

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Р.А. Часнойть
6 марта 2008 г.
Регистрационный № 090-1006

**МЕТОД ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
АНЕМИИ ФАНКОНИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-
практический центр «Мать и дитя»

АВТОРЫ: канд. биол. наук А.Д. Политыко, канд. мед. наук И.В. Наумчик,
О.М. Хурс, Т.М. Егорова

Минск 2008

Настоящая инструкция предназначена для специалистов НИИ, медицинских НПЦ, медико-генетических центров, занимающихся лабораторной диагностикой генетических заболеваний.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Оборудование:

световой бинокулярный микроскоп лабораторного/профессионального класса с иммерсионным объективом $\times 100$, объективами $\times 20/40/60$;

стерильный бокс (ламинарный);

инкубатор (обеспечение температуры культивируемого материала $37\text{ }^{\circ}\text{C}$);

центрифуга лабораторная (1000–3000 об./мин, 120g);

вортекс;

холодильник с морозильной камерой;

вытяжной шкаф;

контейнер для транспортировки крови;

комплект автоматических микропипеток с наконечниками;

предметные стекла;

стерильная посуда для культуры клеток:

- пробирки для культивирования объемом 15 мл или стеклянные флаконы объемом 20–30 мл
- пипетки объемом 1, 2, 5 и 10 мл
- эппендорф-пробирки объемом 1–2 мл для хранения реактивов.

Реагенты

Приводятся наиболее часто используемые формы указанных реагентов, зарегистрированных или проходящих регистрацию на территории Республики Беларусь и рекомендованных к применению Минздравом:

– раствор натриевой (литиевой) соли гепарина

– культуральная питательная среда (рекомендуются для использования: RPMI 1640, среда Игла (Eagle), MEM, среда 199, Ham's F10, др.)

– сыворотка крови (применяются эмбриональная телячья сыворотка, сыворотка крови крупного рогатого скота или лошади, сыворотка крови человека и др.)

– антибиотики — стрептомицин, пенициллин, гентамицин

– L-глутамин, формы выпуска: раствор - 200 мМ (M=146) или лиофилизированный порошок

– митоген — фитогемагглютинин (ФГА), оптимальная форма M

– блокатор митозов — колцемид или колхицин

– соль KCl (хч или чда)

– соль Na_2HPO_4 (хч или чда)

– соль KH_2PO_4 (хч или чда)

– ледяная уксусная кислота

– этанол или метанол (применяются спирты абсолютный или 96%).
Использование метанола требует наличия специального разрешения на хранение и применение.

- алкилирующие агенты ММС или DEB
- иммерсионное масло
- краситель Гимзы.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Диагностика хромосомной нестабильности по приведенной схеме проводится при клинически предполагаемом синдроме «анемия Фанкони» (АФ)(ОМIM #227645–227660), анемии неясного генеза, апластической анемии, а также у sibсов пробанда с целью ранней пресимптоматической диагностики АФ.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Нет.

ПРИНЦИПЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АФ

Следствием мутаций в генах АФ является нарушение процессов узнавания и репарации дефектов ДНК, что приводит к гиперчувствительности клеток больного к мутагенному воздействию. Это проявляется на цитогенетическом уровне значительным увеличением частоты **аббераций хромосом (АХ)**. В экспериментах *in vitro* была показана высокая специфическая чувствительность генетического аппарата клеток пациентов с АФ к алкилирующим агентам. Поэтому диагностическими характеристиками АФ на цитогенетическом уровне являются:

- 1) частота и спектр **спонтанных фоновых АХ**
- 2) частота и спектр **индуцированных *in vitro* АХ**

Для изучения данных характеристик цитогенетического статуса пациента необходима постановка двух видов параллельных клеточных культур лимфоцитов периферической крови:

- 1) культивирование без добавления алкилирующего мутагена
- 2) культивирование с добавлением алкилирующего мутагена

В качестве провоцирующего мутагена в культуре клеток рекомендуется применять один из следующих модельных алкилирующих агентов - митомицин С (ММС) или диэпоксидбутан (DEB).

