

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора

Министерство здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам

Национальный институт по контролю за пищевыми продуктами
Министерства здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам

ОПЫТ РОССИЙСКО-ВЬЕТНАМСКОГО СОТРУДНИЧЕСТВА В ОБЛАСТИ РАЗВИТИЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ В 2023–2024 ГГ.

Монография

Под редакцией

А.Ю. Поповой,

ответственные редакторы Н.В. Зайцева, В.Б. Алексеев, П.З. Шур,

Le Thi Hong Nao, Tran Cao Son

Пермь

Ханой

2025

Ответственные редакторы:

Зайцева Н.В.,	ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических
Алексеев В.Б.,	технологий управления рисками здоровью населения»
Шур П.З.	Роспотребнадзора
Le Thi Hong Hao	Национальный институт по контролю за пищевыми продуктами
	(National Institute for Food Control (NIFC)) – Министерства
Tran Cao Son	здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам

Коллектив авторов:

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека: д.м.н., проф. Попова Анна Юрьевна

Вьетнамская продовольственная администрация Министерства здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам: Nguyen Hung Long, Lam Quoc Hung

ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора: акад. РАН, д.м.н., проф. Зайцева Н.В., д.м.н. Алексеев В.Б., д.м.н. Шур П.З., Суворов Д.В., д.м.н. Землянова М.А., д.б.н. Нурисламова Т.В., Зеленкин С.Е., к.м.н. Лир Д.Н., к.м.н. Редько С.В., к.м.н. Фокин В.А., Субботина Д.Ю., Степанков М.С.

Национальный институт по контролю за пищевыми продуктами Министерства здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам: Le Thi Hong Hao, Tran Cao Son, Nguyen Thanh Trung, Nguyen Thi Hong Ngoc, Bui Cao Tien, Phung Cong Ly, Tran Trung Thanh, Pham Van Quan, Thieu Quang Thang, Nguyen Van Cuong, Tran Hung, Le Thanh Long, Tran Quang Huy, Vu Ngoc Tu, Ta Thi Yen, Nghiem Thi Ngoc Huyen.

Рецензенты:

Хотимченко С.А., член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»;

Мельцер А.В., доктор медицинских наук, профессор, проректор по развитию регионального здравоохранения и медико-профилактическому направлению, заведующий кафедрой профилактической медицины и охраны здоровья ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОТРУДНИЧЕСТВО ФНЦ МПТ УРЗН И NIFC: РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	10
ГЛАВА 2. ОЦЕНКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ, СВЯЗАННОГО С СОДЕРЖАНИЕМ N-НИТРОЗАМИНОВ В МЯСЕ И МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ, ПОТРЕБЛЯЕМЫХ НАСЕЛЕНИЕМ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ.....	22
Идентификация опасности N-нитрозаминов для последующей количественной оценки риска	24
Определение ключевых параметров зависимости «экспозиция – ответ»	29
Оценка канцерогенных эффектов	30
Оценка неканцерогенных эффектов	30
Оценка потребления мяса и мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам	31
Расчет среднесуточных доз	34
Характеристика риска	39
Оценка неопределенностей	47
Результаты гигиенического исследования по оценке риска для здоровья населения при употреблении мяса и мясных продуктов в Социалистической Республике Вьетнам	48
ГЛАВА 3. УСТАНОВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЗАВИСИМОСТИ «ЭКСПОЗИЦИЯ-ЭФФЕКТ» ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА НА ОСНОВЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОМАРКЕРОВ ЭКСПОЗИЦИИ И ЭФФЕКТА	53
Дизайн эксперимента на животных моделях по обоснованию параметров для количественной оценки неканцерогенного риска, формируемого экспозицией N-нитрозодиметиламином	59
Оценка зависимости эффектов (ответов) от дозы по результатам токсикологического эксперимента на животных моделях	63
Анализ зависимости активности печеночных ферментов (биомаркеров эффекта) и концентрации НДМА в крови (биомаркер экспозиции) от уровня экспозиции НДМА методом нелинейной парной регрессии	85

