

<https://doi.org/10.47183/mes.2025-413>

УДК 612.112.94:614.876:575.224.23



## РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ ДЛЯ СОРТИРОВКИ ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ДИЦЕНТРИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Ю.Р. Ахмадуллина<sup>✉</sup>, Я.В. Кривошапова, А.В. Куприянова

Южно-Уральский федеральный научно-клинический центр медицинской биофизики, Озерск, Россия

**Введение.** При массовых радиационных инцидентах для медицинской сортировки облученных лиц необходимо иметь подход, позволяющий оперативно определить группу риска по развитию костномозговой формы острой лучевой болезни (ОЛБ).

**Цель.** Разработка эффективных цитогенетических критериев для выявления людей с повышенным риском развития костномозговой формы ОЛБ при массовых радиационных инцидентах.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 12 доноров в возрасте 23–73 лет. Объектом исследования были стимулированные фитогемаглютинином Т-лимфоциты периферической крови. Образцы крови подвергали *in vitro* гамма-облучению в дозах 1 и 2 Гр с использованием установки ИГУР-1М. Цитогенетические препараты получали по стандартизированному цитогенетическому протоколу и окрашивали 2% раствором Гимзы. Изображения оцифровывали и анализировали с помощью Metafer/Ikaros (Metasystems, Германия). Оценивали частоту хромосомных aberrаций на одну клетку. Проводили подсчет метафаз Т-лимфоцитов с дицентрическими хромосомами по порядку их встречаемости при анализе препарата. Для статистического анализа использовали программы Past 4.01 и SPSS Statistics 21.

**Результаты.** Для принятия решения об отнесении потенциально облученного образца к дозовому диапазону, при котором вероятно развитие ОЛБ, необходимо проанализировать то количество метафаз Т-лимфоцитов, в которых будет идентифицировано пять дицентрических хромосом. В ходе исследования в образцах без облучения дицентрические хромосомы были выявлены у 33% обследуемых лиц. После *in vitro* облучения образцов крови в дозе 1 Гр средняя частота встречаемости дицентрических хромосом составила  $0,073 \pm 0,008$  на одну клетку, в дозе 2 Гр —  $0,28 \pm 0,02$  на одну клетку.

**Выводы.** Разработан предварительный алгоритм разделения *in vitro* облученных цитогенетических образцов на дозовые диапазоны. Идентификация пятой дицентрической хромосомы по порядку анализа в первых 26 метафазах Т-лимфоцитов являлась основанием для отнесения исследуемого образца к дозовому диапазону от 2 Гр и выше. Если пятая дицентрическая хромосома была выявлена с 27-й по 85-ю метафазу, образец относили к дозовому диапазону от 1 Гр и выше. Если при анализе 85 метафаз было выявлено менее пяти дицентрических хромосом, образец относили к дозовому диапазону менее 1 Гр. Планируется продолжение исследований с доработкой алгоритма и валидацией результатов.

**Ключевые слова:** дицентрическая хромосома; хромосомные aberrации; цитогенетический анализ; медицинская сортировка; гамма-облучение; острая лучевая болезнь

**Для цитирования:** Ахмадуллина Ю.Р., Кривошапова Я.В., Куприянова А.В. Разработка критериев для сортировки облученных лиц на основе анализа дицентрических хромосом: пилотное исследование. *Экстремальная биомедицина*. 2026;28(2):178–186. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-413>

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного контракта № 27.501.24.2 от 17.06.2024 «Модернизация высокотехнологичных методов, направленных на выявление медицинских последствий радиационных воздействий на персонал ПО «Маяк» и население Уральского региона» (шифр «Медицинские последствия-24») в рамках ФЦП «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 гг. и на период до 2035 г.».

**Соответствие принципам этики:** от всех участников получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие цитогенетические исследования. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН УНПЦРМ ФМБА России (протокол № 9 от 20.11.2023).

**Благодарности:** авторы выражают благодарность канд. биол. наук Возиловой А.В. за идею исследования, старшим лаборантам Сыченко З.И., Чикиревой И.А., Савковой Н.Ф., Величутиной Е.В. и Шеломенцевой Н.Е. за помощь в проведении лабораторных исследований.

**Потенциальный конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Ахмадуллина Юлия Рафисовна [akhmadullina.yul@yandex.ru](mailto:akhmadullina.yul@yandex.ru)

**Статья поступила:** 13.10.2025 **После доработки:** 04.12.2025 **Принята к публикации:** 11.12.2025 **Online first:** 02.02.2026

## DEVELOPMENT OF CRITERIA FOR TRIAGE OF EXPOSED INDIVIDUALS BASED ON DICENTRIC CHROMOSOME ANALYSIS: A PILOT STUDY

Yulia R. Akhmadullina<sup>✉</sup>, Yana V. Krivoshchapova, Anastasiya V. Kupriyanova

Southern Urals Federal Research and Clinical Center for Medical Biophysics, Ozersk, Russia

**Introduction.** In the event of mass radiation incidents, medical triage of exposed individuals must enable rapid identification of individuals at risk of developing the hematopoietic form of acute radiation sickness (ARS).

**Objective.** Development of effective cytogenetic criteria for identifying individuals at increased risk of developing the hematopoietic form of ARS during mass radiation incidents.

© Ю.Р. Ахмадуллина, Я.В. Кривошапова, А.В. Куприянова, 2026

**Materials and methods.** The study involved 12 donors aged 23–73 years. The study object was phytohemagglutinin-stimulated T-lymphocytes from peripheral blood. Blood samples were exposed to *in vitro* gamma-irradiation at doses of 1 Gy and 2 Gy using an IGUR-1M unit. Cytogenetic preparations were obtained according to a standardized cytogenetic protocol and stained with a 2% Giemsa solution. Images were digitized and analyzed using the Metafer/Ikaros (Metasystems, Germany) software package. The frequency of chromosomal aberrations per cell was assessed. Metaphases of T-lymphocytes with dicentric chromosomes were counted in the order of their occurrence during slide analysis. For statistical analysis, Past 4.01 and SPSS Statistics 21 software packages were used.