Генетически детерминированная хромосомная нестабильность при АФ реализуется в каждом поколении дочерних клеток за счет вновь возникших в них АХ. Поэтому возможно культивирование клеток либо в течение 48 ч (для анализа частоты и спектра АХ на стадии метафазы первого митоза), либо в течение 72 ч (для анализа частоты и спектра АХ на стадии метафазы второго митоза).

Приготовление растворов и реагентов

- Рабочий раствор гепарина 250 МЕ/мл в культуральной среде RPMI 1640 (для отечественного продукта, раствора гепарина 5000 МЕ/мл,

необходимо разведение 1:20 соответственно). Флакон для взятия образцов крови должен содержать 0,1 мл раствора гепарина на каждый 1 мл взятой цельной крови.

Примечание. Необходимо учитывать, что увеличение количества гепарина оказывает негативное влияние на дальнейшее культивирование и митотические деления клеток, поэтому превышение указанной концентрации недопустимо.

- Раствор ФГА готовят в соответствии с указаниями фирмы-производителя, приготовленный раствор разливают на аликвоты по 1 мл и хранят при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Рабочий раствор антибиотиков пенициллин-стрептомицин имеет следующую концентрацию: стрептомицин — 10000 мкг/мл, пенициллин — 10000 МЕ/мл.

1 мл рабочего раствора антибиотиков внести в 100 мл питательной культуральной среды.

- Конечная концентрация L-глутамин в культуральной смеси — 1% (0,3 мг/мл). Раствор L-глутамин нестойк.

Примечание. Раствор разлить на аликвоты и хранить в замороженном состоянии при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Рабочий раствор колцемида — 10 мкг/мл, рабочий раствор колхицина — 30 мкг/мл. Хранить при $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение года. Более длительное хранение растворов возможно при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Гипотонический раствор — 0,075 М KCl (5,6 г KCl растворить в 1000 мл дистиллированной воды).

- Фиксатор – смесь этанола (метанола) и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1 соответственно.

Примечание. Фиксатор нестойк при хранении. Необходимо использовать только свежеприготовленный и охлажденный в морозильной камере фиксатор.

- Растворы алкилирующих агентов:

1. Рабочий раствор ММС концентрации 20 мкг/мл: растворить 20 мкг лиофилизированного порошка в 1 мл стерильной дистиллированной воды. Раствор ММС в культуральную смесь вносят в конечной концентрации 0,1 мкг/мл (внести 5 мкл раствора ММС на каждый 1 мл культуральной смеси, например, в культуру объемом 6 мл необходимо добавить 30 мкл раствора ММС).

2. Рабочий раствор DEB концентрации 1 мкг/мл: 9 мкл коммерческого раствора DEB (Sigma) развести в 1 мл стерильного физиологического раствора (0,9% NaCl). Раствор DEB в культуральную смесь вносят в конечной концентрации 0,1 мкг/мл (внести 0,1 мл раствора на каждый 1 мл культуральной смеси).

Примечание: Растворы ММС и DEB очень нестабильны, приготовленные растворы разливают на аликвоты и хранят при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Использовать для введения в культуру немедленно после размораживания или хранить при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 24 ч.

- Буфер для краски (pH 6,8), необходимые растворы готовят заранее:

1. 0,07 М раствор KH_2PO_4 : растворить в 1000 мл дистиллированной воды 9,53 г KH_2PO_4 .

2. 0,07 М раствор Na_2HPO_4 : растворить в 1000 мл дистиллированной воды 9,94 г Na_2HPO_4 .

Для получения буфера растворы смешивают в соотношении 1:1 непосредственно перед употреблением, необходим контроль значения рН. Буфер не подлежит хранению.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

Получение, хранение и транспортировка образцов крови

Периферическая венозная кровь (2–5 мл), взятая в стерильный шприц, переносится в стерильный флакон с раствором гепарина, смесь осторожно перемешивается.

Транспортировка образцов крови проводится в изолированном контейнере. При транспортировке следует избегать наклона и опрокидывания флаконов. При комнатной температуре (до 25 °С) образцы крови могут сохраняться не более суток, при температуре +4 – +9°С в изолированном контейнере — до нескольких дней. Однако важно учитывать, что у пациентов с синдромами хромосомной нестабильности клетки лимфоцитов характеризуются сниженным ответом на действие ФГА, и культура, как правило, имеет низкий митотический индекс. Вследствие этого длительное хранение образцов крови не рекомендуется. Хранение и транспортировка образца гепаринизированной цельной крови при температуре ниже +4 °С не допускается.