Установление реперного уровня НДМА на основании предварительных данных токсикологического эксперимента на крысах на основе уровня ГГТ	93
Установление реперного уровня НДМА на основании предварительных данных токсикологического эксперимента на крысах	94
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СОВМЕСТНОЙ РОССИЙСКО-ВЬЕТНАМСКОЙ РАБОТЫ В 2023-2024 ГГ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107

ВВЕДЕНИЕ

В контексте развития международного сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия 12 ноября 2013 года в городе Ханой (Социалистическая Республика Вьетнам) заключен Меморандум о сотрудничестве между Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) Российской Федерации и Министерством здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам. Данное соглашение стало основой для интенсификации научного взаимодействия между двумя ведомствами, что, в свою очередь, обусловило включение совместных исследовательских проектов в федеральный проект, реализуемый Роспотребнадзором «Санитарный щит» в 2022 году. Проект «Санитарный щит» нацелен на укрепление международного сотрудничества в области санитарно-эпидемиологического благополучия, включая обмен опытом и информацией с зарубежными партнерами. Кроме того, проект предусматривает развитие кадрового потенциала путем подготовки и повышения квалификации специалистов в сферах санитарно-эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и реагирования на чрезвычайные ситуации. Существенным аспектом проекта является совершенствование системы информационного обеспечения посредством создания и развития информационных систем, обеспечивающих своевременный обмен данными между различными ведомствами и регионами, а также информирование населения о рисках и мерах профилактики. Наконец, проект «Санитарный щит» предполагает совершенствование нормативно-правовой базы с целью регулирования вопросов санитарно-эпидемиологического благополучия населения, что отражает комплексный подход к обеспечению общественного здоровья.

В рамках реализации раздела проекта «Санитарный щит», ориентированного на оценку рисков для здоровья и обеспечение химической безопасности пищевых продуктов, активное участие принимают Федеральное бюджетное учреждение науки «Федераль-

ный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (г. Пермь) и Национальный институт контроля пищевых продуктов (National Institute for Food Control, NIFC, г. Ханой). Основанием для данного сотрудничества является Меморандум о взаимопонимании (Memorandum of Understanding), заключенный между научными институтами в 2018 году.

На базе центра сформирована научная школа анализа риска для здоровья, консолидирующая опыт признанных и перспективных молодых ученых в области профилактической медицины, гигиены, эпидемиологии неинфекционных заболеваний, цитогенетики, иммунологии, аналитической химии и математического моделирования биологических процессов. Школа развивает современные методики оценки рисков для здоровья, обусловленных воздействием разнообразных факторов окружающей среды, а также систему доказательств вреда здоровью населения, связанного с негативным влиянием окружающей среды. Разрабатываемые медико-профилактические технологии минимизации рисков базируются на глубоком анализе данных мониторинга состояния окружающей среды и здоровья населения России, результатов углубленных клинико-лабораторных, химико-аналитических и эпидемиологических исследований. Результаты исследований воплощаются в комплекс методических и информационно-аналитических документов, используемых в практической деятельности Роспотребнадзора.

Национальный институт контроля пищевых продуктов (National Institute for Food Control, NIFC) при Министерстве здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам был учрежден в соответствии с решением № 376/QD-TTg от 23 марта 2009 года, изданным Премьер-министром Социалистической Республики Вьетнам. Деятельность института регламентируется решениями № 6065/QD-BYT от 30 декабря 2019 года и № 5455/QD-BYT от 28 декабря 2020 года, принятыми министром здравоохранения.

Национальный институт контроля пищевых продуктов позиционируется как ведущее учреждение по тестированию пищевых

продуктов в системе здравоохранения Вьетнама, обеспечивающее поддержку государственному управлению в профессиональной деятельности Министерства здравоохранения и других компетентных органов в смежных областях, в соответствии с действующим законодательством.

