RNA electrophoresis in TAE agarose gels. // Anal Biochem. - 2005 -336(1) - P. 46-50.).

Перед проведением реакции обратной транскрипции измеряют концентрацию полученных препаратов РНК на флюориметре и нормализуют ее до 2 нг/мкл. Синтез кДНК можно проводить с использованием коммерческих наборов основанных на применении обратной транскриптазы M-MuLV Reverse Transcriptase и случайных праймеров (random hexamer). Реакцию обратной транскрипции проводят при 37°C в течение 30 минут.

Анализируемые последовательности генетических локусов амплифицировали в 20 мкл ПЦР-смеси, содержащей 12 нг кДНК, 0,20 мМ dNTPs, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1х-ый ПЦР-буфер и 0,1 е.а. ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus*, краситель EVA-Green и по 600 нМ прямого и обратного праймеров для референсного гена (GAPDH) или гена-мишени. Прямые и обратные праймеры были разработаны с использованием референсных

последовательностей NCBI GenBank (таблица 1).

Таблица 1

**Способ прогнозирования развития метастазов у больных раком тела
матки на основе анализа экспрессии генов *MAGEA1*, *MAGEB2* и *PRAME1***

№	Название генетического локуса	Последовательности праймеров 5'→3'	
		Прямой	Обратный
1	<i>GAPDH</i>	GTCAAGGCTGAGAACGGGAA	TCGCCCCACTTGATTTTGGG
2	<i>MAGEA1</i>	GAAGGAACCTGACCCAGGC	AGGGAATCCTGTCTCTGCG
3	<i>MAGEB2</i>	AGCCAGGGGTGAATTCTCAG	GGCACGGAGCTTACTCTTCT
4	<i>PRAME1</i>	GCTGAGCCATTGTCTCGTTC	AGGTCTCAGTCACTTGTTGCC

Количественную ПЦР-РВ амплификацию проводили на термоциклере в соответствии с инструкциями производителя по следующей программе. Первичная денатурация: $t=95^{\circ}\text{C}$ в течение 4 мин. 40 циклов: $t=95^{\circ}\text{C}$ в течение 10 с, $t=58^{\circ}\text{C}$ в течение 30 с, $t=72^{\circ}\text{C}$ в течение 30 с.

В одной постановке в качестве матрицы использовали одновременно кДНК опытной (опухоль) и контрольной (условно здоровая ткань) пробы для определения сигналов, продуцируемых амплификатами локусов *MAGEA1*, *MAGEB2*, *PRAME1* и референсного *GAPDH*, каждого в трех повторностях.

Относительная экспрессия генетических локусов вычисляется следующим образом:

- рассчитывают медиану C_t по трем повторам для целевого локуса и референсного

GAPDH,

- далее рассчитывают величину $\Delta C_t = C_t(\text{ген мишень}) - C_t(\text{GAPDH})$

- относительную экспрессию генетического локуса (RE) рассчитывают по формуле $2^{-\Delta C_t}$.

Вывод об изменении экспрессии гена делают, сравнивая показатели относительной экспрессии генетических локусов в опухолевой и условно здоровой ткани. Для этого вычисляют медиану $RE_{\text{оп}}$ опухолевых образцов и медиану $RE_{\text{к}}$ контрольных (условно здоровая ткань) для каждого генетического локуса и рассчитывают соотношение относительной экспрессии генов в опухолевой ткани по отношению к нормальной ткани матки: $K = RE_{\text{cancer}} / RE_{\text{normal}}$.

Далее сравнивают полученные значения K с интервалом прогностического коэффициента экспрессии, и при значении $K_{\text{MAGEA1}} < 1,9 \pm 0,47$, $K_{\text{MAGEB2}} < 1,0 \pm 0,54$ и $K_{\text{PRAME1}} < 1,1 \pm 0,21$ прогнозируют течение заболевания без метастазов (чувствительность 95%, специфичность 90%), а при значении $K_{\text{MAGEA1}} > 3,9 \pm 0,87$, $K_{\text{MAGEB2}} > 11,5 \pm 1,59$ и $K_{\text{PRAME1}} > 3,8 \pm 0,98$ прогнозируют развитие метастазов (чувствительность 85%, специфичность 90%). При значениях коэффициента K между указанными интервалами считают полученный результат неопределенным.

Для доказательства прогностической ценности гена *MAGEA1*, *MAGEB2* и *PRAME1* приводим 2 выписки из историй болезни.

1) Больная А., 61 год, госпитализирована в марте 2016 г. в онкогинекологическое отделение РНИОИ с верифицированным диагнозом рак тела матки после биопсии эндометрия по месту жительства. Морфологическое заключение о наличии эндометриоидной аденокарциномы было подтверждено при пересмотре в РНИОИ.

Показатели $K_{MAGEA1}=4,2$, $K_{MAGEB2}=12,5$ и $K_{PRAME1}=2,9$ соответствовали прогностическим коэффициентам, характерным для развития метастазов.

16.03.2016 г. больной было выполнено хирургическое вмешательство согласно стандарту лечения: нервосберегающая пангистерэктомия, тазовая и селективная парааортальная лимфаденэктомия. При макроскопической оценке в удаленной матке была обнаружена полиповидная экзофитная опухоль, распространяющаяся на всю полость матки, исключая цервикальный канал. Послеоперационное течение - без особенностей.