Примечание. В случаях, когда объем взятой крови невелик (1–1,5 мл), при хранении и транспортировке есть опасность высыхания образца в посуде большого объема. Во избежание этого к имеющемуся объему необходимо добавить 0,5–1 мл стерильной культуральной питательной среды, отразить эту информацию в сопроводительных документах и в подписях на флаконе и далее учитывать это разведение при постановке клеточной культуры.

Информация о биологическом материале, поступающем в лабораторию, должна заноситься в лабораторный регистр. Каждому образцу присваивается соответствующий номер, отражающий порядковый номер поступления и дату получения. Этот номер переносится на этикетки флаконов для культивирования образца и далее сохраняется на всех этапах обработки и анализа материала (постановка и обработка культуры лимфоцитов периферической крови, приготовление и анализ цитогенетических препаратов, хранение суспензий клеток). Маркировка культуральных флаконов и цитогенетических препаратов должна отражать время культивирования ткани (48- или 72-часовая культура), вид и концентрацию используемого мутагена.

Процедура постановки культуры лимфоцитов (полумикрометод)

Подготовительные работы и постановка культуры клеток выполняются в стерильных условиях. Во флакон культуральной среды внести рабочий раствор L-глутамина в расчете 1 мл на 100 мл среды и подписать дату внесения.

Примечание. Срок сохранения активности L-глутамина в культуральной среде — 1 месяц, после чего этот компонент должен быть добавлен вновь.

Приготовление культуральной смеси

- 5,5 мл культуральной среды RPMI 1640 (следует контролировать последнюю дату внесения L-глутамина)
- 0,5 мл эмбриональной телячьей сыворотки
- 0,5 мл периферической крови
- ФГА (конечная концентрация рассчитывается для митогенов согласно указаниям фирмы-производителя)

Примечание. Превышение оптимальных концентраций ФГА вызывает токсический эффект и снижает митотический индекс культуры.

Клеточную культуру инкубируют при 37 °С в течение 48 или 72 ч.

Внесение алкилирующего агента

Алкилирующий агент вносится на последние 24 часа культивирования, т. е.:

- на 24-м ч культивирования в 48-часовой культуре
- на 48-м ч культивирования в 72-часовой культуре

Обработка культуры лимфоцитов периферической крови

1. За 45–60 мин до окончания культивирования во флакон нестерильно внести раствор блокатора митозов (колцемид — конечная концентрация 0,1 мкг/мл, колхицин — конечная концентрация 0,3 мкг/мл).

Примечание: для параллели культуры лимфоцитов с добавлением алкилирующего агента время инкубирования с колцемидом/колхицином рекомендуется увеличить на 15–20 мин.

2. По окончании экспозиции колхицином/колцемидом добавить в пробирку 2 мл гипотонического раствора 0,075 М KCl (предварительно подогретого до 37 °С) и тщательно перемешать.

3. Центрифугировать смесь при 1,5 тыс. оборотов в течение 7–8 мин; осторожно удалить надосадочную жидкость, оставляя в пробирке 0,5–1 мл суспензии; тщательно ресуспендировать осадок с помощью вортекса.

4. В пробирку добавить 8 мл теплого гипотонического раствора, тщательно перемешать, поставить пробирку в термостат (37 °С) на 12–18 мин.

5. В пробирку внести 1 мл фиксатора, тщательно перемешать содержимое.

6. Центрифугировать смесь при 1,5 тыс. оборотов в течение 7–8 мин; осторожно удалить надосадочную жидкость, оставляя 0,5–1 мл смеси; тщательно ресуспендировать осадок с помощью вортекса.

7. В пробирку добавить 10 мл фиксатора, тщательно перемешать, поместить пробирку в морозильник на 25–30 мин.

8. Центрифугировать смесь при 1,5 тыс. оборотов в течение 7–8 мин; осторожно удалить надосадочную жидкость, оставляя 0,5–1 мл смеси; тщательно ресуспендировать осадок с помощью вортекса.