Институт располагает современной инфраструктурой, включающей синхронизированное, высокотехнологичное оборудование, а также обеспечен высококвалифицированным персоналом, что обуславливает его востребованность среди организаций, осуществляющих деятельность в сфере управления, производства и оборота пищевой продукции. NIFC предоставляет широкий спектр услуг, обеспечивая высокий уровень качества и эффективности, включая: проведение испытаний различных видов пищевых продуктов, калибровку оборудования, сертификацию продукции, квалификационные испытания, а также консультирование и обучение методам отбора проб пищевых продуктов и передачи технологий. Помимо этого, NIFC уполномочен компетентными органами на проведение испытаний и осуществление государственного контроля в отношении продукции медицинского назначения, сельскохозяйственной, промышленной и торговой сфер.

Данное сотрудничество обусловлено растущей актуальностью проблемы неинфекционных заболеваний, связанных с воздействием различных факторов окружающей среды, включая химические загрязнители в пищевых продуктах. Изучение пищевых продуктов с позиции неинфекционной опасности является ключевым аспектом обеспечения здоровья населения, поскольку хроническое воздействие даже низких концентраций химических веществ может приводить к развитию патологических состояний, включая сердечно-сосудистые заболевания, онкологические процессы, нарушения обмена веществ, нейротоксические эффекты и другие негативные эффекты со стороны здоровья человека. В связи с этим комплексная оценка безопасности пищевых продуктов, включающая анализ химических загрязнителей, разработку методических подходов к определению допустимых уровней их содержания и оценку риска

для здоровья потребителей, приобретает первостепенное значение. Совместные исследования в рамках данного сотрудничества направлены на решение этих актуальных проблем и разработку научно обоснованных подходов к минимизации рисков, связанных с химическими факторами пищевого происхождения, с целью обеспечения санитарно-эпидемиологической безопасности населения.

Настоящее издание обобщает результаты совместных научно-исследовательских работ, проведенных Федеральным бюджетным учреждением науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Национальным институтом контроля пищевых продуктов в период с 2023 по 2024 годы, и содержит ключевую информацию об их сотрудничестве.

Для успешного выполнения совместной научно-исследовательской работы была разработана и согласована Дорожная карта реализации программы совместных научных исследований в области контроля качества пищевой продукции Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, РФ и Национального института контроля пищевой продукции, СРВ в 2023-2025 гг. Согласно Дорожной карте, в указанный период предполагается выполнение совместной научно-исследовательской работы по теме «Оценка риска для здоровья населения, формируемого потреблением N-нитрозаминов с пищевыми продуктами населением Социалистической Республики Вьетнам и Российской Федерации, с учетом разработанных параметров зависимости «экспозиция-ответ»». Так, в 2023 и 2024 годах основное внимание было уделено разработке и уточнению параметров, включая биомаркеры экспозиции и эффекта, для оценки рисков здоровью населения. В рамках этой задачи в 2023 году был реализован этап совместного научного исследования под названием «Оценка риска здоровью, связанного с содержанием N-нитрозаминов в мясе и мясных продуктах, потребляемых населением Социалистической Республики Вьетнам». Данная работа была продолжена и расши-

рена в 2024 году, когда на основе результатов, полученных в 2023 году, был проведён этап «Установление параметров зависимости «экспозиция-эффект» для оценки риска на основе токсикологического эксперимента с использованием биомаркеров экспозиции и эффекта». Результаты этапа 2024 года лягут в основу эпидемиологического исследования, запланированного в 2025 году и направленного на уточнение и подтверждение установленных параметров зависимости.

