РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2611352

Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1

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

Авторы: ***см. на обороте***

Заявка № **2015146517**
Приоритет изобретения **28 октября 2015 г.**
Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **21 февраля 2017 г.**
Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **28 октября 2035 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 611 352**(13) **C1**

(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2015146517, 28.10.2015**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.10.2015

Дата регистрации:
21.02.2017

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **28.10.2015**

(45) Опубликовано: **21.02.2017** Бюл. № **6**

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

(72) Автор(ы):
Водолажский Дмитрий Игоревич (RU),
Моисеенко Татьяна Ивановна (RU),
Кутилин Денис Сергеевич (RU),
Тимошкина Наталья Николаевна (RU),
Никитин Иван Сергеевич (RU),
Двадненко Константин Владимирович (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 2299690 C1, 27.05.2007 RU 2250077 C2, 20.04.2005 LIVAK K.J. et al. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001 Dec; 25(4): 402-408 [Найдено 05.05.2016] [он-лайн], Найдено из Интернет: URL: http://www.gene-quantification.net/livak-2001.pdf.**

(54) Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к молекулярной онкологии, и предназначено для прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1. Осуществляют выделение тотальной РНК из тканевых проб матки с помощью метода гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции, получение кДНК с помощью обратной транскрипции на матрице РНК и последующую амплификацию в режиме ПЦР-РВ. Проводят расчет 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 K в пределах $0,31 \le K_{ESR1} \le 0,81$ прогнозируют благоприятный исход заболевания. При значении K в пределах $5,84 \le K_{ESR1} \le 9,32$ прогнозируют неблагоприятный исход заболевания. Изобретение обеспечивает эффективное прогнозирование выживаемости больных раком тела матки. 2 табл., 2 пр.

RU 2611352 C1

RU 2611352 C1

RUSSIAN FEDERATION

(19) **RU** (11) **2 611 352**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2015146517, 28.10.2015**

(24) Effective date for property rights:
28.10.2015

Registration date:
21.02.2017

Priority:
(22) Date of filing: **28.10.2015**

(45) Date of publication: **21.02.2017** Bull. № **6**

Mail address:
344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63, RNIOI, Ishoninoj O.G.

(72) Inventor(s):
Vodolazhskij Dmitrij Igorevich (RU),
Moiseenko Tatyana Ivanovna (RU),
Kutilin Denis Sergeevich (RU),
Timoshkina Natalya Nikolaevna (RU),
Nikitin Ivan Sergeevich (RU),
Dvadnenko Konstantin Vladimirovich (RU),
Frantsiyants Elena Mikhajlovna (RU)

(73) Proprietor(s):
federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe uchrezhdenie "Rostovskij nauchno-issledovatelskij onkologicheskij institut" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)

(54) METHOD FOR PREDICTION OF ENDOMETRIAL CANCER PATIENTS SURVIVAL ON THE BASIS OF THE ESR1 GENE EXPRESSION LEVEL

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly to molecular oncology, and it is aimed at prediction of the survival rate of endometrial cancer patients based on the level of the ESR1 gene expression. Total RNA is exposed from tissue samples of uterus by Guanidine-thiocyanate-phenol-chloroform extraction method, cDNA exposure using reverse transcription to RNA matrix and further amplification in the mode of RT PCR. Calculation of the ESR1 genetic locus relative expression to calculate a ratio of expression of this gene in tumour tissue relative to normal tissue of uterus by formula $K=RE_{cancer}/RE_{normal}$. When K value is within the $0.31 \le K_{ESR1} \le 0.81$ favourable outcome of disease is predicted. When K value is within $5.84 \le K_{ESR1} \le 9.32$ unfavourable outcome of disease is predicted.

EFFECT: invention provides effective prediction of survival rate of endometrial cancer patients.

1 cl, 2 tbl, 2 ex

RU 2611352 C1

RU 2611352 C1

Изобретение относится к медицине, а именно к молекулярной биологии, онкологии, и касается способа прогнозирования благоприятного/неблагоприятного прогноза заболевания по уровню относительной экспрессии гена ESR1 у больных раком тела матки.

Рак тела матки является самой распространенной злокачественной опухолью органов малого таза у женщин (World Cancer Report 2014. World Health Organization. Chapter 5.12). Рак тела матки относят к гормонально зависимым опухолям. Эндометрий, являясь «тканью-мишенью» для половых гормонов, чрезвычайно чувствителен к действию эстрогенов (Causes, Risk Factors, and Prevention TOPICS - Do we know what causes endometrial cancer? - cancer.org - American Cancer Society - Retrieved 5 January 2015). Биологический эффект эстрогенов реализуется через их взаимодействие с эстрогенными рецепторами, которые, в свою очередь, активируют гены-мишени во многих тканях. Показано, что повышенная экспрессия ERα (ESR1) сопровождает процессы онкотрансформации во многих тканях (Bardin A., Boulle N., Lazennec G., Vignon F. Loss of ERb expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression// Endocrine-Related Cancer. 2004. Vol. 11. P. 537-551). Поэтому в качестве маркеров для прогнозирования вероятности благоприятного/неблагоприятного прогноза заболевания у больных раком тела матки адекватно использовать уровень относительной экспрессии гена эстрогенного рецептора α (ESR1).