9. Повторить шаги 6–8 не менее двух раз (всего не менее трех смен фиксатора) до получения бесцветной прозрачной надосадочной жидкости. На

этой стадии суспензия клеток пригодна для приготовления цитогенетических препаратов или для длительного хранения.

10. Перед приготовлением препаратов из осадка, находившегося на хранении, необходимо сделать замену фиксатора, для чего повторить шаги 6, 7 и 8 (использовать 10 мл свежеприготовленного фиксатора).

11. Хранить зафиксированную клеточную суспензию следует в морозильной камере при температуре -20°C .

Окраска цитогенетических препаратов

Стандартное равномерное окрашивание хромосом

Стакан 1: 50 мл 4% раствора красителя Гимзы в фосфатном буфере рН 6,8;

Стакан 2: 50 мл фосфатного буфера рН 6,8;

Стакан 3: 50 мл дистиллированной воды.

Препараты погрузить в стакан 1 на 7–9 мин, промыть 2–3 с в стакане 2, затем промыть 2–3 с в стакане 3. Высушить препарат на воздухе в вертикальном положении.

Цитогенетический анализ

Качество препаратов метафазных хромосом

Отбор метафазных пластинок для анализа должен осуществляться с учетом следующих требований:

- обособленность метафазных пластинок друг от друга
- цельность метафазной пластинки
- четкая окраска хромосом
- средняя степень конденсации хромосом
- достаточный разброс хромосом в пределах метафазной пластинки
- небольшое число (1-2) взаимных поперечных наложений хромосом.

Возможные сложности и их преодоление

• *Малое количество митозов.* Для больных анемией возможно снижение в культуре количества делящихся клеток, в связи с чем целесообразна постановка большего количества образцов культуры лимфоцитов. В случае отсутствия роста культуры при повторном культивировании рекомендуется использовать другой митоген.

• *Плохой разброс хромосом, остаточная цитоплазма в метафазах*

- недостаточная продолжительность гипотонической обработки
- допущены ошибки на первой стадии фиксации
- допущены ошибки при раскапывании суспензии клеток
- низкая влажность окружающей среды

• *Неполные метафазные пластинки*

- избыточная продолжительность гипотонической обработки
- слишком большая высота раскапывания суспензии
- высокая влажность окружающей среды

• *Неоптимальная конденсация хромосом в метафазах.* Степень конденсации хромосом зависит от времени воздействия колцемида/колхицина. Экспозиция может быть уменьшена для получения

менее конденсированных хромосом. Однако сокращение времени инкубации с колцемидом/колхицином может привести к снижению количества митозов.

Требования к проведению цитогенетического анализа и оформлению результатов. Анализ частоты АХ выполняется в 100 метафазах лимфоцитов. Используют равномерную окраску хромосом. При цитогенетическом анализе проводится учет *следующих показателей* (%):

- частота клеток с АХ
- суммарная частота всех АХ
- частота АХ хроматидного типа
- частота АХ хромосомного типа
- частота анеуплоидных, полиплоидных клеток.

Классификация aberrаций хромосом

АХ хроматидного типа

Хроматидная делеция (cht del, рис. 1). Одиночный фрагмент обычно лежит рядом с гомологичным участком неповрежденной хроматиды и смещен вдоль оси или под углом.

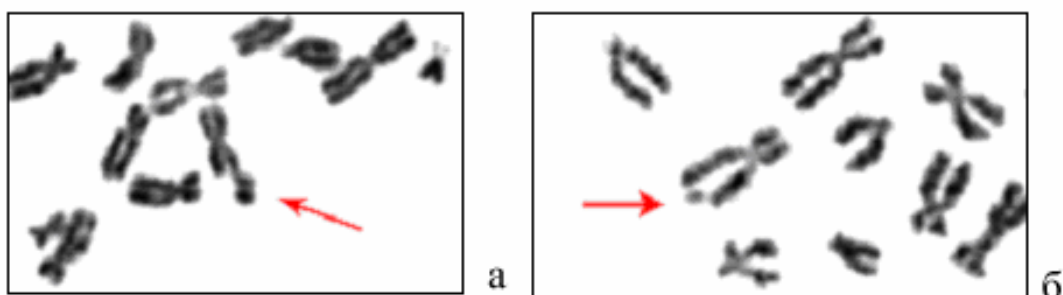


Рис. 1. Хроматидные делеции Аq (а), Сq (б).