ГЛАВА 1. СОТРУДНИЧЕСТВО ФНЦ МПТ УРЗН И NIFC: РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

В рамках развития партнерских отношений и с целью углубления международного сотрудничества Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН) с 2015 года активно включилось в программу взаимодействия Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Министерства здравоохранения Социалистической Республики Вьетнам. Данное сотрудничество, нацеленное на оказание содействия Вьетнаму в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения, послужило отправной точкой для дальнейшего развития исследований в области химической безопасности пищевых продуктов, которая нашла свое отражение в сотрудничестве с Национальным институтом контроля пищевых продуктов в г. Ханой.

Последующее развитие сотрудничества с NIFC было закреплено распоряжением Правительства Российской Федерации от 13 июля 2019 г. № 1536-р, что ознаменовало новый этап в совместных исследованиях. Этот этап характеризовался активным обменом опытом и знаниями между специалистами и молодыми учеными, что стало возможным благодаря укреплению партнерских отношений между двумя организациями. Значимым событием, послужившим отправной точкой для дальнейшего взаимодействия, стала первая встреча, состоявшаяся непосредственно в NIFC в Социалистической Республике Вьетнам. В мероприятии со стороны вьетнамской стороны приняли участие: Рхам Ксуан Да (генеральный директор (на момент встречи), доктор наук), Ле Тхи Хонг Хао (заместитель директора института, профессор, доктор наук (в настоящее время генеральный директор)), Ле Тхи Фьенг Тхао (начальник отдела управления качеством), Нгуен Тхи Гьянг (начальник научно-технологического центра) и Нгуем Нгок Хиуен (специ-

алист по международному сотрудничеству). Правовой основой для сотрудничества между Федеральным научным центром медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения и Национальным институтом контроля пищевых продуктов послужил Меморандум о взаимопонимании (Memorandum of Understanding), подписанный в 2018 году. Данный документ определил рамки и принципы взаимодействия, а также закрепил намерения сторон по совместной работе в области оценки и обеспечения безопасности пищевых продуктов (Рис. 1.1).



Рис. 1.1. Меморандум о взаимопонимании (Memorandum of Understanding).

В соответствии с Меморандумом и планом мероприятий (Дорожной картой) последовательно осуществлялся комплекс мероприятий по повышению квалификации вьетнамских специалистов. Этот комплекс включал серию семинаров, проводимых непосредственно в NIFC, а также стажировки в ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН. В 2018 году с целью совершенствования пробоподготовки для хро-

матомасс-спектрометрического анализа на базе NIFC был проведен семинар по теме «Способ подготовки проб пищевой продукции к химическому анализу с применением автоматической системы твердофазной экстракции Sepaths с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом» (Ханой, май 2018). Далее, в декабре 2018 года, вьетнамские специалисты получили возможность ознакомиться с практическим применением способа подготовки проб пищевой продукции к химическому анализу с использованием автоматической системы твердофазной экстракции Sepaths непосредственно в ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН.

Продолжая реализацию намеченных планов, в июле 2019 года российскими специалистами были проведены обучающие семинары по оценке риска химического загрязнения пищевой продукции по методикам Комиссии Кодекс Алиментариус [Комиссия Кодекс Алиментариус. Анализ рисков] и ЕАЭС [Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека]. На семинарах были рассмотрены методологические аспекты оценки риска, включая идентификацию опасности актуальных загрязнителей пищевой продукции для обеих стран, установление зависимости «экспозиция-ответ» и применение эволюционного моделирования в оценке риска химических веществ в пищевых продуктах (Рис. 1.2).



Рис. 1.2. Обучающий семинар по оценке рисков для здоровья, проведенный российскими специалистами в NIFC (г. Ханой).

На протяжении всего периода сотрудничества в рамках Меморандума о взаимопонимании, начиная с момента его оформления и до настоящего времени, более 30 сотрудников Национального института контроля пищевых продуктов прошло обучение и повышение квалификации по методологии оценки рисков для здоровья. Данный факт свидетельствует о значительных усилиях, предпринятых в рамках партнерства, и о существенном вкладе в развитие профессиональных компетенций специалистов NIFC, осуществляемых в соответствии с положениями Меморандума.

