

# МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 614.31

DOI: 10.21668/health.risk/2025.3.10



Читать  
онлайн

Научная статья

## ОБОСНОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОМАРКЕРОВ ЭФФЕКТА N-НИТРОЗОАМИНОВ

Д.В. Суворов<sup>1</sup>, П.З. Шур<sup>1</sup>, С.Е. Зеленкин<sup>1</sup>, Д.Н. Лир<sup>1</sup>, Нгуен Ван Куонг<sup>2</sup>,  
Нгуен Тхи Хонг Нго<sup>2</sup>, Тран Цао Шон<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Российская Федерация, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

<sup>2</sup>Национальный институт контроля качества пищевых продуктов, Вьетнам, г. Ханой, ул. Пхам Тхан Дуат, 65

*N*-нитрозодиметиламин (НДМА) – представитель нитрозоаминов с установленной гепатотоксичностью, однако, в отличие от изученных канцерогенных эффектов на модельных биологических объектах, параметры для количественной оценки неканцерогенного риска при его хроническом воздействии остаются неустановленными. Применение биомаркеров позволяет разработать параметры для оценки неканцерогенного риска для здоровья, включая установление пороговых уровней воздействия и безопасных диапазонов экспозиции. В контексте гепатотоксичности обращают на себя внимание аспаратаминоотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ) и гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ). Анализ изменений активности этих ферментов при контролируемых условиях эксперимента позволяет выявить зависимость «доза – эффект» даже для неспецифических маркеров повреждения печени.

Обоснованы параметры для оценки риска здоровью населения на основе результатов экспериментального исследования с применением биомаркеров эффекта *N*-нитрозоаминов.

Проведен токсикологический 6-месячный эксперимент на крысах линии Вистар, случайным образом распределенных на пять групп, различающихся дозами перорально вводимого НДМА для интерполяции кривой «доза – эффект» (ответ).

Для оценки зависимостей «доза – эффект» применен нелинейный регрессионный анализ. Определение безопасных уровней воздействия НДМА проводилось методом Benchmark Dose Lower Limit (BMDL) с применением подхода скользящего окна. Статистическая обработка данных осуществлялась с применением *U*-критерия Манна – Уитни. При переходе от BMDL к референтной дозе применялись факторы неопределенности.

© Суворов Д.В., Шур П.З., Зеленкин С.Е., Лир Д.Н., Нгуен Ван Куонг, Нгуен Тхи Хонг Нго, Тран Цао Шон, 2025  
Суворов Дмитрий Владимирович – научный сотрудник отдела анализа риска здоровью (e-mail: suvorov@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3594-2650>).

Шур Павел Залманович – доктор медицинских наук, ученый секретарь (e-mail: shur@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-3105>).

Зеленкин Сергей Евгеньевич – научный сотрудник отдела анализа риска здоровью (e-mail: zelenkin@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0259-5509>).

Лир Дарья Николаевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник – заведующий отделом анализа риска для здоровья (e-mail: lir@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7738-6832>).

Нгуен Ван Куонг – научный сотрудник лаборатории экспериментов на животных и растениях (e-mail: vancuong0511@gmail.com; тел.: +84 (97) 240-50-11; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6080-4662>).

Нгуен Тхи Хонг Нго – руководитель лаборатории пищевой токсикологии и аллергенов (e-mail: htqt@nifc.gov.vn; тел.: +84 (90) 424-81-67; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1861-0857>).

Тран Цао Шон – заместитель директора (e-mail: sontc@nifc.gov.vn; тел.: +84 (98) 868-32-82; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9779-2715>).

Среди исследованных биомаркеров гепатотоксичности ГГТ продемонстрировала наибольшую диагностическую чувствительность наряду с выявленной выраженной дозозависимостью ( $p \leq 0,05$ ). Результаты математического моделирования зависимости уровня ГГТ от дозы НДМА показали статистически значимые параметры, характеризующие гепатотоксический эффект. На основании значимого превышения биомаркера установлен BMDL на уровне  $0,0055 \text{ мг/кг}$  массы тела и обоснована референтная доза для хронического воздействия НДМА –  $5,73 \cdot 10^{-6} \text{ мг/кг}$  массы тела. Получены параметры зависимости «доза – ответ» ( $b_0 = -2,94$ ;  $b_1 = 35,96$ ) для оценки неканцерогенного риска, связанного с нарушением функции печени. Следовательно, исследование позволило определить количественные параметры для оценки риска при хроническом воздействии НДМА.

**Ключевые слова:** оценка риска, НДМА, гепатотоксичность, токсикологический эксперимент, биомаркеры эффекта, доза – эффект, хроническое воздействие, BMDL, референтная доза.

N-нитрозодиметиламин (НДМА) является представителем нитрозаминов – класса соединений, обладающих выраженной гепатотоксичностью и канцерогенной активностью [1–4]. Несмотря на то что канцерогенные свойства НДМА достаточно хорошо изучены на животных моделях, вопросы, связанные с оценкой его неканцерогенных эффектов при хроническом воздействии, остаются недостаточно исследованными. При пероральном поступлении даже в малых дозах первичным органом-мишенью НДМА является печень [5, 6], что обусловлено особенностями его метаболизма: после всасывания в желудочно-кишечном тракте соединение подвергается биотрансформации в гепатоцитах с образованием реактивных метаболитов, вызывающих оксидативный стресс и повреждение клеток печени, что проявляется в появлении периферической крови биомаркеров токсического действия [7–9]. Именно поэтому оценка гепатотоксических эффектов НДМА приобретает особое значение при изучении его неканцерогенного действия.

Применение биомаркеров позволяет разработать параметры для оценки неканцерогенного риска для здоровья, включая установление пороговых уровней воздействия и безопасных диапазонов экспозиции. В современных исследованиях особое внимание уделяется поиску и валидации биомаркеров эффекта, которые могут служить индикаторами токсического воздействия на различных уровнях биологической организации [8]. В контексте оценки гепатотоксичности НДМА значительный интерес представляют биохимические показатели функции печени, такие как аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ) и гамма-глутамил-трансфераза (ГГТ). Эти ферменты, являясь неспецифическими маркерами повреждения печени, тем не менее могут отражать степень токсического воздействия при контролируемых условиях эксперимента [9, 10].