Межхромосомный хроматиδο-хроматидный обмен (е, рис. 2а). Возникает в результате воссоединения разрывов хроматид нескольких хромосом. Конфигурация таких АХ может быть разнообразной в зависимости от количества вовлеченных в обмен хромосом. Как правило, в результате таких перестроек образуются характерные кресто- или звездообразные структуры.

Внутрихромосомный внутриплечевой или межплечевой обмен (е, рис. 2б). Перестройка формируется при возникновении двух или нескольких разрывов в одной хроматиде в одном или обоих плечах хромосомы и их последующем аномальном воссоединении.

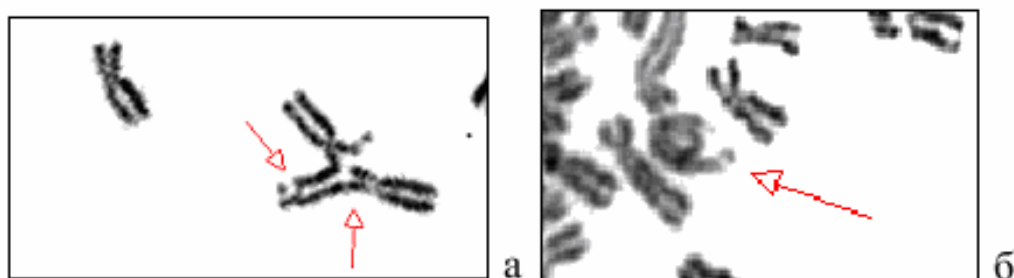


Рис. 2. Межхромосомный хроматидо-хроматидный обмен (а); внутрихромосомный хроматидо-хроматидный обмен (б)

АХ хромосомного типа

Хромосомная делеция (chr del, рис. 3а). Ацентрические образования, располагающиеся параллельно друг другу благодаря взаимодействию и гомологии сестринских хроматид и лежащие рядом с делетированной хромосомой. Размер парных фрагментов может варьировать от точечных (мин) до длинных структур.

Ацентрический свободный парный фрагмент (ас, рис. 3б). Свободно лежащие ацентрические образования. При данной перестройке невозможно идентифицировать поврежденную хромосому.

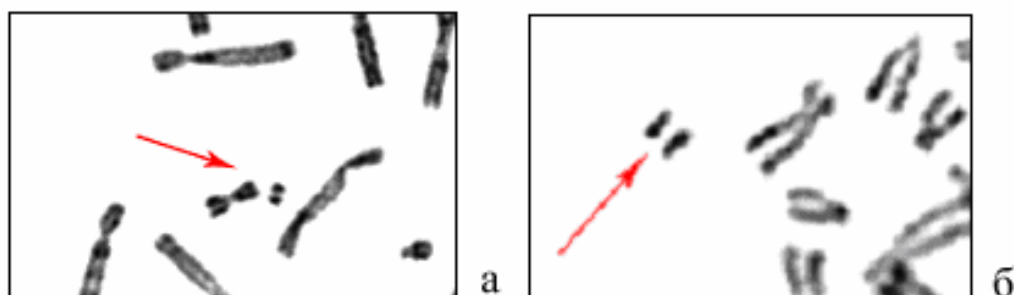


Рис. 3. Хромосомная делеция E_q (а), ацентрический свободный парный фрагмент (б)

Ацентрическое кольцо (ас r). Ацентрическая кольцевая структура, образующаяся из парного фрагмента, который возникает в результате интерстициальной делеции в пределах одного плеча хромосомы.

Инверсия (inv). Образуется при возникновении двух разрывов в одной хромосоме и повороте фрагмента на 180°. При наличии в инвертированном сегменте центромеры возникает *перичентрическая* инверсия; если разрывы произошли в одном плече — *парацентрическая* инверсия. При равномерном окрашивании хромосом могут быть распознаны лишь перичентрические инверсии, если структура хромосомы была значительно изменена.