Наряду с обучением вьетнамских специалистов методологии оценки риска проводилась совместная научно-исследовательская работа «Оценка риска для здоровья населения, обусловленного содержанием вредных веществ в пищевой продукции». Эта работа, охватывающая пятилетний период, была направлена на углубление понимания и развитие методологических подходов в области оценки риска.

На протяжении пяти лет российские и вьетнамские специалисты вели совместную международную работу, направленную на анализ и оценку риска для здоровья, обусловленного содержанием N-нитрозаминов в специализированных пищевых продуктах для детей раннего возраста. В рамках данного сотрудничества были также разработаны методические подходы к выбору пищевых продуктов для дальнейшей оценки опасности и контроля содержания непреднамеренно присутствующих химических веществ в пищевой продукции, основанные на критериях выбора. Результаты проведенных исследований были опубликованы в монографиях под редакцией главного государственного санитарного врача Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора А.Ю. Поповой, академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Г.Г. Онищенко и академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Н.В. Зайцевой (Рис. 1.3) [Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: Монография; Опыт российско-вьетнамского сотрудничества в области развития

обеспечения химической безопасности пищевой продукции: монография].



Рис. 1.3. Совместные монографии ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН и NIFC (2022-2024 гг.).

Годы успешного сотрудничества между научно-исследовательскими институтами Российской Федерации, представленными ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН, и Социалистической Республики Вьетнам, представленными NIFC, основанного на принципах взаимного доверия, открытости и уважения, заложили прочную основу для дальнейшего развития партнерских отношений в области обеспечения продовольственной безопасности. Этот этап сотрудничества, направленный на создание надежных и эффективных систем контроля качества пищевых продуктов и оценку рисков, играл ключевую роль в обеспечении здоровья и благополучия населения обеих стран.

Вдохновленные достигнутыми успехами и осознавая важность дальнейшего развития совместных усилий, Россия и Вьетнам определили новые стратегические направления сотрудничества. Начи-

ная с 2023 года Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека включила ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН в Федеральный проект «Санитарный щит». Это открыло новые перспективы для российско-вьетнамского сотрудничества в области продовольственной безопасности. Проект направлен на создание единой системы защиты населения от биологических, химических и радиационных угроз, включая обеспечение безопасности пищевых продуктов.

В рамках нового этапа партнерства был расширен спектр совместных исследований, при этом главным направлением стало развитие методологических подходов к количественной оценке неканцерогенного риска для обеспечения продовольственной безопасности. Эти разработки основывались на передовом опыте Российской Федерации, представленном в коллективной монографии «Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития» [Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: Монография; Опыт российско-вьетнамского сотрудничества в области развития обеспечения химической безопасности пищевой продукции: монография], которая является фундаментальным трудом в области оценки риска для здоровья населения и является базисом для программ обучения специалистов NIFC в части оценки и управления рисками здоровью. Это направление включало в себя создание параметров и критериев для количественной оценки неканцерогенного риска, а также разработку научно обоснованных методов анализа, которые позволяют точно определять уровень опасности, связанной с присутствием неканцерогенных веществ в пищевой продукции.

Таким образом, включение ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН в Федеральный проект «Санитарный щит» стало важным шагом на пути к укреплению российско-вьетнамского партнерства в области продовольственной безопасности. Этот новый этап сотрудничества открыл широкие перспективы для дальнейшего развития научных исследований, обмена опытом и практической реализации полу-

ченных результатов, направленных на обеспечение здоровья и благополучия населения обеих стран. NIFC стал неотъемлемой частью этого процесса, внося значительный вклад в общее дело.

В рамках реализации Федерального проекта «Санитарный щит» и нового этапа российско-вьетнамского партнерства для специалистов Национального института контроля пищевых продуктов специалистами ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН были проведены обучающие семинары, представленные как опытными, так и молодыми учеными (Рис. 1.4).