Проведенные на животных моделях токсикологические исследования продемонстрировали статистически значимую зависимость между уровнем экспозиции НДМА и изменением активности печеночных ферментов [11]. Анализ изменений активности этих ферментов при контролируемых условиях эксперимента позволяет выявить зависимость «доза – эффект» даже для неспецифических маркеров повреждения печени. Применение современных ста-

тистических методов для обработки данных токсикологических исследований на животных моделях дает возможность установить количественные параметры оценки риска, включая расчет допустимой суточной дозы (ДСД / ADI). Установленные значения оказались более строгими по сравнению с ранее принятыми нормативами Агентства по охране окружающей среды США (EPA), что подчеркивает необходимость пересмотра существующих подходов к оценке риска воздействия НДМА.

Таким образом, **цель исследования** – обоснование параметров для оценки риска здоровью населения на основе результатов экспериментального исследования с применением биомаркеров эффекта N-нитрозоаминов.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали крыс линии Вистар, которых случайным образом распределили на пять групп по 13 животных в каждой, с примерно равным соотношением самцов и самок (7 : 6 или 6 : 7 в зависимости от группы). Группы различались дозами вводимого *per os* НДМА для интерполяции кривой «доза – эффект (ответ)» и «доза – концентрация НДМА в крови»: группа № 1 получала  $0,04 \text{ мг/кг}$  массы тела ( $0,001 \times \text{LD50}$ ); группа № 2 –  $0,002 \text{ мг/кг}$  массы тела (LOAEL [7]); группа № 3 –  $0,0004 \text{ мг/кг}$  массы тела ( $0,00001 \times \text{LD50}$ ); группа № 4 –  $0,00002 \text{ мг/кг}$  массы тела (аналог максимальной дозы при потреблении мясных продуктов человеком); группа № 5 (контроль) получала дистиллированную воду. Хронический эксперимент длился 180 дней. Ежедневно утром натощак животным вводили НДМА через зонд с коррекцией дозы по массе тела. Диапазоны индивидуальных доз составили: для группы № 1 –  $6,16 \cdot 10^{-3}$ – $1,54 \cdot 10^{-2} \text{ мг/кг}$  массы тела, группы № 2 –  $3,20 \cdot 10^{-4}$ – $7,16 \cdot 10^{-4} \text{ мг/кг}$  массы тела, группы № 3 –  $7,03 \cdot 10^{-5}$ – $1,54 \cdot 10^{-4} \text{ мг/кг}$  массы тела, группы № 4 –  $3,43 \cdot 10^{-6}$ – $7,25 \cdot 10^{-6} \text{ мг/кг}$  массы тела. Забор крови для анализа проводили ежемесячно: потенциальные биомаркеры эффекта (АСТ, АЛТ, ГГТ) определяли кинетическим (УФ-спектрофотометрическим) методом в аккредитованной на территории Вьетнама лаборатории. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (протокол заседания № 12 от 21.03.2023), проведено согласно общепринятым научным принципам Хельсинкской декларации

Всемирной медицинской ассоциации (в редакции 2013 г.).

Статистический анализ выполнен с использованием пакета Statistica 13.0. Для межгрупповых сравнений применяли непараметрический  $U$ -критерий Манна – Уитни. Статистическую значимость различий между группами оценивали при  $p \leq 0,05$ , что отражено на соответствующих графиках. Для изучения зависимости «доза – эффект (ответ)» применен нелинейный регрессионный анализ. Качество моделей оценивалось по коэффициенту детерминации ( $R^2$ ), отражающему долю объясненной дисперсии зависимой переменной. Для проверки адекватности моделей использовались следующие статистические критерии: тест отношения правдоподобия (критерий Фишера ( $F$ -критерий)), уровень статистической значимости ( $p$ -value) и показатель отношения шансов (Odds Ratio, OR). Интерпретация параметров модели включала анализ свободного члена ( $B_0$ ), представляющего базовый уровень содержания биомаркеров в крови при нулевых значениях предикторов, а также коэффициента регрессии ( $B_1$ ) для НДМА, который отражает изменение уровня биомаркера на единицу изменения предиктора.

Графическое представление данных выполнено как в виде графиков, так и боксплотов (ящиков с усами), отображающих медиану (центральная линия), 25-й и 75-й процентиля (границы ящика), минимальное и максимальное значения в пределах 1,5 межквартильных размахов (усы). Для визуализации статистически значимых различий между группами использованы соединительные линии с указанием уровня значимости ( $p \leq 0,05$ ).

Для определения безопасных уровней воздействия НДМА использован метод Benchmark Dose Lower Limit (BMDL) с применением подхода скользящего окна (The sliding window method)<sup>1</sup>. Определение параметров математической модели осуществлялось по формуле (1):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 x_1)}}, \quad (1)$$

где  $p$  – вероятность ответа;

$x_1$  – величина дозы, мг/кг массы тела в день;

$b_0, b_1$  – параметры модели.

Установление референтной дозы ( $RfD$  / ДСД) проводилось в соответствии с Руководством Р 2.1.10.3968-23<sup>2</sup>.

При переходе от BMDL к референтной дозе применялись следующие факторы неопределен-

ности: межвидовая экстраполяция, экстраполяция экспериментальных условий, использование BMDL и учет хронического воздействия.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты 6-месячного эксперимента по оценке влияния различных доз НДМА на показатели функционального состояния печени, которые оценивали по динамике изменения активности печеночных ферментов (АСТ, АЛТ и ГГТ) в периферической крови, продемонстрировали дозозависимость изменения исследуемых параметров (рис. 1).