Кольцевая хромосома (r, рис. 4а). Формируется в случае двух разрывов в обоих плечах хромосомы, центромерная часть образует кольцевую структуру, а дистальные участки — сопутствующий парный фрагмент.

Реципрокная транслокация (t). Образуется при возникновении разрывов в двух различных хромосомах и обмене дистальными ацентрическими участками. При равномерном окрашивании хромосомом значительная часть транслокаций может оставаться нераспознанной.

Дицентрическая хромосома (dic, рис. 4б). Образуется при возникновении разрывов в двух различных хромосомах и воссоединении двух центрических фрагментов. При этом, как правило, в метафазной пластинке присутствует парный фрагмент, возникший при слиянии ацентрических участков поврежденных хромосом.

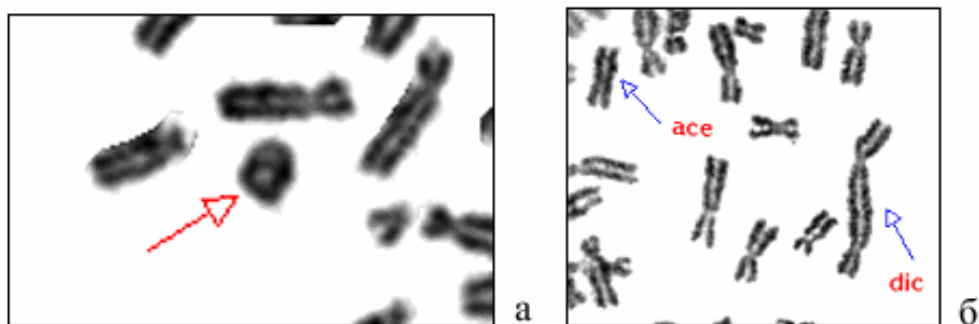


Рис. 4. Кольцевая хромосома (а); дицентрическая хромосома с ацентрическим фрагментом (б)

Интерпретация результатов

У пациентов с диагнозом АФ отмечается повышенная по сравнению со здоровыми донорами частота АХ. При воздействии алкилирующих агентов у них наблюдается значительное увеличение частоты повреждений хромосом. Следует помнить, что дицентрические (полицентрические) и кольцевые хромосомы с сопутствующими парными фрагментами рассматриваются как одна перестройка, межхромосомные хроматиδο-хроматидные обмены учитываются как одна aberrация независимо от количества вовлеченных в обмен хромосом. При этом в метафазе может присутствовать несколько aberrаций, каждая из которых регистрируется независимо от остальных перестроек. Таким образом, у пациентов с АФ частота АХ может быть значительно выше, чем aberrантных клеток. При АФ также отмечается достаточно высокая частота хроматидных пробелов, однако этот тип нарушений не учитывается при подсчете общего количества АХ. Наиболее характерны следующие типы АХ:

- межхромосомные хроматиδο-хроматидные обмены между негомологичными хромосомами
- дицентрические и кольцевые хромосомы
- при воздействии мутагена – клетки с множественными АХ (вплоть до пульверизации хромосом, рис. 5 а, б).

При воздействии алкилирующих агентов (ММС, DEB) в большинстве культур наблюдается отчетливая деспирализация прицентромерного гетерохроматина в хромосомах 1, 9, 16, что может быть ошибочно учтено как

пробелы или хроматидные и хромосомные делеции в этих сегментах, и приведет к гипердиагностике АХ. Разрывы в этих сегментах учитываются как делеции лишь в случае четкого пространственного смещения фрагмента относительно хромосомы.

Данные о спонтанной и индуцированной частоте АХ у пациента с предполагаемым диагнозом АФ необходимо сопоставлять с соответствующими значениями (табл. 1, 2), которые получены при обследовании здоровых доноров различных контингентов населения Беларуси.