**Results.** The decision regarding the classification of a potentially irradiated sample as one falling into the dose range likely to cause ARS development should be based on an analysis of the number of T-lymphocyte metaphases required to identify five dicentric chromosomes. In the study, dicentric chromosomes were detected in samples without irradiation in 33% of the examined individuals. After *in vitro* irradiation of blood samples at a dose of 1 Gy, the average frequency of dicentric chromosomes was  $0.073 \pm 0.008$  per cell, reaching  $0.28 \pm 0.02$  per cell at a dose of 2 Gy.

**Conclusions.** A preliminary algorithm for differentiating *in vitro* irradiated cytogenetic samples into dose ranges has been developed. The identification of the fifth dicentric chromosome in order of analysis within the first 26 T-lymphocyte metaphases served as the basis for assigning the sample to a dose range of 2 Gy and above. In cases where the fifth dicentric chromosome was identified between the 27<sup>th</sup> and 85<sup>th</sup> metaphase, the sample was assigned to a dose range of 1 Gy and above. In cases where fewer than five dicentric chromosomes were detected upon analysis of 85 metaphases, the sample was assigned to a dose range below 1 Gy. Future research will be aimed at refining the algorithm and validating the results.

**Keywords:** dicentric chromosome; chromosomal aberrations; cytogenetic analysis; medical triage; gamma-irradiation; acute radiation sickness

**For citation:** Akhmadullina Yu.R., Krivoshchapova Ya.V., Kupriyanova A.V. Development of criteria for triage of exposed individuals based on dicentric chromosome analysis: A pilot study. *Extreme Medicine*. 2026;28(2):178–186. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-413>

**Funding:** the study was carried out within the framework of State Contract No. 27.501.24.2 dated 17.06.2024 “Modernization of High-Tech Methods Aimed at Identifying Medical Consequences of Radiation Exposure on Personnel of PA Mayak and the Population of the Urals Region” (code “Medical Consequences-24”) under the Federal Target Program “Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016–2020 and for the Period up to 2035”.

**Compliance with the ethical principles:** informed consent for blood sample collection and further cytogenetic studies was obtained from all participants. The study was approved by the Ethics Committee of the Southern Urals Federal Research and Clinical Center for Medical Biophysics (Minutes No. 9 dated 20.11.2023).

**Acknowledgment:** the authors express their gratitude to A.V. Vozilova, Cand. Sci. (Biology), for the research idea, and to senior laboratory assistants Z.I. Sychenko, I.A. Chikireva, N.F. Savkova, E.V. Velichutina, and N.E. Shelomentseva for their assistance in conducting the laboratory research.

**Potential conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

✉ Yulia R. Akhmadullina [akhmadullina.yul@yandex.ru](mailto:akhmadullina.yul@yandex.ru)

**Received:** 13 Oct. 2025 **Revised:** 4 Dec. 2025 **Accepted:** 11 Dec. 2025 **Online first:** 2 Feb. 2026

## ВВЕДЕНИЕ

В условиях крупномасштабной радиационной аварии, затрагивающей большое количество людей, использование физических методов восстановления дозы часто затруднено или невозможно. При авариях с участием населения отсутствие информации о дозах осложняет корректную оценку рисков реализации медико-биологических эффектов облучения и принятие медицинских решений [1, 2].

Важно оперативно выявлять людей с высокой вероятностью развития острой лучевой болезни (ОЛБ) средней и тяжелой степени, так как им требуется лечение в специализированных учреждениях. Курабельной формой ОЛБ является костномозговая форма при дозах облучения 1–10 Гр, в рамках которой в зависимости от дозы выделяют различные степени тяжести заболевания. По данным литературы, клинически распознаваемые признаки костномозгового синдрома ОЛБ отмечаются после облучения в дозах выше 1 Гр, в диапазоне облучения в дозах 1–2 Гр наблюдается легкая степень ОЛБ, средняя степень тяжести ОЛБ наблюдается в диапазоне доз 2–4 Гр [3, 4].

Медицинская оценка обычно включает сбор анамнеза (в том числе местонахождение во время инцидента), физикальное обследование, учет клинических симпто-

мов и, по возможности, определение абсолютного числа лимфоцитов и/или нейтрофилов. Гематологические исследования помогают распределить подвергшихся облучению лиц на критические группы, но дают неоднозначные результаты при комбинированных травмах или сопутствующих заболеваниях [3, 5–7].

Оценка дозы облучения критична при планировании медицинской помощи. Когда физическая дозиметрия невозможна, применяется цитогенетическая биодозиметрия на основе учета нестабильных хромосомных aberrаций в метафазах Т-лимфоцитов периферической крови [6, 8]. Наличие в спектре наблюдаемых aberrаций повышенных частот дицентрических хромосом и центрических колец свидетельствует о воздействии радиационной природы. Анализ этих типов aberrаций хромосом называют «золотым стандартом» для целей биологической дозиметрии, что обусловлено зависимостью «доза – эффект» и низкой спонтанной частотой этих типов aberrаций [9]. Цитогенетический метод требует специализированной лаборатории, в которой проводят культивирование клеток около двух суток, приготовление и окрашивание препаратов, микроскопический анализ с оцифровкой изображений, а также расчет дозы с использованием калибровочных кривых [10–13]. Вручную за рабочий день один исследователь может

проанализировать не более ~500 клеток, что делает метод трудо- и ресурсоемким.

При массовых инцидентах в целях быстрой медицинской сортировки не требуется точная оценка поглощенных доз облучения, а нужны подходы, существенно сокращающие ресурсоемкость и увеличивающие пропускную способность лабораторий.

Предположительно разрабатываемый в данной работе подход позволит оперативно провести цитогенетическое обследование облученных лиц, подвергшихся относительно равномерному гамма-облучению всего тела, с целью сформировать группы риска по реализации костномозгового синдрома ОЛБ.

Рабочей гипотезой является предположение о возможности разделения образцов крови, подвергшихся *in vitro* гамма-облучению, на дозовые диапазоны, соответствующие развитию легкой и средней степени тяжести ОЛБ, посредством выявления нестабильных хромосомных aberrаций при анализе относительно небольшого числа метафаз Т-лимфоцитов периферической крови. Предполагается, что с увеличением дозы гамма-облучения возрастает вероятность обнаружения дицентрических хромосом уже в первых по счету анализируемых метафазах Т-лимфоцитов.