Проведенный анализ биохимических показателей крови экспериментальных животных после 6-месячного воздействия НДМА в различных дозах выявил существенные изменения активности ключевых печеночных ферментов. Применение непараметрического критерия Манна – Уитни позволило установить статистически значимые различия в распределении изучаемых биомаркеров между группами.

Наиболее выраженные изменения наблюдались в активности АСТ. Максимальная доза НДМА (0,04 мг/кг, группа № 1) вызывала статистически значимое повышение уровня АСТ ( $Me = 196,4$  [186,6; 274,6] Е/л) по сравнению с контрольной группой ( $U_{эмп} = 35$  при  $U_{крит} = 42$ ;  $p \leq 0,05$ ). Интересно отметить, что группа № 2 (0,002 мг/кг) демонстрировала наиболее высокие значения АСТ ( $Me = 267,1$  [243,7; 302,7] Е/л), однако статистически значимые различия с контролем отсутствовали ( $U_{эмп} = 52$  при  $U_{крит} = 55$ ;  $p > 0,05$ ), что свидетельствует о нелинейном характере дозовой зависимости. Минимальная исследуемая доза (0,00002 мг/кг, группа № 4) также вызывала статистически значимые изменения активности АСТ ( $U_{эмп} = 22$  при  $U_{крит} = 40$ ;  $p \leq 0,05$ ), что указывает на чувствительность данного маркера к воздействию НДМА.

Анализ активности АЛТ выявил менее выраженную, но статистически значимую реакцию на токсическое воздействие. Максимальная доза НДМА (группа № 1) приводила к достоверному повышению АЛТ по сравнению с показателями контрольной группы ( $U_{эмп} = 38$  при  $U_{крит} = 45$ ;  $p \leq 0,05$ ), хотя абсолютные значения показателя ( $Me = 60,3$  [47,3; 78,6] Е/л) ниже, чем в контрольной группе ( $Me = 76,4$  [72,0; 85,3] Е/л). Наибольшие значения АЛТ наблюдались в группе № 4 ( $Me = 83,3$  [73,5; 89,2] Е/л), где также зарегистрированы статистически значимые различия с контрольными данными ( $U_{эмп} = 19$  при  $U_{крит} = 30$ ;  $p \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup> Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека [Электронный ресурс] // ЕЭК. – URL: <https://eec.eaunion.org/upload/medialibrary/3ae/MU-po-ustanovleniyu-i-obosnovaniyu-gigienicheskikh-normativov.pdf> (дата обращения: 11.06.2025).

<sup>2</sup> Р 2.1.10.3968-23. Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. – 221 с.

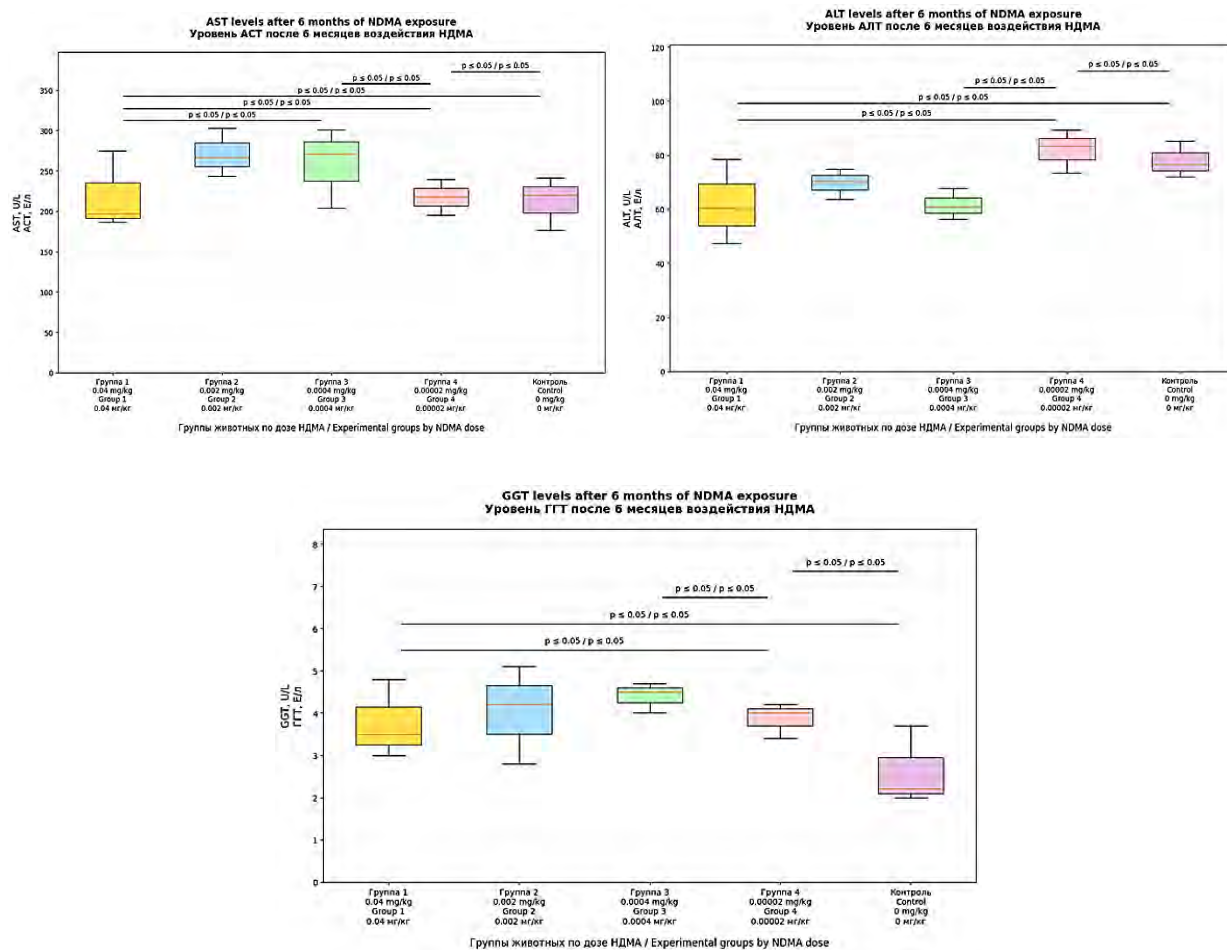


Рис. 1. Боксплоты, отражающие распределение концентраций АСТ, АЛТ и ГГТ в крови в зависимости от дозы НДМА