Рис. 1.4. Проведение сотрудниками ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН обучающих семинаров по теме «Оценка риска для здоровья населения, формируемого поступлением химических веществ с пищевыми продуктами, с использованием методологии ЕЭК» на базе NIFC, 2023 г.

Так, в 2023 году сотрудниками ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН были проведены обучающие семинары по оценке риска для здоровья населения, формируемого поступлением химических веществ с пищевыми продуктами, с использованием методологии Евразийской экономической комиссии (ЕЭК). В рамках семинаров были рассмотрены ключевые аспекты методологии оценки риска здоровью, а также применение биомаркеров экспозиции и ответа для обеспечения безопасности пищевых продуктов по критериям риска. Участники семинаров получили практические навыки применения современных методов анализа и интерпретации данных,

что способствовало повышению их профессиональной компетентности.

Проведенные мероприятия подчеркивают важность международного сотрудничества и обмена опытом в области оценки рисков здоровью, а также демонстрируют успешную интеграцию теоретических знаний и практических навыков в образовательные программы для специалистов NIFC.

Кроме того, по результатам семинаров был намечен четкий план дальнейших действий, учитывающий как научно-методические аспекты, так и практическую значимость совместной работы для защиты здоровья населения обеих стран. NIFC активно участвовал в планировании работ и определении приоритетов сотрудничества, что нашло отражение в подписанной обеими сторонами Дорожной карте совместной научно-исследовательской работы (Рис. 1.5).

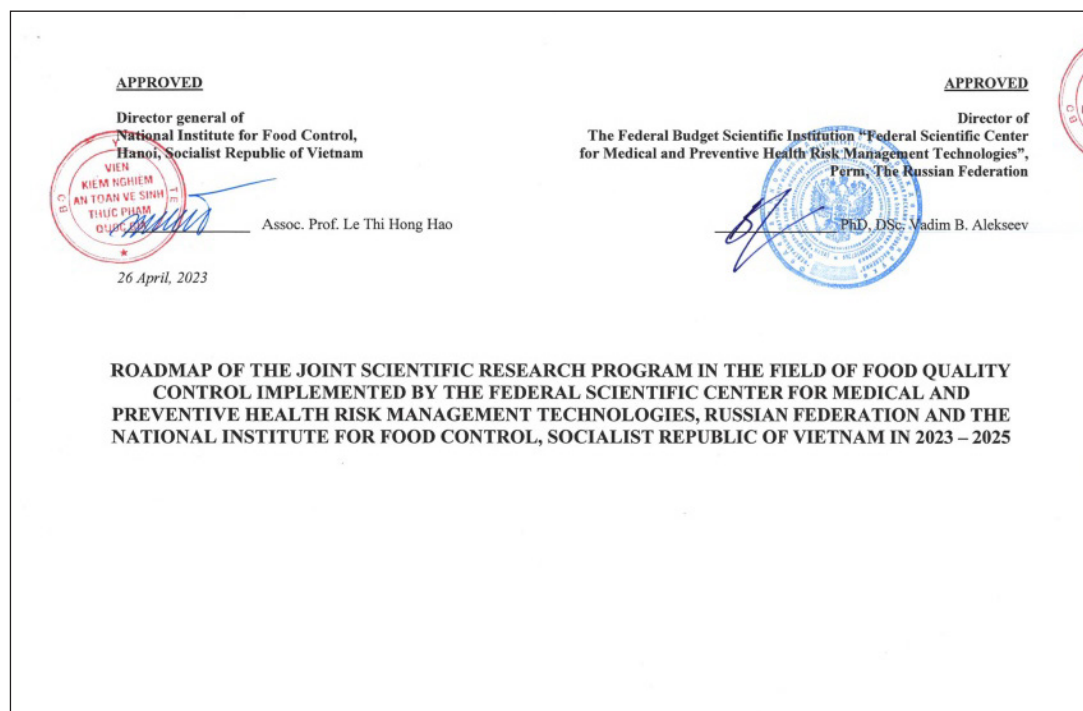


Рис. 1.5. Согласованный план совместных научных исследований (Дорожная карта) ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН и NIFC.