Предлагаемый подход основывается на автоматизированной оцифровке препаратов и анализе данных с применением специализированного программного обеспечения, что обеспечивает более высокое качество получаемого первичного материала, воспроизводимость результатов и позволяет исследователям верифицировать найденные хромосомные aberrации.

Цель работы заключается в разработке эффективных цитогенетических критериев для выявления людей с повышенным риском развития костномозговой формы ОЛБ при массовых радиационных инцидентах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 12 доноров:

- 7 доноров в возрасте 57–73 лет (средний возраст —  $60 \pm 2$  года), 5 женщин и 2 мужчин;
- 5 доноров в возрасте 23–38 лет (средний возраст  $27 \pm 3$  года), 4 женщины и 1 мужчина.

На момент взятия образца крови у доноров в анамнезе не было данных о лечении заболеваний с применением источников ионизирующих излучений, также отсутствовали тяжелые формы сахарного диабета, аутоиммунные заболевания, не было гемотрансфузии, а также рентгенологических обследований в течение 3 мес., предшествующих исследованию.

Для определения лиц, соответствующих вышеперечисленным критериям, проведена предварительная беседа с потенциальными участниками. При отсутствии критериев исключения проводили анкетирование и взятие согласия на обработку персональных данных и участие в исследовании.

### Получение метафазных хромосом из Т-лимфоцитов периферической крови человека

Забор венозной крови объемом 6 мл производили из локтевой вены в стерильные пробирки с гепарином. На каждого человека готовили по 3 образца: два из них

подвергали облучению *in vitro* на установке ИГУР-1М (ЗАО «Квант», Россия) в дозах 1 и 2 Гр, а третий образец облучению не подвергался. ИГУР-1М обладает следующими характеристиками: источник  $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы 0,014 Гр/с, неравномерность облучения 5%.

Цитогенетические препараты из Т-лимфоцитов периферической крови получали согласно протоколу, который включал четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку, фиксацию метафазных пластинок и приготовление препаратов хромосом, как описано в работе [14].

Культивирование Т-клеток проводили в стерильных бакпечатках («Медполимер», Россия). Культура включала: 2 мл крови, 5 мл среды RPMI-1640 («Панэко», Россия), 0,5 мл отборной эмбриональной телячьей сыворотки («Панэко», Россия), фитогемагглютинин (ФГА) в итоговой концентрации 20 мг/мл («Панэко», Россия). Клетки культивировали в  $\text{CO}_2$  инкубаторе при  $37,5^\circ\text{C}$  в течение 54 ч. За 2 ч до окончания культивирования в культуру вводили раствор колхицина («Панэко», Россия) в итоговой концентрации 0,03 мг/мл.

Для дальнейшей обработки клеточную суспензию переносили в центрифужные пробирки, центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин на центрифуге (ThermoScientific, США). Супернатант убирали, оставляя осадок. Для гипотонической обработки клеток приливали теплый 0,55% раствор KCl ( $37^\circ\text{C}$ ), ресуспендировали осадок и оставляли на 30 мин в термостате при  $37^\circ\text{C}$ . Затем смесь центрифугировали 10 мин при 1100 об/мин. Осторожно удаляли супернатант, ресуспендировали осадок и приливали холодный ( $4^\circ\text{C}$ ) свежеприготовленный фиксатор (3 части спирта этилового и 1 часть ледяной уксусной кислоты), доводя общий объем содержимого пробирки до 10 мл. Клетки оставляли в фиксаторе на 10 мин при  $4^\circ\text{C}$ , затем центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость удаляли, затем приливали свежую порцию фиксатора. Таким образом, клетки проводили через фиксатор три раза.

Для получения препаратов хромосом общий объем осадка в пробирке доводили свежим фиксатором до 1,5 мл, хорошо перемешивали пипеткой и раскладывали клеточную суспензию на охлажденное стекло (2 капли). Стекло сушили на термоплате при  $40^\circ\text{C}$ . Качество препарата проверяли при фазово-контрастной микроскопии. Готовили 3 стекла на 1 донора. Окрашивали препараты 2% красителем Гимза («Панэко», Россия) в течение 5–6 мин.

Анализ хромосомных препаратов проводили при световой микроскопии. Для этого с помощью системы поиска и оцифровки изображений Metafer (Metasystems, Германия) получали изображения качественных метафаз с использованием иммерсионного объектива  $\times 63$ . Работа с изображениями выполнялась с помощью программного обеспечения Ikaros (Metasystems, Германия).

Для цитогенетического анализа выбирали метафазные пластинки, содержащие 45–47 хромосом, с хорошим разбросом, без наложений. В ходе исследования заполняли цитогенетический протокол, в котором отражали хромосомные aberrации: дицентрические, кольцевые хромосомы, парные фрагменты,

а также ацентрические кольца. На один препарат просчитывали 500–1000 клеток в образцах без облучения и 220–500 клеток в образцах с облучением. На рисунке представлены фотографии метафаз Т-лимфоцитов с хромосомными aberrациями.

Найденные хромосомные aberrации были сгруппированы следующим образом: дицентрические хромосомы; нестабильные хромосомные обмены (дицентрические и кольцевые хромосомы); парные фрагменты; ацентрические кольца.

В работе проводился подсчет метафаз Т-лимфоцитов с дицентрическими хромосомами по порядку их встречаемости среди всех метафаз, включенных в анализ на оцифрованном препарате.

### Методы статистической обработки данных

Частота встречаемости хромосомных aberrаций рассчитывалась на одну клетку. Были использованы стандартные методы описательной статистики: рассчитаны средние значения и стандартная ошибка среднего для хромосомных aberrаций.