Исследование активности ГГТ показало выраженную реакцию на воздействие НДМА. Максимальная доза (группа № 1) вызывала значимое повышение ГГТ ( $Me = 3,5 [3,0; 4,8]$  Е/л) по сравнению с контрольными данными ( $Me = 2,2 [2,0; 3,7]$  Е/л;  $U_{эмп} = 40$  при  $U_{крит} = 47$ ;  $p \leq 0,05$ ). Примечательно, что минимальная доза (группа № 4) также приводила к статистически значимым изменениям активности фермента ( $U_{эмп} = 22$  при  $U_{крит} = 40$ ;  $p \leq 0,05$ ), что подтверждает высокую чувствительность данного биомаркера к гепатотоксическому воздействию.

Несмотря на неспецифичность ГГТ как биомаркера функциональных нарушений печени, его ассоциированность с воздействием НДМА подтверждается проведенным исследованием, которое демонстрирует статистически значимую связь ( $p \leq 0,05$ ) с дозовой нагрузкой N-нитрозодиметиламина, что делает возможным его применение в качестве биомаркера для обоснования ДСД в рамках оценки токсического воздействия.

Методом скользящего окна построена регрессионная модель, отражающая влияние уровня экспозиции на показатель «отношение шансов» (OR), который характеризует силу связи между значениями уровня экспозиции (НДМА) и ответом (повышение

уровня ГГТ). В качестве критерия наличия связи принимается условие  $OR \geq 1$  (рис. 2).

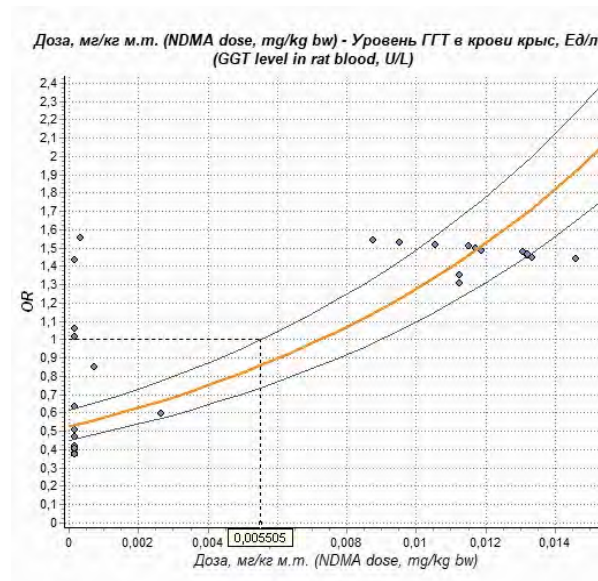


Рис. 2. Графическое представление изменения отношения шансов повышения активности ГГТ от уровня экспозиции НДМА на основе математического моделирования

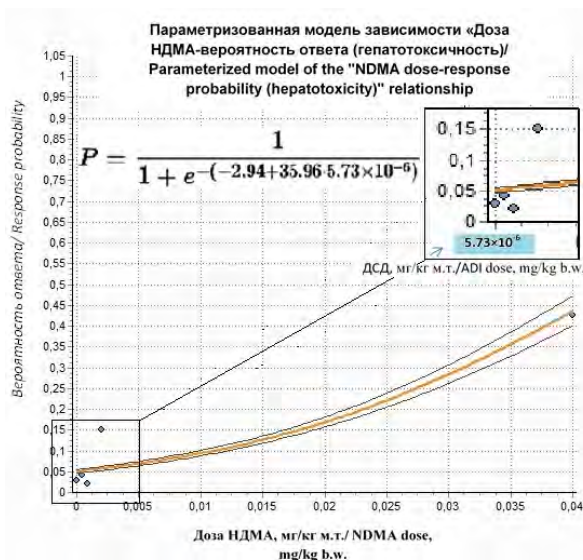


Рис. 3. Результаты параметризации зависимости вероятности ответа (гепатотоксичность) от величины экспозиции НДМА

На основании анализа «доза – эффект» установлен реперный уровень (BMDL) – 5,5 мкг/кг массы тела, соответствующий нижней доверительной границе дозы, при превышении которой наблюдается значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение активности ГГТ.

Установленный BMDL (5,5 мкг/кг массы тела) был применен в качестве отправной точки для расчета референтной дозы ( $RfD$  / ДСД) для НДМА. К значению BMDL были применены факторы неопределенности, включающие межвидовую экстраполяцию ( $\times 10$ ), экстраполяцию экспериментальных условий ( $\times 6$ ), использование BMDL вместо NOAEL ( $\times 4$ ) и учет хронического воздействия ( $\times 4$ ), что в совокупности составило множитель 960. В результате расчетов была обоснована референтная доза ( $RfD$  / ДСД) для НДМА на уровне 5,73 нг/кг массы тела ( $5,73 \cdot 10^{-6}$  мг/кг массы тела).

Для оценки влияния доз НДМА, превышающих уровень ДСД, на выраженность гепатотоксических эффектов была проведена параметризация зависимости «доза – ответ», описывающая вероятность ответа в зависимости от величины экспозиции (рис. 3).

Построенная модель демонстрирует, что полученные параметры зависимости «доза – ответ»

(таблица) могут быть использованы в диапазоне от расчетного значения ДСД (0,0057 мкг/кг массы тела) до верхней границы дозовой нагрузки 0,04 мг/кг массы тела (40 мкг/кг массы тела).

Таким образом, установленные зависимости «доза – эффект (ответ)» позволили рассчитать параметры (BMDL,  $RfD$ ), которые позволяют количественно оценить вероятность развития гепатотоксических эффектов при различных уровнях экспозиции НДМА.