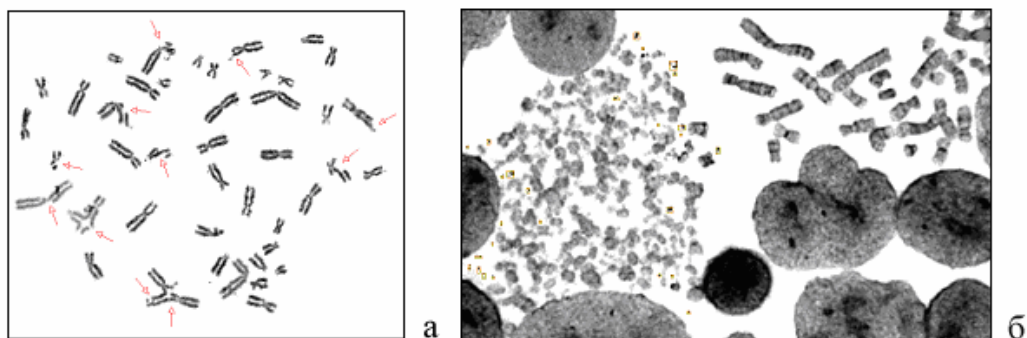


Рис. 5. Множественные aberrации хромосом (а); метафаза с пульверизацией хромосом (б)

Таблица 1

Показатели спонтанной фоновой частоты АХ у здорового населения Республики Беларусь

Число обследованных лиц	Средняя частота АХ	Интервал колебаний средних частот АХ в различных контингентах	Интервал колебаний индивидуальных частот АХ
500	3%	1,5–5,5%	0–9,5%

Таблица 2

Показатели спонтанной фоновой и индуцированной *in vitro* частоты АХ у здоровых доноров

Интервал колебаний частот АХ в культуре лимфоцитов периферической крови	
без добавления мутагена	с добавлением ММС в конечной концентрации 0,1 мкг/мл
0–3%	9–19%

Данные цитогенетического анализа заносят в бланки-протоколы (приложение А). Каждый квадрат в протоколе соответствует одной проанализированной клетке. В нем отмечается число хромосом, координаты aberrантных метафаз, схематически зарисовываются АХ. Клетки без aberrаций обозначаются символом *N* (норма). После завершения анализа в бланк протокола заносят основные показатели цитогенетического анализа и оформляют цитогенетическое заключение (приложение Б).

Бланк-протокол цитогенетического анализа (пример заполнения)

№ препарата _____
 ФИО _____
 пациента _____
 Дата _____
 анализа _____
 Врач- _____
 лаборант _____

Исследовано метафаз 100
 Число клеток с aberrациями 13
 Aberrации хромосомного типа 13
 Aberrаций хроматидного типа 8
Частота aberrаций хромосом (%) 15

Мутаген ММС конц. 0,1 мкг/мл

46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	45,X Y, -C	46,X Y N	46,X Y N	75,6/10 	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N
<i>cht del</i>						<i>ace</i>			
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N
		<i>chs del</i>							
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N
		<i>cht del</i>				<i>dic(+ ace)</i>			
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	44,X/12 0	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	45,X Y, -G	46,X Y N

				<i>e</i>					
46,X Y N	85, 19 0	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	77, 8 , 2 13	46,X Y N	46,X Y N
	<i>ace,</i> <i>ace</i>						<i>cht</i> <i>del</i>		
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	95, 13 7	46,X Y N
								<i>e</i>	
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	55,6/10 0 10 "	46,X Y N	46,X Y N	45, 6 0 11	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N
			<i>r</i> <i>(+ace</i> <i>)</i>			<i>cht</i> <i>del,</i> <i>chs</i> <i>del</i>			
46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	55, 6 / 24 0	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N	46,X Y N
				<i>gap,</i> <i>cht</i> <i>del</i>					

Учреждение медико-генетической службы
Юридический адрес учреждения
Подразделение учреждения, выполнившее диагностику
Цитогенетическое заключение

ФИО пациента _____
дата рождения _____
Адрес пациента _____
Диагноз _____
№ анализа по журналу учета _____
Кем направлен _____

Вид культуры клеток _____
Время культивирования _____
Мутаген
(концентрация) _____
Кариотип (уровень разрешающей возможности анализа, сегментов/гаплоид.)
_____ (ISCN,
2005)

Результаты анализа хромосомной нестабильности

Количество проанализированных метафаз	
Количество метафаз с АХ (абс/%)	
Частота спонтанных АХ (абс/%)	
Частота индуцированных АХ (абс/%)	
Примечания	

Заключение:

Анализ выполнил врач-лаборант (ФИО) _____
Дата _____ Подпись _____