При расчете количества метафаз Т-лимфоцитов, в которых были выявлены дицентрические хромосомы по порядку их встречаемости при анализе препарата, данные представлены в виде медианы ( $M_0$ ) и 95% доверительного интервала (ДИ). ДИ оценки медианы вычисляли процедурой бутстрепа, число итераций 1000. Также оценивали 10 и 90 процентиля (%), минимальные и максимальные индивидуальные значения количества Т-лимфоцитов с дицентрическими хромосомами по порядку их встречаемости при анализе препарата.

Ожидаемое количество клеток, в которых возможно идентифицировать дицентрические хромосомы ( $D_n$ ), рассчитывали по формуле (1):

$$X = \frac{D_n}{F}, \quad (1)$$

где  $X$  — ожидаемое количество клеток, в которых возможно идентифицировать дицентрические хромосомы по порядку встречаемости в препарате;  $D_n$  — порядковый номер дицентрических хромосом при анализе препарата ( $D_n = 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30$ );  $F$  — частота встречаемости дицентрических хромосом, рассчитанная на одну клетку.

Для расчета вероятности встречаемости дицентрических хромосом в образцах без облучения для каждого донора методом скользящей средней проанализировали среднее количество дицентрических хромосом при величине «окна», равного 10, 20, 30, 50, 100 клеткам. Затем на основании этих значений рассчитали вероятность частоты встречаемости дицентрических хромосом по формуле (2):

$$P = \frac{m}{k} \times 100\%, \quad (2)$$

где  $P$  — вероятность встречаемости дицентрических хромосом;  $m$  — количество идентифицированных дицентрических хромосом;  $k$  — количество проанализированных клеток (величина окна).

Для статистического анализа использовали статистическую программу Past 4.01 и SPSS Statistics 21.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования в образцах без облучения дицентрические хромосомы были выявлены у 33% обследуемых лиц (4 человека из 12). Частота встречаемости дицентрических хромосом варьировала от 0 до 1 абс. ч. на 500 клеток и от 0 до 2 абс. ч. на 1000 клеток. Средняя частота встречаемости дицентрических

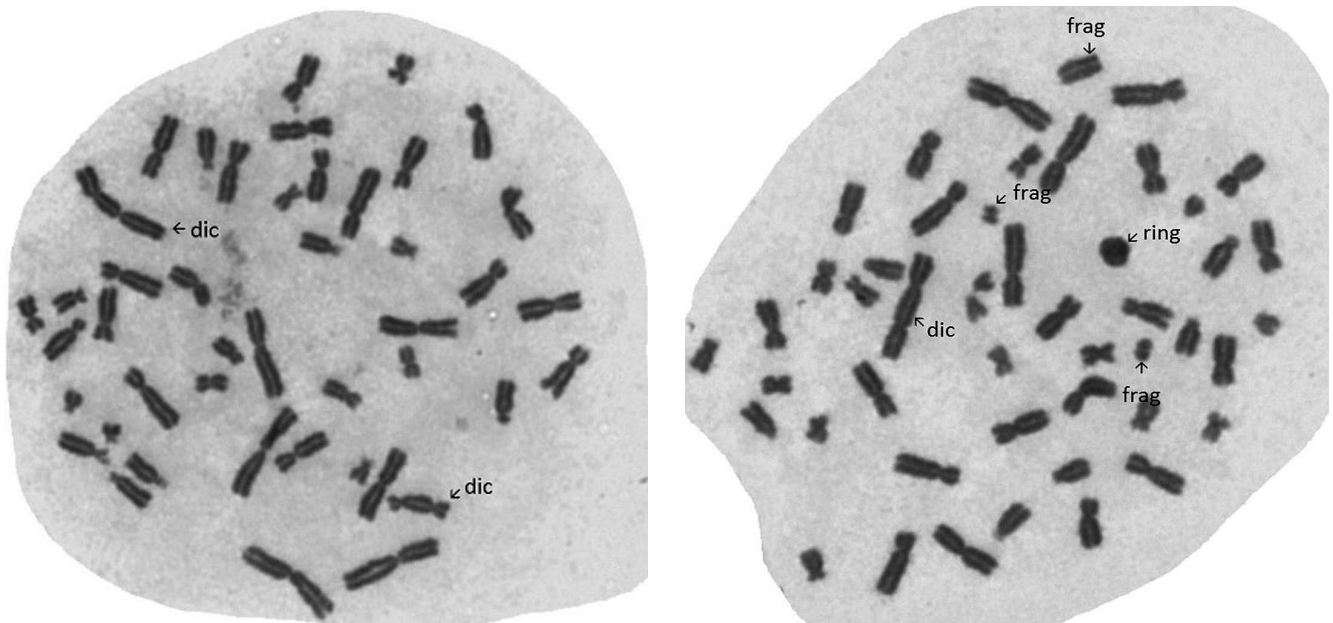


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

**Рис. Метафазы Т-лимфоцитов с хромосомными aberrациями:** dic — дицентрическая хромосома; frag — парный фрагмент; ring — кольцевая хромосома; изображения метафаз Т-лимфоцитов получены с помощью программного обеспечения Ikaros (иммерсионный объектив,  $\times 63$ )

хромосом и нестабильных хромосомных обменов составила  $0,0007 \pm 0,0003$  на одну клетку, парных фрагментов —  $0,016 \pm 0,003$  на одну клетку, ацентрических колец —  $0,0003 \pm 0,0002$  на одну клетку.

После *in vitro* облучения образцов крови в дозе 1 Гр средняя частота встречаемости хромосомных аберраций статистически значимо возросла по сравнению с необлученными образцами ( $p < 0,0001$ ). При этом средняя частота встречаемости дицентрических хромосом составила  $0,073 \pm 0,008$  на одну клетку, нестабильных хромосомных обменов —  $0,081 \pm 0,009$  на одну клетку, парных фрагментов —  $0,17 \pm 0,01$  на одну клетку, ацентрических колец —  $0,009 \pm 0,002$  на одну клетку.

При *in vitro* облучении в дозе 2 Гр средняя частота встречаемости дицентрических хромосом составила  $0,28 \pm 0,02$  на одну клетку, нестабильных хромосомных обменов —  $0,30 \pm 0,02$  на одну клетку, парных фрагментов —  $0,64 \pm 0,03$  на одну клетку, ацентрических колец —  $0,030 \pm 0,005$  на одну клетку (табл. 1).