Рецидивы являются одной из ведущих причин неудач в лечении рака тела матки и определяют неблагоприятный прогноз заболевания. Частота возникновения рецидивов варьирует от 28 до 40% при железисто-плоскоклеточном раке и до 5-10% при высокодифференцированной аденокарциноме эндометрия (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 (Кузнецов В.В., Нечушкина В.М. Хирургическое лечения рака тела матки. Практ. онкология 2004; (17): 25-32.). С увеличением промежутка времени после операции прогрессивно снижается вероятность появления местного рецидива. Развитие рецидива рака тела матки наиболее часто отмечают в течение первых 16-21 месяцев после операции. По срокам клинического проявления рецидивы разделяют на ранние, установленные в первые 2 года после операции, и поздние, выявленные в срок более 2 лет (например, через 12 лет). 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 не изучены, но, скорее всего, зависят от биологических особенностей опухоли.

Анализ патентных источников показал наличие следующих (близких по тематике данному) изобретений:

1) «Способ прогнозирования выживаемости больных эндометриоидным раком тела матки» (Заявка: 2006103550/14, 08.02.2006, RU

(11) 2299690(13) C1, опубликовано: 27.05.2007): 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» (Заявка: 2010127670/15, 05.07.2010): 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» (Заявка: 2002132759/15, 05.12.2002, RU 2250077 C2, Опубликовано: 20.04.2005, Патентообладатель (и): Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (RU), Сидоренко Юрий Сергеевич (RU), Моисеенко Татьяна Ивановна (RU), Франциянц Елена Михайловна (RU), Черярина Наталья Дмитриевна (RU), по данным на 07.07.2015 - прекратил действие): 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.

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

Изобретение «Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1» является новым, так как относительная экспрессия данного гена ранее не использовалась для заявленной в способе цели.

Целью заявляемого изобретения является создание нового, простого в исполнении, недорогостоящего и более точного способа прогнозирования выживаемости пациенток с диагнозом рак тела матки.

Сущность заявляемого способа заключается в том, что получают кДНК на матрице тотальной РНК с помощью реакции обратной транскрипции, проводят амплификацию кДНК с высокоспецифичными праймерами для генов ESR1 и ACTB, анализируют первичные данные и вычисляют коэффициент относительной экспрессии (К) (соотношения относительной экспрессии гена ESR1 в опухолевой ткани относительно условно нормальной ткани матки), сравнивают полученные значения К с интервалом прогностического коэффициента экспрессии, и при значении К в пределах $0{,}31 \leq K_{ESR1} \leq 0{,}81$ прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при значении К в пределах $5{,}84 \leq K_{ESR1} \leq 9{,}32$ прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Заявленный анализ основан на определении экспрессии гена ESR1, предварительно нормализованного относительно референтного локуса ACTB, и последующем вычислении соотношения экспрессии гена в опухолевой ткани по отношению к нормальной ткани: $K=E_{cancer}/E_{normal}$.

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 благоприятным или неблагоприятным исходом заболевания.

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 1 М цитрат Na pH 4,0, кислый фенол и смесь хлороформ/изоамиловый спирт, перемешивают на вортексе и охлаждают образцы при 0°С в течение 15 мин. Дальнейшее выделение РНК из тканей проводят по методу по P. Chomczynski & N. Sacchi (2006) (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. (Masek T., Vopalensky V., Suchomelova P., Pospisek M. Denaturing RNA electrophoresis in TAE agarose gels. // Anal Biochem. - 2005 - 336 (1) - P. 46-50). Также перед проведением реакции обратной транскрипции необходимо измерить концентрацию полученных препаратов РНК на флюориметре и нормализовать 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 проводили при 37°С в течение 30 минут.

Анализируемые последовательности генетических локусов амплифицировали в 25 мкл ПЦР-смеси, содержащей 12 нг кДНК, 0,25 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl2, 1х-ый ПЦР-буфер и 0,1 е.а. ДНК-полимеразы Thermus aquaticus, краситель EVA-Green и по 230 нМ прямого и обратного праймеров для референтного гена (актина, ACTB) или гена-мишени. Прямые и обратные праймеры были разработаны с использованием референсных последовательностей NCBI GenBank (таблица 1).

Таблица 1

Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня относительной экспрессии гена *ESR1*

Наименование праймеров	№ NCBI GenBank	Хромосомная локализация	Последовательность	T отжига, °C
ESR1	NM_001122741.1	6q25.1	F: TGGAGTCTGGCTCTGTGAGG R: CAATGGTGCACTGGTTGGTG	60
ACTB	NM_001101.3	7p22	F: AACCGCGAGAAGATGACCC R: AGCACAGCCTGGATAGCAAC	60

Количественную ПЦР-РВ амплификацию проводили на термоциклере в соответствии с инструкциями производителя по следующей программе. Первичная денатурация: t= 95°С в течение 3 мин. 40 циклов: t=95°С в течение 10 с, t=60°С в течение 30 с, t=72°С в течение 15 с. В одной постановке в качестве матрицы использовали одновременно кДНК опытной (опухоль) и контрольной (условно здоровая ткань) пробы для определения сигналов, продуцируемых амплификатами локусов ESR1 и референсного ACTB, каждого в трех повторностях.