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что ГГТ может служить чувствительным биомаркером эффекта для оценки гепатотоксического действия НДМА при хроническом пероральном воздействии. Установленная зависимость «доза – эффект» для ГГТ ( $p < 0,01$ ) согласуется с данными других исследований, отмечавших повышенную чувствительность этого фермента к оксидативному стрессу, индуцируемому N-нитрозамином<sup>3</sup> [12–14]. Важно отметить, что, в отличие от традиционных гистопатологических методов [15], в том числе использованных в исследованиях U.S. EPA<sup>4</sup> при установлении референтной дозы [16], настоящее исследование основано на динамическом мониторинге биохимических показателей, что позволило выявить более ранние изменения печеночной функции.

Расчет нижней границы доверительного интервала для минимального уровня воздействия и последующее определение референтной дозы проводились с использованием современных методов математического моделирования, учитывающих нелинейные зависимости биологического ответа. Полученное значение  $RfD$  оказалось на более низком уровне, чем предложенное U.S. EPA референтной дозы ( $8 \cdot 10^{-6}$  мг/кг/день)<sup>5</sup>, что объясняется некоторыми преимуществами примененных методических подходов: (1) использование более чувствительного биомаркера (ГГТ), (2) учет данных длительного (180-дневного) эксперимента и (3) применение многофакторного статистического анализа, минимизирующего влияние случайных вариаций. Эти результаты подтверждают выводы Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Authority, EFSA) о необходимости пересмотра традиционных подходов к оценке риска с включением современных биомаркерных технологий<sup>6</sup> [17–20].

<sup>3</sup> Annunziato I. Evaluation of acute hepatic toxicity and inflammation induced by nitrosamines in *Mus musculus* and *Danio rerio*: Dissertação de mestrado. – São Vicente: University of Porto, 2024. – 36 p.

<sup>4</sup> Reference Dose ( $RfD$ ): Description and Use in Health Risk Assessments. Background Document 1A, March 15, 1993 (updated on May 5, 2025) [Электронный ресурс] // U.S. Environmental Protection Agency. – URL: <https://www.epa.gov/iris/reference-dose-rfd-description-and-use-health-risk-assessments> (дата обращения: 16.06.25).

<sup>5</sup> Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine (CASRN 62-75-9). – USA, Cincinnati: U.S. Environmental Protection Agency, 2007. – 27 p.

<sup>6</sup> Environmental Health Criteria 222. Biomarkers in risk assessment: Validity and validation [Электронный ресурс] // INCHEM. – Geneva: World Health Organization, 2001. – URL: <https://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm> (дата обращения: 11.06.2025).

## Параметры модели, отражающие вероятность ответа (гепатотоксичность) от поступающей дозы НДМА

| Параметры модели                        |                                                        | Характеристика модели        |                                 |                                       | BMDL,<br>мкг/кг м.т. |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| Свободный член<br>(Intercept) ( $b_0$ ) | Коэффициент регрессии<br>для N-нитрозоаминов ( $b_1$ ) | Адекватность<br>(F-критерий) | Достоверность<br>( $p < 0,05$ ) | Коэффициент<br>детерминации ( $R^2$ ) |                      |
| -2,94                                   | 35,96                                                  | 26,127                       | 0,00001                         | 0,73                                  | 0,55                 |

Таким образом, полученные результаты вносят значимый вклад в развитие методологии оценки неканцерогенных рисков, устанавливая отправные точки (BMDL) для определения безопасных уровней хронического перорального воздействия НДМА. Полученные параметры могут быть рекомендованы к рассмотрению и включению их в «Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека»<sup>7</sup>, утвержденные Евразийской экономической комиссией, а также в Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания (Р 2.1.10.3968-23)<sup>8</sup>.

**Выводы.** Полученные результаты продемонстрировали статистически значимую дозозависимую связь между поступающей дозой НДМА и изменением активности печеночных ферментов, что подтверждает гепатотоксическое действие вещества. Среди исследованных биомаркеров ГГТ продемонстрировала наибольшую диагностическую чувствительность наряду с выявленной выраженной дозозависимостью ( $p \leq 0,05$ ).

Установлена  $RfD$  / ДСД для НДМА на уровне  $5,73 \cdot 10^{-6}$  мг/кг массы тела на основе BMDL (0,0055

мг/кг массы тела) с применением факторов неопределенности (межвидовая экстраполяция, экстраполяция экспериментальных условий, использование BMDL и учет хронического воздействия).

Получены параметры зависимости «доза – ответ», которые могут быть использованы для количественной оценки неканцерогенного риска ( $b_0 = -2,94$ ,  $b_1 = 35,96$ ), обусловленного нарушением функции печени.

Следовательно, проведенное экспериментальное исследование с использованием биомаркеров эффекта позволило установить количественные параметры для оценки неканцерогенного риска здоровью, связанного с хроническим поступлением НДМА.

Таким образом, предложенные параметры для оценки риска дополняют систему знаний о формировании риска, обусловленного химическими загрязнителями, и могут быть рекомендованы для включения в соответствующие нормативно-методические документы.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках реализации Федерального проекта «Санитарный щит» при международном сотрудничестве Российской Федерации и Социалистической Республики Вьетнам<sup>9</sup>.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