В образцах без облучения (среди тех лиц, у которых были выявлены дицентрические хромосомы) ожидаемое количество Т-лимфоцитов с одной дицентрической хромосомой составило от 412 до 500 клеток. При этом первая дицентрическая хромосома была определена в Т-лимфоцитах с порядковыми номерами 77, 169, 341 и 314. Вторая дицентрическая хромосома идентифицирована у двух доноров в Т-лимфоцитах с порядковым номером 341 (в одной клетке было 2 дицентрические хромосомы) и в 492 клетке.

В таблице 2 представлено ожидаемое количество клеток, в которых возможно идентифицировать дицентрические хромосомы по порядку подсчета клеток при *in vitro* облучении в дозах 1 и 2 Гр. Согласно представленным данным после облучения в дозе 1 Гр две дицентрические хромосомы обнаруживали в Т-лимфоцитах с 17 по 69 клетку,  $M_0 = 27$  [95% ДИ: 21; 41]. Для выявления 5 дицентрических хромосом необходимо проанализировать 67 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 41; 83], для выявления 10 дицентрических хромосом — 135 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 103; 206], для 20 дицентрических

хромосом — 270 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 206; 414], для идентификации 30 дицентрических хромосом — 405 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 309; 620].

При дозе *in vitro* облучения 2 Гр ожидаемое количество Т-лимфоцитов, которые следует проанализировать до обнаружения аналогичного количества дицентрических хромосом, статистически было значимо ниже, чем при дозе *in vitro* облучения 1 Гр ( $p < 0,001$ ): 2 дицентрические хромосомы были выявлены с 5 по 12 клетку; медианное значение Т-лимфоцитов составило 8 [95% ДИ: 6; 9]; 5 дицентрических хромосом выявлено при анализе 19 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 16; 22]; 10 дицентрических хромосом — при анализе 38 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 31; 45]; 20 дицентрических хромосом — при анализе 77 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 63; 90]; 30 дицентрических хромосом — при анализе 115 Т-лимфоцитов [95% ДИ: 94; 134].

В таблице 3 представлены данные о количестве метафаз Т-лимфоцитов с выявленными дицентрическими хромосомами по порядку анализа на оцифрованном цитогенетическом препарате. При *in vitro* облучении в дозе 1 Гр медианное количество клеток, в которых были выявлены дицентрические хромосомы, статистически значимо отличалось от ожидаемых значений только для 1, 25 и 30 дицентрической хромосомы по порядку их идентификации при анализе. Так, ожидаемое медианное значение Т-лимфоцитов статистически значимо было выше полученного экспериментально:  $p = 0,002, 0,032$  и  $0,019$  соответственно.

При *in vitro* облучении в дозе 2 Гр медиана ожидаемого количества Т-лимфоцитов с одной дицентрической хромосомой была статистически значимо выше, чем при непосредственном анализе препарата (4 против 2,  $p = 0,033$ ). В остальных случаях статистически значимых различий не выявлено.

Результаты анализа показали, что для идентификации первых дицентрических хромосом при *in vitro* гамма-облучении Т-лимфоцитов в дозах 1 и 2 Гр достаточно проанализировать относительно небольшое количество клеток. По нашим и литературным данным, в образцах без облучения частота встречаемости

**Таблица 1. Средняя частота хромосомных аберраций при *in vitro* облучении (рассчитанная на одну клетку)**

Тип хромосомных аберраций	Средняя частота хромосомных аберраций при <i>in vitro</i> облучении, на одну клетку		
	Доза облучения		
	без облучения	1 Гр	2 Гр
Дицентрические хромосомы	$0,0007 \pm 0,0003^*$	$0,073 \pm 0,008^{**}$	$0,28 \pm 0,02$
Кольцевые хромосомы	0*	$0,008 \pm 0,002^{**}$	$0,020 \pm 0,006$
Нестабильные хромосомные обмены	$0,0007 \pm 0,0003^*$	$0,081 \pm 0,009^{**}$	$0,30 \pm 0,02$
Парные фрагменты	$0,016 \pm 0,003^*$	$0,17 \pm 0,01^{**}$	$0,64 \pm 0,03$
Ацентрические кольца	$0,0003 \pm 0,0002^*$	$0,009 \pm 0,002^{**}$	$0,030 \pm 0,005$

Таблица составлена авторами по собственным данным

**Примечание:** данные представлены в виде среднего значения и ошибки среднего; \* — статистически значимые отличия частоты хромосомных аберраций в образцах без облучения от образцов с облучением,  $p < 0,0001$ ; \*\* — статистически значимые отличия частоты хромосомных аберраций в образцах с *in vitro* облучением в дозе 1 Гр от образцов с *in vitro* облучением в дозе 2 Гр,  $p < 0,05$ .

Таблица 2. Ожидаемое количество клеток, в которых возможна идентификация дицентрических хромосом

Количество дицентрических хромосом	Доза облучения					
	1 Гр			2 Гр		
	Количество метафаз Т-лимфоцитов			Количество метафаз Т-лимфоцитов		
	медиана [ДИ]	10–90 процентиля	min–max	медиана [ДИ]	10–90 процентиля	min–max
1	13* [10–21]	9–32	9–34	4 [3–4]	3–5	3–6
2	27* [21–41]	18–64	17–69	8 [6–9]	5–11	5–12
3	40* [31–62]	27–96	26–103	12 [9–13]	8–16	8–17
4	54* [41–83]	36–129	34–138	15 [13–18]	10–22	10–23
5	67* [52–103]	45–161	43–172	19 [16–22]	13–27	13–29
10	135* [103–206]	91–321	86–344	38 [31–45]	25–56	25–58
15	202* [155–310]	136–482	129–517	58 [47–67]	38–82	38–87
20	270* [206–414]	182–643	172–689	77 [63–90]	50–110	50–116
25	337* [258–517]	227–803	216–861	96 [79–112]	63–137	63–145
30	405* [309–620]	272–963	259–1033	115 [94–134]	76–165	75–174

Таблица составлена авторами по собственным данным

**Примечание:** ДИ — доверительный интервал; \* — статистически значимые различия для медианного значения количества клеток при *in vitro* гамма-облучении в дозах 1 и 2 Гр,  $p < 0,0001$ .