Морфологический анализ после операции: в полости матки эндометриоидная аденокарцинома G2 с инвазией в миометрий на глубину 2 мм при толщине стенки матки 2,5 см; в удаленных лимфоузлах и по линии резекции влагалища признаков опухолевого роста не обнаружено.

В октябре 2016 г. при очередном диспансерном осмотре в культе влагалища у больной был обнаружен рецидив, подтвержденный цитологически (ц.а. - аденокарцинома). В этой связи больной было проведено 6 курсов полихимиотерапии по схеме CAP (циклофосфан-адриамицин-цисплатин).

На фоне проведения последнего курса в марте 2017 г. в правой паховой области у пациентки появился метастаз. Опухоль верифицирована, (ц.а. - метастаз аденокарциномы).

В апреле 2017 года, где во время обследования были обнаружены метастатические лимфоузлы в правой аксиллярной области, верифицированные при пункционной биопсии, как аденокарцинома.

В апреле 2017 года начата II линия полихимиотерапии по схеме AUC-7, которую больная не закончила из-за продолжающейся неконтролируемой генерализации с метастазами в легкие. Смерть больной наступила в мае 2017 года, через 15 месяцев после стандартного радикального лечения.

2) Больная Е., 63 года, госпитализирована в онкогинекологическое отделение РНИОИ в ноябре 2016 г. с верифицированным и подтвержденным при пересмотре в РНИОИ диагнозом: рак тела матки в глубокой менопаузе, (г.а. - аденокарцинома). На догоспитальном этапе при сонографическом комбинированном исследовании была обнаружена матка без признаков миомы, нормальных размеров, с неравномерно утолщенным эндометрием до 6-8 мм, местами повышенной эхогенности в зоне срединного М-эха. При СРКТ признаков отдаленного метастазирования и поражения тазовых и парааортальных лимфоузлов не обнаружено.

30 ноября 2016 г. больной выполнена стандартная операция: нервосберегающая пангистерэктомия, тазовая и селективная парааортальная лимфаденэктомия. Макроскопически преимущественно в области дна и верхней половины полости матки обнаружена экзофитная опухоль с инфильтрацией в миометрий и очагами деструкции. Послеоперационный период - без осложнений. Морфологический анализ - G2 эндометриоидная аденокарцинома с инвазией 1/2 стенки матки.

Показатели $K_{MAGEA1}=1,2$, $K_{MAGEB2}=1,1$ и $K_{PRAME1}=0,9$ соответствовали прогностическим коэффициентам, характерным для развития заболевания без метастазов.

В лимфатических узлах и по линии резекции влагалища признаков опухолевого роста не обнаружено, что позволило определить степень распространения процесса, как T1bN0M0. Согласно стандарту комбинированного лечения больная получила курс адъювантной сочетано-лучевой терапии общей СОД: ТА=50 Гр, ТВ=40, FP и эндовагинально 40 Гр.

Больная наблюдается без признаков рецидива и метастазов.

Предлагаемым способом было осуществлено прогнозирование развития/или отсутствия метастазов у 30 пациенток с диагностированным раком тела матки.

Заявляемый способ является экономически оправданным, осуществляется в условиях стандартной лаборатории молекулярной биологии (ПЦР), без использования специального дорогостоящего оборудования; обладает высокой чувствительностью и специфичностью, универсален, его осуществление возможно с операционными биоптатами, регистрацию результатов производят однократно в конце исследования, способ занимает менее 8 часов.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования развития метастазов у больных раком тела матки на основе анализа экспрессии генов MAGEA1, MAGEB2 и PRAME1, включающий выделение тотальной РНК из тканевых проб матки с помощью метода гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции, получение кДНК с помощью реакции обратной транскрипции на матрице РНК и последующую амплификацию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в присутствии красителя EvaGreen, отличающийся тем, что используют высокоспецифичные праймеры для генов MAGEA1, MAGEB2, PRAME1 и GAPDH, проводят анализ первичных данных с помощью программного продукта амплификатора и расчет относительной экспрессии генетических локусов MAGEA1, MAGEB2, PRAME1 по формуле $2^{-\Delta Ct}$ с последующим вычислением соотношения относительной экспрессии в опухолевой ткани относительно нормальной ткани матки по формуле $K = RE_{cancer} / RE_{normal}$, где K - коэффициент относительной экспрессии, RE_{cancer} - относительная экспрессия в опухолевой ткани, RE_{normal} - относительная экспрессия в условно нормальной ткани, сравнивают полученные значения K с интервалом прогностического коэффициента экспрессии и при значениях $K_{MAGEA1} < 1,9 \pm 0,47$, $K_{MAGEB2} < 1,0 \pm 0,54$ и $K_{PRAME1} < 1,1 \pm 0,21$ прогнозируют течение заболевания без метастазов, а при значениях $K_{MAGEA1} > 3,9 \pm 0,87$, $K_{MAGEB2} > 11,5 \pm 1,59$ и $K_{PRAME1} > 3,8 \pm 0,98$ прогнозируют развитие метастазов.