1. Investigating the root cause of N-nitrosodimethylamine formation in metformin pharmaceutical products / N.E.H. Nasr, M.G. Metwaly, E.O. Ahmed, A.R. Fares, A.N. ElMeshad // Expert Opin. Drug Saf. – 2021. – Vol. 20, № 7. – P. 855–862. DOI: 10.1080/14740338.2021.1917547
2. N-Nitrosodimethylamine-Contaminated Valsartan and the Risk of Cancer – A Longitudinal Cohort Study Based on German Health Insurance Data / W. Gomm, C. Röthlein, K. Schüssel, G. Brückner, H. Schröder, S. Heß, R. Frötschl, K. Broich, B. Haenisch // Dtsch Arztebl. Int. – 2021. – Vol. 118, № 21. – P. 357–362. DOI: 10.3238/arztebl.m2021.0129
3. Li Y., Hecht S.S. Metabolic Activation and DNA Interactions of Carcinogenic N-Nitrosamines to Which Humans Are Commonly Exposed // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 9. – P. 4559. DOI: 10.3390/ijms23094559
4. Occurrence and carcinogenic risk assessment of N-nitrosamines in some dried aquatic products in China / S. Huang, W. Fu, Q. Fang, L. Ni, R. Zheng, L. Yong, Z. Huang, J. Pang [et al.] // Food Control. – 2023. – Vol. 152, № 7. – P. 109845. DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.109845

<sup>7</sup> Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека [Электронный ресурс] // ЕЭК. – URL: <https://eec.eaunion.org/upload/medialibrary/3ae/MU-po-ustanovleniyu-i-obosnovaniyu-gigienicheskikh-normativov.pdf> (дата обращения: 11.06.2025).

<sup>8</sup> Р 2.1.10.3968-23. Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. – 221 с.

<sup>9</sup> О реализации федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)»: Постановление Совета Федерации Федерального Собрания Российской Федерации № 673-СФ от 22 ноября 2023 года [Электронный ресурс] // СФ. – URL: <http://council.gov.ru/activity/documents/150478/> (дата обращения: 20.06.2025).

5. Lipid metabolism disorders contribute to hepatotoxicity of ICR mice induced by nitrosamines exposure / H. Zhang, L. Lu, C. Zhao, Q. Liu, Q. Zhou, Y. Zhang, Y. Pu, S. Wang [et al.] // *Environ. Int.* – 2022. – Vol. 167. – P. 107423. DOI: 10.1016/j.envint.2022.107423
6. N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and Some Prescribed Medicines: A Mini-review / C.V. Ugwueze, C.M. Ezeude, C.M. Abonyi, C.B. Nwatu, K.N. Ukwaja, E.E. Young // *International Journal of Medicine and Health Development.* – 2022. – Vol. 27, № 2. – P. 109–113. DOI: 10.4103/ijmh.IJMH\_15\_21
7. Human Health hazard assessment strategy for amine emissions around PCC facilities. Deliverable D3.3 / M. Lathouri, A. Korre, M. Dusinska, S. Durucan. – Trondheim, Norway: Sustainable OPeration of post-combustion Capture plants (SCOPE), 2022. – 67 p.
8. Implementation of effect biomarkers in human biomonitoring studies: A systematic approach synergizing toxicological and epidemiological knowledge / A. Rodríguez-Carrillo, V. Mustieles, E. Salamanca-Fernández, A. Olivas-Martínez, B. Suárez, L. Bajard, K. Baken, L. Blaha [et al.] // *Int. J. Hyg. Environ. Health.* – 2023. – Vol. 249. – P. 114140. DOI: 10.1016/j.ijheh.2023.114140
9. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review / U. Usunomena, A.A. Joshua, O.T. Okugbo, U.F. Evuen, M. Osibemhe, N.P. Okolie // *British Journal of Pharmacology and Toxicology.* – 2012. – Vol. 3, № 4. – P. 165–176.
10. Biomarkers of Hepatic Toxicity: An Overview / S. Thakur, V. Kumar, R. Das, V. Sharma, D. Kumar Mehta // *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* – 2024. – Vol. 100. – P. 100737. DOI: 10.1016/j.curtheres.2024.100737
11. Суворов Д.В., Шур П.З., Зеленкин С.Е. К вопросу об определении допустимой суточной дозы суммы N-нитрозоаминов для детей раннего возраста // *Анализ риска здоровью.* – 2024. – № 4. – С. 72–80. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.07
12. A systematic review on multipotent carcinogenic agent, N-nitrosodiethylamine (NDEA), its major risk assessment, and precautions / P. Janmeda, D. Jain, P. Chaudhary, M. Meena, D. Singh // *J. Appl. Toxicol.* – 2024. – Vol. 44, № 8. – P. 1108–1128. DOI: 10.1002/jat.4574
13. Gamma-Glutamyltransferase Activity (GGT) is a Long-Sought Biomarker of Redox Status in Blood Circulation: A Retrospective Clinical Study of 44 Types of Human Diseases / C. Bai, M. Zhang, Y. Zhang, Y. He, H. Dou, Z. Wang, Z. Wang, Z. Li, L. Zhang // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 8494076. DOI: 10.1155/2022/8494076
14. Priya S., Kma L. Modulation of EphA7 and pEphA7 Protein Expression: Potential Biomarkers for Early Detection of Hepatocellular Carcinoma // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* – 2022. – Vol. 23, № 8. – P. 2843–2850. DOI: 10.31557/APJCP.2022.23.8.2843
15. George J., Tsutsumi M., Tsuchishima M. Alteration of Trace Elements during Pathogenesis of N-Nitrosodimethylamine Induced Hepatic Fibrosis // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 708. DOI: 10.1038/s41598-018-37516-4
16. A review of the reference dose and reference concentration processes. – Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 2002. – 192 p.
17. Conceptual basis for the development of guidance for the use of biomarkers of effect in regulatory risk assessment of chemicals / European Food Safety Authority (EFSA), A. Hernández-Jerez, S.H. Bennekou, L. Hoogenboom, H. Mcardle, C. Pieper, T. Schwerdtle, H. Van Loveren [et al.] // *EFSA J.* – 2024. – Vol. 22, № 12. – P. e9153. DOI: 10.2903/j.efsa.2024.9153
18. Human Biomonitoring Data in Health Risk Assessments Published in Peer-Reviewed Journals between 2016 and 2021: Confronting Reality after a Preliminary Review / T. Bizjak, M. Capodiferro, D. Deepika, Ö. Dinçkol, V. Dzhezheia, L. Lopez-Suarez, I. Petridis, A.A. Runkel [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2022. – Vol. 19, № 6. – P. 3362. DOI: 10.3390/ijerph19063362
19. Bonzini M., Leso V., Iavicoli I. Towards a toxic-free environment: perspectives for chemical risk assessment approaches // *Med. Lav.* – 2022. – Vol. 113, № 1. – P. e2022004. DOI: 10.23749/mdl.v113i1.12748
20. Biomonitoring as an Underused Exposure Assessment Tool in Occupational Safety and Health Context-Challenges and Way Forward / S. Viegas, M. Zare Jeddi, N.B. Hopf, J. Bessems, N. Palmen, K.S. Galea, K. Jones, P. Kujath [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2020. – Vol. 17, № 16. – P. 5884. DOI: 10.3390/ijerph17165884