Таблица 3. Количество метафаз Т-лимфоцитов с дицентрическими хромосомами (в соответствии с порядковым номером анализируемой клетки)

Порядковый номер дицентрической хромосомы	Доза облучения					
	1 Гр			2 Гр		
	Количество Т-лимфоцитов			Количество Т-лимфоцитов		
	медиана [ДИ]	10–90 процентиля	min–max	медиана [ДИ]	10–90 процентиля	min–max
1	4* [1–26]	1–25	1–26	2 [2–4]	1–6	1–6
2	28* [8–42]	8–70	8–81	8 [5–10]	2–13	2–14
3	35* [9–72]	10–97	9–107	11 [7–16]	4–28	4–31
4	43* [14–74]	19–112	14–123	14 [10–19]	6–30	5–32
5	56* [27–85]	30–127	27–138	16 [12–25]	6–31	5–32
10	103* [60–115]	62–182	60–192	40 [6–24]	12–70	11–71
15	146* [120–182]	133–425	120–486	49 [44–78]	29–90	24–91
20	177* [157–217]	162–419	157–457	67 [59–94]	41–113	34–116
25	237* [195–289]	195–426	195–426	87 [77–112]	51–125	42–128
30	278* [225–349]	225–405	225–405	105 [96–129]	72–147	70–151

Таблица составлена авторами по собственным данным

**Примечание:** ДИ — доверительный интервал; \* — статистически значимые различия для медианного значения количества Т-лимфоцитов при облучении в дозах 1 и 2 Гр,  $p < 0,001$ .

дицентрических хромосом составляла от 0 до 2 на 1000 проанализированных клеток [15].

В таблице 4 показана вероятность выявления первой дицентрической хромосомы в образцах без облучения: при анализе 50 клеток она составила 4,9%, при анализе 100 клеток — 9,4%. Вероятность выявления в 100 метафазах Т-лимфоцитов двух дицентрических хромосом составила 2%.

Таким образом, поскольку существует вероятность обнаружить две дицентрические хромосомы при анализе первых 100 метафаз Т-лимфоцитов в образцах без облучения, необходимо увеличить количество идентифицированных дицентрических хромосом для индикации радиационного воздействия. На основании данных, представленных в таблице 3, для идентификации радиационного воздействия и отнесения образца к дозовому диапазону предлагается оценивать количество метафаз Т-лимфоцитов с пятой дицентрической хромосомой по порядку анализа цитогенетического препарата. Так, медианное значение метафаз Т-лимфоцитов с пятой дицентрической хромосомой составило 56 [95% ДИ: 27; 85] при *in vitro* гамма-облучении в дозе 1 Гр и 16 [95% ДИ: 12; 25] при *in vitro* гамма-облучении в дозе 2 Гр ( $p < 0,001$ ). Выбор медианы и соответствующего ей доверительного интервала в качестве критерия разделения облученных лиц на дозовые диапазоны основан на ее устойчивости к влиянию выбросов, характерных для распределений, содержащих межличностные различия радиочувствительности. Несмотря на очевидную связь точности оценки медианы с объемом выборки, расширение последней лишь частично уменьшит неопределенность оценки центрального положения. Мы полагаем, что уменьшение доверительного интервала будет незначительным ввиду индивидуальных реакций на излучение. Следовательно, использование медианных значений и доверительного интервала представляется оптимальным решением на данном этапе исследования.

Для принятия решения об отнесении потенциально облученного образца к одному из дозовых диапазонов необходимо проанализировать то количество клеток, в которых будет идентифицировано пять дицентрических хромосом. На основании предварительных результатов предлагается следующий алгоритм анализа метафаз Т-лимфоцитов.

1. Определение порядкового номера проанализированной метафазы Т-лимфоцита, содержащей пятую по порядку анализа дицентрическую хромосому.

2. Если пятая по порядку анализа дицентрическая хромосома выявлена в первых 26 клетках, то облученный образец следует отнести к дозовому диапазону радиационного воздействия от 2 Гр или выше.

3. Если пятая дицентрическая хромосома при анализе выявлена с 27 по 85 метафазу Т-лимфоцита, облученный образец следует отнести к радиационному воздействию в дозовом диапазоне от 1 Гр или выше.

4. Если при анализе 85 метафаз Т-лимфоцитов идентифицировано менее 5 дицентрических хромосом, облученный образец необходимо отнести к диапазону воздействия менее 1 Гр.

5. Если при анализе 50 метафаз Т-лимфоцитов не было обнаружено ни одной дицентрической хромосомы, то с вероятностью 94% поглощенная доза гамма-излучения исследуемого образца близка к нулю.

В таблице 5 представлена доля обследованных лиц, у которых порядковый номер Т-лимфоцита, содержащего пятую дицентрическую хромосому, находится в диапазоне, рассчитанном в соответствии с вышеизложенным алгоритмом.

Все необлученные образцы были отнесены в группу «ниже 1 Гр»; 100% из них определили в группу, где доза облучения близка к нулю. В то же время, согласно алгоритму, 2 (16,7%) образца, облученных в дозе 1 Гр, были отнесены в группу «ниже 1 Гр», а 2 (16,7%) образца, облученных в дозе 2 Гр, были отнесены в группу «1 Гр или выше».

Предварительные результаты нашего исследования выявили потенциальную проблему ложноотрицательной идентификации, связанную с возможным занижением расчетного дозового диапазона для определенной доли облученных образцов, в то время как для медицинской сортировки предпочтительнее консервативный подход, когда облученный будет отнесен к дозовой группе с более высокими значениями воздействия. Консервативный подход снижает риск недооценки воздействия ионизирующего излучения и гарантирует получение необходимой медицинской помощи всем потенциально облученным лицам. На следующем этапе исследования необходимо уточнить критерии отнесения облученного образца к той или иной дозовой группе с учетом требований консервативности.