Результатом обсуждения планов работ стало определение ключевых направлений совместных исследований, направленных на обеспечение продовольственной безопасности. Так, в ходе обсуждения специалисты ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН и NIFC определили приоритетным направлением совместных исследований в 2023 г. оценку риска для здоровья, связанного с N-нитрозаминами в мясе и мясных продуктах, потребляемых во Вьетнаме. Этот выбор обусловлен тем, что именно мясные продукты, особенно после термической обработки, могут представлять наибольшую опасность из-за возможного содержания N-нитрозаминов – потенциальных канцерогенов. Кроме того, актуальность данной проблемы на мировом уровне [EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2023; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023] стимулирует развитие этой темы в сотрудничестве с вьетнамскими партнерами. Следующим этапом (2024 г.) совместной работы стало определение параметров для количественной оценки неканцерогенного риска нитрозаминов, поскольку ряд исследований свидетельствует о том, что неканцерогенный риск (особенно формируемый в отношении печени) может наступить раньше, чем канцерогенный [Devesci, Tek, 2024; Суворов, Зайцева, Шур и др., 2023].

Для реализации поставленных целей в 2023 году была реализована комплексная программа обучения и повышения квалификации специалистов. Основной фокус программы был направлен на совершенствование навыков оценки рисков для здоровья населения, связанных с воздействием химических факторов, а также на внедрение современных методов применения биомаркеров экспозиции и эффекта в практику мониторинга и контроля безопасности пищевой продукции. Обучение проводилось как на базе NIFC, так и на базе ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН, что обеспечило комплексный подход и адаптацию полученных знаний к задачам института.

Теоретическая подготовка включала серию семинаров, посвященных методологии оценки рисков. Участники углубленно изучали вопросы идентификации опасности, анализа зависимости «до-

за-эффект», оценки экспозиции и характеристики рисков. Особое внимание уделялось построению сценариев экспозиции, анализу неопределенностей и интерпретации результатов. Отдельный блок семинаров был посвящен биомаркерам: их классификации, валидации, методам определения, а также применению для оценки экспозиции населения и раннего выявления негативных эффектов. В теоретических занятиях участвовали 8 специалистов NIFC, что позволило охватить ключевые направления деятельности института.

Практическая подготовка была сосредоточена на освоении методов работы с биологическим материалом. На базе ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН специалисты NIFC отрабатывали навыки забора крови у лабораторных животных с соблюдением этических норм и требований безопасности. В рамках обучения 4 сотрудника института освоили методики отбора, консервации и транспортировки образцов, а также научились выбирать подходящий биоматериал в зависимости от целей исследования (Рис. 1.6).