*Обоснование параметров для оценки риска здоровью населения на основе результатов экспериментального исследования с применением биомаркеров эффекта N-нитрозоаминов / Д.В. Суворов, П.З. Шур, С.Е. Зеленкин, Д.Н. Лир, Нгуен Ван Куонг, Нгуен Тхи Хонг Нго, Тран Цао Шон // Анализ риска здоровью. – 2025. – № 3. – С. 95–103. DOI: 10.21668/health.risk/2025.3.10*



## SUBSTANTIATING INDICATORS FOR ASSESSING POPULATION HEALTH RISKS BASED ON EXPERIMENTAL INVESTIGATION APPLYING BIOMARKERS OF EFFECT PRODUCED BY N-NITROSAMINES

D.V. Suvorov<sup>1</sup>, P.Z. Shur<sup>1</sup>, S.E. Zelenkin<sup>1</sup>, D.N. Lir<sup>1</sup>, Nguyen Van Cuong<sup>2</sup>, Nguyen Thi Hong Ngoc<sup>2</sup>, Tran Cao Son<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation

<sup>2</sup>National Institute for Food Control, 65 Pham Than Duat Str., Hanoi, Vietnam

*N-Nitrosodimethylamine (NDMA) is a nitrosamine with established hepatotoxicity. However, unlike its well-studied carcinogenic effects in model organisms, quantitative indicators for assessing non-carcinogenic risks under chronic exposure remain undetermined. In the context of hepatotoxicity, key biomarkers include aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and gamma-glutamyl transferase (GGT). Analyzing changes in activity of these enzymes in controlled experimental conditions allows for identifying dose-response relationships even for non-specific liver injury markers.*

*The study aimed to establish health risk assessment indicators based on experimental research using biomarkers of effect established for N-nitrosamines.*

*A 6-month toxicological experiment was conducted on Wistar rats randomly divided into five groups that were administered different oral doses of NDMA to interpolate the dose-response curve.*

*Dose-effect relationships were assessed using nonlinear regression analysis. Safe exposure levels for NDMA were determined using the Benchmark Dose Lower Limit (BMDL) approach with the sliding window method. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U-test. Uncertainty factors were applied when converting BMDL to a reference dose (RfD).*

*Among the analyzed hepatotoxicity biomarkers, GGT demonstrated the highest diagnostic sensitivity and a pronounced dose-dependent response ( $p \leq 0.05$ ). Mathematical modeling of the GGT-NDMA dose relationship yielded statistically significant indicators characterizing hepatotoxic effects. Based on significant biomarker excess, a BMDL of 0.0055 mg/kg body weight was established, and an RfD was substantiated for chronic NDMA exposure equal to  $5.73 \cdot 10^{-6}$  mg/kg body weight. Dose-response indicators were established ( $b_0 = -2.94$ ,  $b_1 = 35.96$ ) for assessing non-carcinogenic risks associated with liver dysfunction. Thus, this study provides quantitative indicators for evaluating health risks under chronic NDMA exposure.*

**Keywords:** risk assessment, NDMA, hepatotoxicity, toxicological experiment, effect biomarkers, dose-effect, chronic exposure, BMDL, reference dose.

### References

1. Nasr N.E.H., Metwaly M.G., Ahmed E.O., Fares A.R., ElMeshad A.N. Investigating the root cause of N-nitrosodimethylamine formation in metformin pharmaceutical products. *Expert Opin. Drug Saf.*, 2021, vol. 20, no. 7, pp. 855–862. DOI: 10.1080/14740338.2021.1917547
2. Gomm W., Röthlein C., Schüssel K., Brückner G., Schröder H., Heß S., Frötschl R., Broich K., Haenisch B. N-Nitrosodimethylamine-Contaminated Valsartan and the Risk of Cancer – A Longitudinal Cohort Study Based on German Health Insurance Data. *Dtsch Arztebl. Int.*, 2021, vol. 118, no. 21, pp. 357–362. DOI: 10.3238/arztebl.m2021.0129

© Suvorov D.V., Shur P.Z., Zelenkin S.E., Lir D.N., Nguyen Van Cuong, Nguyen Thi Hong Ngoc, Tran Cao Son, 2025  
**Dmitrii V. Suvorov** – Researcher at the Health Risk Analysis Department (e-mail: suvorov@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3594-2650>).

**Pavel Z. Shur** – Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher-Academic Secretary (e-mail: shur@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5171-3105>).

**Sergey E. Zelenkin** – Researcher at the Health Risk Analysis Department (e-mail: zelenkin@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0259-5509>).

**Darya N. Lir** – Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher – Head of the Health Risk Analysis Department (e-mail: lir@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 238-33-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7738-6832>).

**Nguyen Van Cuong** – Researcher at the Laboratory of Experiments on Animals and Plants (e-mail: vancuong0511@gmail.com; tel.: +84 (97) 240-50-11; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6080-4662>).

**Nguyen Thi Hong Ngoc** – Head of the Laboratory of Food Toxicology and Allergens (e-mail: htqt@nifc.gov.vn; tel.: +84 (90) 424-81-67; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1861-0857>).

**Tran Cao Son** – Deputy Director (e-mail: sontc@nifc.gov.vn; tel.: +84 (98) 868-32-82; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9779-2715>).