По данным литературы, нижний предел чувствительности метода оценки нестабильных хромосомных обменов зависит от количества проанализированных клеток и в среднем составляет 100–250 мГр

**Таблица 4.** Вероятность встречаемости дицентрических хромосом в зависимости от количества проанализированных клеток (в образцах без облучения), %

Количество дицентрических хромосом	Количество проанализированных метафаз Т-лимфоцитов, абс. ч.				
	10	20	30	50	100
	Вероятность, %				
0	98,9	97,6	96,4	94,1	88,6
1	0,9	2	3	4,9	9,4
2	0,2	0,4	0,6	1,0	2

Таблица составлена авторами по собственным данным

**Таблица 5.** Распределение исследованных образцов крови по дозовым группам в соответствии с критериями алгоритма

Параметр	Дозовый диапазон			
	2 Гр или выше	1 Гр или выше	Ниже 1 Гр	Доза близка к 0 Гр
Доля лиц, % (абс. ч.)	83,3 (10)	83,3 (10)	100 (12)	100 (12)
из них:				
Ложноотрицательный результат, % (абс. ч.)	16,7 (2)	16,7 (2)	–	–

Таблица составлена авторами по собственным данным

**Примечание:** «—» — не идентифицирован.

для редкоизионизирующих излучений. При высоких дозах излучения (5–6 Гр и более) происходит существенное нарушение клеточной пролиферации, поэтому меньшее количество клеток достигает метафазы и попадает в цитогенетический анализ [16–18]. Медицинскую сортировку облученных людей на основе частоты встречаемости дицентрических хромосом или нестабильных хромосомных обменов в Т-лимфоцитах рекомендуется проводить при уменьшении количества анализируемых метафаз Т-лимфоцитов до 50 на человека, что заметно увеличивает пропускную способность лаборатории. При анализе 20–50 клеток увеличиваются доверительные интервалы оценки доз излучения, оцененных с использованием калибровочной кривой. При этом дозовый интервал 0–0,75 Гр и интервал 2–3 Гр однозначно отличимы при анализе 50 клеток [19, 20], что согласуется с результатами, полученными в исследовании.

Важно отметить, что в рамках настоящего исследования не стояла задача точного определения доз аварийного облучения на основе зависимости «доза – эффект». В условиях ограниченного количества техники и человеческих ресурсов необходимо разработать критерии, которые помогут за счет уменьшения числа анализируемых клеток оперативно разделить экспонированный контингент на группы риска развития костномозговой формы ОЛБ. Это позволит планировать и корректировать дальнейшее медицинское наблюдение. После цитогенетической сортировки возможно увеличение количества анализируемых клеток для целей биодозиметрии.

В дальнейшем планируется валидировать разработанный метод на других выборках, провести межлабораторные сравнения и на основе полученных

данных оптимизировать алгоритм оценки дозовых интервалов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из задач при оказании экстренной медицинской помощи облученным людям при массовых радиационных инцидентах является проведение медицинской сортировки, направленной на выявление лиц с высоким риском развития ОЛБ. Был разработан предварительный алгоритм цитогенетической сортировки, основанный на определении количества анализируемых метафаз Т-лимфоцитов, содержащих пятую дицентрическую хромосому по порядку их анализа. Установлено, что при идентификации пятой дицентрической хромосомы в первых 26 анализируемых метафазах Т-лимфоцитов доза облучения находилась в диапазоне от 2 Гр или выше. Если пятая дицентрическая хромосома была выявлена с 27 по 85 проанализированную метафазу Т-лимфоцитов, доза облучения находилась в диапазоне 1 Гр или выше. В случае анализа 85 метафаз Т-лимфоцитов, при котором идентифицировано менее 5 дицентрических хромосом, доза облучения находилась в диапазоне менее 1 Гр. Если при анализе 50 метафаз Т-лимфоцитов не было обнаружено ни одной дицентрической хромосомы, доза облучения находилась в диапазоне менее 1 Гр и/или была близка к нулевым значениям. Данный алгоритм является предварительным и требует доработки с учетом консервативного подхода для снижения риска недооценки воздействия ионизирующего излучения. Планируется продолжение исследований с доработкой алгоритма и валидацией полученных результатов.

## Литература / References

- Кутков ВА. Основные положения рекомендаций МАГАТЭ по критериям защиты населения и работников в случае радиационной аварии. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2006;15(3–4):133–56. Kutkov VA. Substantive provisions of the IAEA guidelines for criteria for protecting the public and workers in radiation emergency. *Radiation and Risk*. 2006;15(3–4):133–56 (In Russ.). EDN: [JWSDRF](#)
- Гуськова АК, Краснюк ВИ, Галстян ИА, Надежина НМ. 30 лет аварии на Чернобыльской АЭС: опыт ликвидации медицинских последствий. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2016;61(3):30–5. Guskova AK, Krasnyuk VI, Galstyan IA, Nadejina NM. 30 years of Chernobyl NPP accident: experience of mitigation of medical consequences. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2016;61(3):30–5 (In Russ.). EDN: [VWDLJD](#)
- Самойлов АС, Кончаловский МВ, Бушманов АЮ, Галстян ИА, Нугис ВЮ, Давтян АА и др. Рекомендации по диагностике и лечению костномозговой формы острой лучевой болезни. *Гематология и трансфузиология*. 2023;68(1):98–128. Samoylov AS, Konchalovsky MV, Bushmanov AYU, Galstyan IA, Nugis VYU, Davtyan AA et al. Recommendations for diagnosis and treatment of the acute bone marrow form of acute radiation syndrome. *Hematology and Transfusion*. 2023;68(1):98–128.