Относительная экспрессия генетических локусов вычислялась следующим образом:

- рассчитывали медиану C_t по трем повторам для целевого локуса и референсного ACTB,

- далее рассчитывали величину $\Delta C_t = C_t(ESR1) - C_t(ACTB)$,

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

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

Далее сравнивают полученные значения К с интервалом прогностического коэффициента экспрессии, и при значении К в пределах $0,31 \leq К_{ESR1} \leq 0,81$ прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при значении К в пределах $5,84 \leq К_{ESR1} \leq 9,32$ прогнозируют неблагоприятный исхода заболевания. В таблице 2 представлены коэффициенты экспрессии гена ESR1 в операционных биоптатах у пациенток с благоприятным и неблагоприятным исходом заболевания.

Таблица 2

Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена *ESR1*

Наименование гена	(К) для пациенток с благоприятным прогнозом	(К) для пациенток с неблагоприятным прогнозом
ESR1	0,56±0,25*	7,58±1,74*

* - статистически достоверные результаты (для уровня $p<0,005$)

Для доказательства прогностической ценности гена ESR1 приводится 2 выписки из историй болезни.

1) Больная С. 61 года госпитализирована в марте 2013 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.

$К_{ESR1}$ в биоптате у данной пациентки составил 9,30.

На этапе догоспитального обследования при комбинированном сонографическом исследовании гениталий и органов брюшной полости, малого таза было обнаружено минимальное распространение процесса в пределах полости матки, без перехода на цервикальный канал. В зоне срединного М-эха обнаружились участки повышенной эхогенности с толщиной эндометрия до 5-6 мм. В тазовых и парааортальных лимфатических узлах при СРКТ признаков метастатического поражения не выявлено, что позволило предположить до операции стадию T1NxM0. Сопутствующее гинекологическое заболевание - мелкоузловая миома матки. Рак эндометрия у больной развился на фоне метаболического синдрома в менопаузе более 7 лет. 16.03.2013 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 №9060-58 обнаружил в полости матки эндометриоидную аденокарциному 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. Таким образом, степень распространения процесса, согласно классификации TNM соответствовала T1aN0M0. Учитывая общую площадь поражения полости матки карциномой эндометрия и умеренную степень дифференцировки опухоли, в апреле-мае 2010 г. больная получила курс адъювантной сочетанно-лучевой терапии: ТА=40 Гр, ТВ=40 Гр и эндовагинальную γ-терапию в дозе 40 Гр. В октябре 2013 г. при очередном диспансерном осмотре в культе влагалища у больной был обнаружен рецидив, подтвержденный цитологически (ц.а. №34721-23 аденокарцинома). В этой связи больной было проведено 6 курсов полиохимиотерапии по схеме CAP. (циклофосфан-адриамицин-цисплатин). На фоне проведения последнего курса в марте 2014 г. в правой паховой области у пациентки появился метастаз. Опухоль верифицирована (ц.а. №2943-44 - метастаз аденокарциномы). Больная консультирована в РОНЦ им. Н.Н. Блохина в апреле 2014 года, где во время обследования были обнаружены метастатические лимфоузлы в правой аксиллярной области, верифицированные при пункционной биопсии как аденокарцинома. В апреле 2014 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 2014 года, через 15 месяцев после стандартного радикального лечения.

* * *

2) Больная Б. 63 лет, госпитализирована в онкогинекологическое отделение РНИОИ 27 ноября 2013 г. с верифицированным и подтвержденным при пересмотре в РНИОИ диагнозом: рак тела матки в глубокой менопаузе (г.а. №4597-99 - 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. Сопутствующая соматическая патология - гипертоническая болезнь, сахарный диабет II типа, избыточный вес - признаки метаболического синдрома. 30 ноября 2013 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 №73365-72-G2 эндометриоидная аденокарцинома с инвазией 1/2 стенки матки.

K_{ESR1} в биоптате у данной пациентки составил 0,72.

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 по апрель 2015 г. без признаков рецидива и метастазов.

Предлагаемым способом было осуществлено прогнозирование выживаемости 25 пациенток с диагностированным раком тела матки.

Технико-экономическая эффективность изобретения. «Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1» позволяет с высокой точностью прогнозировать исход такого заболевания, как рак тела матки. Заявляемый способ является экономически оправданным для уточнения

особенностей течения заболевания и дает возможность скорректировать тактику лечения, 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, способ занимает не более 10 часов.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования выживаемости больных раком тела матки на основании уровня экспрессии гена ESR1, 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 ESR1 и ACTB, проводят анализ первичных данных с помощью программного продукта амплификатора и расчет относительной экспрессии генетического локуса ESR1 по формуле $2^{-\Delta Ct}$ с последующим вычислением соотношения относительной экспрессии этого гена 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 значении K в пределах $0,31 \leq K_{ESR1} \leq 0,81$ прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при значении K в пределах $5,84 \leq K_{ESR1} \leq 9,32$ прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.