3. Li Y., Hecht S.S. Metabolic Activation and DNA Interactions of Carcinogenic N-Nitrosamines to Which Humans Are Commonly Exposed. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 9, pp. 4559. DOI: 10.3390/ijms23094559
4. Huang S., Fu W., Fang Q., Ni L., Zheng R., Yong L., Huang Z., Pang J. [et al.]. Occurrence and carcinogenic risk assessment of N-nitrosamines in some dried aquatic products in China. *Food Control*, 2023, vol. 152, no. 7, pp. 109845. DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.109845
5. Zhang H., Lu L., Zhao C., Liu Q., Zhou Q., Zhang Y., Pu Y., Wang S. [et al.]. Lipid metabolism disorders contribute to hepatotoxicity of ICR mice induced by nitrosamines exposure. *Environ. Int.*, 2022, vol. 167, pp. 107423. DOI: 10.1016/j.envint.2022.107423
6. Ugwueze C.V., Ezeude C.M., Abonyi C.M., Nwatu C.B., Ukwaja K.N., Young E.E. N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and Some Prescribed Medicines: A Mini-review. *International Journal of Medicine and Health Development*, 2022, vol. 27, no. 2, pp. 109–113. DOI: 10.4103/ijmh.IJMH\_15\_21
7. Lathouri M., Korre A., Dusinska M., Durucan S. Human Health hazard assessment strategy for amine emissions around PCC facilities. Deliverable D3.3. Trondheim, Norway, Sustainable OPeration of post-combustion Capture plants (SCOPE), 2022, 67 p.
8. Rodríguez-Carrillo A., Mustieles V., Salamanca-Fernández E., Olivas-Martínez A., Suárez B., Bajard L., Baken K., Blaha L. [et al.]. Implementation of effect biomarkers in human biomonitoring studies: A systematic approach synergizing toxicological and epidemiological knowledge. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2023, vol. 249, pp. 114140. DOI: 10.1016/j.ijheh.2023.114140
9. Usunomena U., Joshua A.A., Okugbo O.T., Evuen U.F., Osibemhe M., Okolie N.P. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2012, vol. 3, no. 4, pp. 165–176.
10. Thakur S., Kumar V., Das R., Sharma V., Kumar Mehta D. Biomarkers of Hepatic Toxicity: An Overview. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.*, 2024, vol. 100, pp. 100737. DOI: 10.1016/j.curtheres.2024.100737
11. Suvorov D.V., Shur P.Z., Zelenkin S.E. On the issue of determining tolerable daily intake of total N-nitrosamines for toddlers. *Health Risk Analysis*, 2024, no. 4, pp. 72–80. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.07.eng
12. Janmeda P., Jain D., Chaudhary P., Meena M., Singh D. A systematic review on multipotent carcinogenic agent, N-nitrosodiethylamine (NDEA), its major risk assessment, and precautions. *J. Appl. Toxicol.*, 2024, vol. 44, no. 8, pp. 1108–1128. DOI: 10.1002/jat.4574
13. Bai C., Zhang M., Zhang Y., He Y., Dou H., Wang Z., Wang Z., Li Z., Zhang L. Gamma-Glutamyltransferase Activity (GGT) is a Long-Sought Biomarker of Redox Status in Blood Circulation: A Retrospective Clinical Study of 44 Types of Human Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2022, vol. 2022, pp. 8494076. DOI: 10.1155/2022/8494076
14. Priya S., Kma L. Modulation of EphA7 and pEphA7 Protein Expression: Potential Biomarkers for Early Detection of Hepatocellular Carcinoma. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2022, vol. 23, no. 8, pp. 2843–2850. DOI: 10.31557/APJCP.2022.23.8.2843
15. George J., Tsutsumi M., Tsuchishima M. Alteration of Trace Elements during Pathogenesis of N-Nitrosodimethylamine Induced Hepatic Fibrosis. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 708. DOI: 10.1038/s41598-018-37516-4
16. A review of the reference dose and reference concentration processes. Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency, 2002, 192 p.
17. European Food Safety Authority (EFSA), Hernández-Jerez A., Bennekou S.H., Hoogenboom L., Mcardle H., Pieper C., Schwerdtle T., Van Loveren H. [et al.]. Conceptual basis for the development of guidance for the use of biomarkers of effect in regulatory risk assessment of chemicals. *EFSA J.*, 2024, vol. 22, no. 12, pp. e9153. DOI: 10.2903/j.efsa.2024.9153
18. Bizjak T., Capodiferno M., Deepika D., Dinçkol Ö., Dziedzic V., Lopez-Suarez L., Petridis I., Runkel A.A. [et al.]. Human Biomonitoring Data in Health Risk Assessments Published in Peer-Reviewed Journals between 2016 and 2021: Confronting Reality after a Preliminary Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2022, vol. 19, no. 6, pp. 3362. DOI: 10.3390/ijerph19063362
19. Bonzini M., Leso V., Iavicoli I. Towards a toxic-free environment: perspectives for chemical risk assessment approaches. *Med. Lav.*, 2022, vol. 113, no. 1, pp. e2022004. DOI: 10.23749/mdl.v113i1.12748
20. Viegas S., Zare Jeddi M., Hopf N.B., Bessems J., Palmen N., Galea K.S., Jones K., Kujath P. [et al.]. Biomonitoring as an Underused Exposure Assessment Tool in Occupational Safety and Health Context-Challenges and Way Forward. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020, vol. 17, no. 16, pp. 5884. DOI: 10.3390/ijerph17165884

Suvorov D.V., Shur P.Z., Zelenkin S.E., Lir D.N., Nguyen Van Cuong, Nguyen Thi Hong Ngoc, Tran Cao Son. Substantiating indicators for assessing population health risks based on experimental investigation applying biomarkers of effect produced by N-nitrosamines. *Health Risk Analysis*, 2025, no. 3, pp. 95–103. DOI: 10.21668/health.risk/2025.3.10.eng

Получена: 27.06.2025

Одобрена: 29.07.2025

Принята к публикации: 24.09.2025