- tyan IA, Nugis VYu, Davtyan AA, et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of bone marrow form of acute radiation syndrome. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2023;68(1):98–128 (In Russ.). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2023-68-1-98-128>
4. Бушманов АЮ, Галстян ИА, Каширина ОГ, Кончаловский МВ, Лизунов ВЮ, Метляева НА и др. Результаты длительного медицинского наблюдения непосредственных участников аварии на ЧАЭС в Российской Федерации. *Клинический вестник ФМБЦ им А.И. Бурназяна*. 2024;4:51–9. Bushmanov AYU, Galstian IA, Kashirina OG, Konchalovsky MV, Lisunov VYu, Metlyaeva NA, et al. Results of long-term medical observation of direct participants of the accident at the Chernobyl NPP in the Russian Federation. *A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center Clinical Bulletin*. 2024;4:51–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33266/2782-6430-2024-4-51-59>
  5. Седанкин МК, Гудков ЕА, Соловьев ВЮ, Мершин ЛЮ. Особенности использования лимфоцитарного теста для биологической дозиметрии в ранние сроки после облучения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023;25(3):65–70. Sedankin MK, Gudkov EA, Soloviev VYu, Mershin LYU. Features of using a lymphocyte test for biological dosimetry in the early period after exposure. *Extreme Medicine*. 2023;25(3):65–70 (In Russ.). <https://doi.org/10.47183/mes.2023.034>
  6. Sullivan JM, Prasanna PG, Grace MB, Wathen LK, Wallace RL, Koerner JF, et al. Assessment of biodosimetry methods for a mass-casualty radiological incident: medical response and management considerations. *Health Physics*. 2013;105(6):540–54. <https://doi.org/10.1097/hp.0b013e31829cf221>
  7. Coleman CN, Sullivan JM, Bader JL, Murrain-Hill P, Koerner JF, Garrett AL, et al. Public health and medical preparedness for a nuclear detonation: the nuclear incident medical enterprise. *Health Physics*. 2015;108(2):149–60. <https://doi.org/10.1097/hp.0000000000000249>
  8. International Atomic Energy Agency. *Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual*. Vienna: IAEA; 2001.
  9. Неронова ЕГ. Построение калибровочных кривых для биологической цитогенетической дозиметрии и опыт применения при медицинском облучении. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2021;4:85–93. Neronova EG. Calibration curves development for biological cytogenetic dosimetry and experience with medical exposure. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2021;4:85–93 (In Russ.). EDN: [JAWXRM](https://doi.org/10.1097/hp.0b013e3182307758)
  10. Кузнецова ТВ, Шилова НВ, Творогова МГ, Харченко ТВ, Лебедев ИН, Антоненко ВГ. Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований. *Медицинская генетика*. 2019;18(5):3–27. Kuznetsova TV, Shilova NV, Tvorogova MG, Kharchenko TV, Lebedev IN, Antonenko VG. Practical recommendations to ensure quality and safety of cytogenetic research. *Medical Genetics*. 2019;18(5):3–27 (In Russ.). <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.05.3-27>
  11. Port M, Barquinerio JF, Endesfelder D, Moquet J, Oestreicher U, Terzoudi G, et al. RENEB Inter-Laboratory Comparison 2021: Inter-Assay Comparison of Eight Dosimetry Assays. *Radiation Research*. 2023;199(6):535–55. <https://doi.org/10.1667/rade-22-00207.1>
  12. Pinto MM, Santos NF, Amaral A. Current status of biodosimetry based on standard cytogenetic methods. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2010;49(4):567–81. <https://doi.org/10.1007/s00411-010-0311-3>
  13. Vijayalakshmi J, Chaurasia RK, Srinivas KS, Vijayalakshmi K, Paul SFD, Bhat NN, et al. Establishment of ex vivo calibration curve for X-ray induced “dicentric + ring” and micronuclei in human peripheral lymphocytes for biodosimetry during radiological emergencies, and validation with dose blinded samples. *Heliyon*. 2023;9(6):e17068. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17068>
  14. Возилова АВ, Ахмадуллина ЮР. Исследование индивидуальной радиочувствительности у человека на основе оценки частоты хромосомных aberrаций и микроядер в Т-лимфоцитах периферической крови. *Генетика*. 2019;55(10):1180–8. EDN: [MAPFRM](https://doi.org/10.1134/S1022795419100156)
  15. Ainsbury E, Barquinerio JF, Beinke C, Blakely WF, Braselmann H, Carr Z, et al. *Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies*. Vienna: IAEA; 2011. EDN: [VPPDFP](https://doi.org/10.1134/S1022795419100156)
  16. Bauchinger M. *Chromosome painting and biological dosimetry of absorbed radiation*. Proceedings of the Tenth International Congress of Radiation Research. Würzburg; 1995.
  17. Flegal FN, Devantier Y, Marro L, Wilkins RC. Validation of QuickScan dicentric chromosome analysis for high throughput radiation biological dosimetry. *Health Physics*. 2012;102:143–153. <https://doi.org/10.1097/hp.0b013e3182307758>
  18. Testa A, Palma V, Patrono C. Dicentric Chromosome Assay (DCA) and Cytokinesis-Block Micronucleus (CBMN) Assay in the Field of Biological Dosimetry. In: Dhawan A, Bajpayee M (eds). *Genotoxicity Assessment. Methods in Molecular Biology*, vol 2031. New York: Humana; 2019:105–19. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9646-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9646-9_5)
  19. Romm H, Wilkins RC, Coleman CN, Lillis-Hearne PK, Pellmar TC, Livingston GK, et al. Biological dosimetry by the triage dicentric chromosome assay: potential implications for treatment of acute radiation syndrome in radiological mass casualties. *Radiation Research*. 2011;175(3):397–404. <https://doi.org/10.1667/RR2321.1>
  20. Lloyd DC, Edwards AA, Moquet JE, Guerrero-Carbajal YC. The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties. *Applied Radiation and Isotopes*. 2000;52(5):1107–12. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(00\)00054-3](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(00)00054-3)

**Вклад авторов.** Ю.Р. Ахмадуллина — планирование исследования, статистическая обработка результатов, интерпретация результатов, написание, редактирование и подготовка итоговой версии статьи; Я.В. Кривошапова — проведение лабораторных исследований, получение первичных данных, статистическая обработка первичных данных, написание текста статьи; А.В. Куприянова — проведение лабораторных исследований, получение первичных данных, редактирование статьи.

#### Об авторах:

**Ахмадуллина Юлия Рафисовна**, канд. биол. наук, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4394-2228>  
**Кривошапова Яна Владимировна**, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2555-2616>  
**Куприянова Анастасия Вениаминовна**, ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8699-2745>