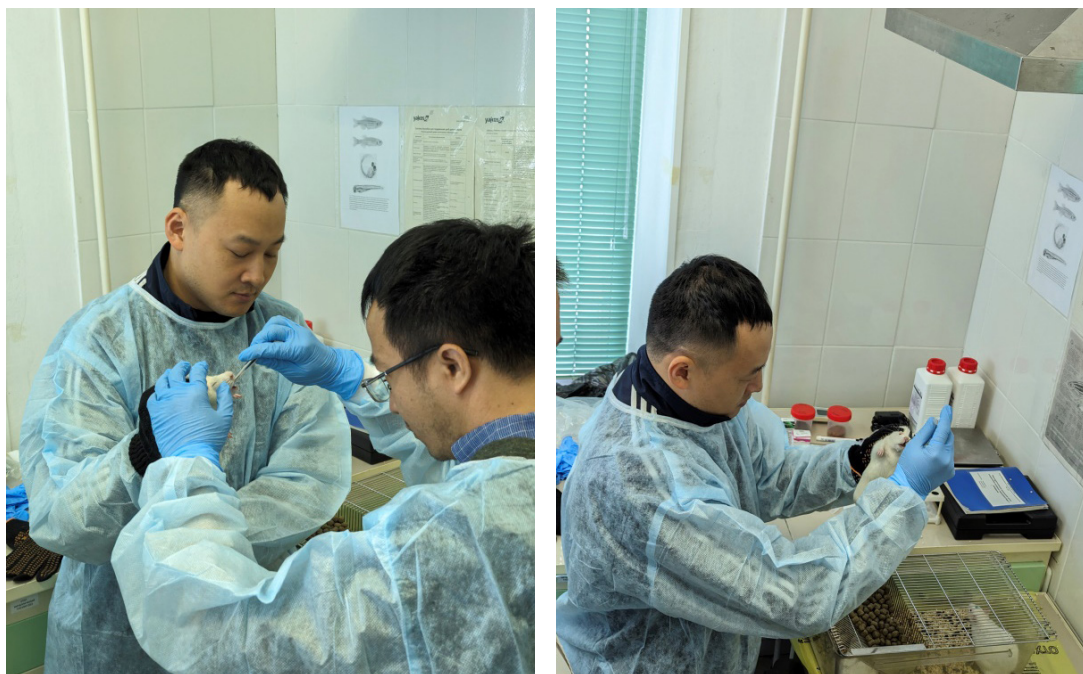


Рис. 1.6. Освоение навыков специалистами NIFC забора биологического материала у лабораторных животных на базе ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН, 2023 г.

Реализация программы позволила значительно усилить компетенции сотрудников NIFC в области оценки рисков здоровью и внедрения инновационных подходов, таких как использование биомаркеров. Приобретенные навыки способствуют повышению точности контроля качества пищевой продукции, обоснованности решений по минимизации рисков и укреплению системы безопасности пищевых продуктов в России. Дальнейшее развитие этого направления будет способствовать совершенствованию научно-методической базы института и усилению его роли в защите здоровья населения.

Кроме того, для реализации намеченных планов сотрудниками ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН была проведена стажировка специалистов NIFC на рабочем месте по теме «Техника забора крови у лабораторных животных» (Рис. 1.7). Данное мероприятие позволило участникам освоить современные методы и технологии взятия биологических образцов, что является важным этапом в проведении экспериментальных исследований. В ходе стажировки особое внимание уделялось соблюдению этических норм и правил работы с лабораторными животными, а также минимизации стресса для



Рис. 1.7. Стажировка специалистов NIFC на рабочем месте по теме «Техника забора крови у лабораторных животных», 2024 г.

животных при проведении процедур. В ходе стажировки на рабочем месте было обучено 5 специалистов NIFC.

Полученные навыки имеют ключевое значение для дальнейших исследований в области оценки токсикологических эффектов химических веществ, включая N-нитрозамины, и их влияния на организм. Участники стажировки также ознакомились с методами обработки и хранения биологических образцов, что обеспечивает высокую точность и достоверность результатов анализов.

Проведение данного обучения способствовало укреплению профессиональных компетенций специалистов NIFC и обеспечило преемственность передового опыта в области лабораторных исследований. Это, в свою очередь, создает основу для реализации этапа намеченной работы на 2024 год.

ГЛАВА 2. ОЦЕНКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ, СВЯЗАННОГО С СОДЕРЖАНИЕМ N-НИТРОЗАМИНОВ В МЯСЕ И МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ, ПОТРЕБЛЯЕМЫХ НАСЕЛЕНИЕМ СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ

В соответствии с «Дорожной картой» совместной научной работы на 2023 год, разработанной в рамках реализации программы «Санитарный щит», был проведен комплекс исследований по оценке риска здоровью, связанного с содержанием N-нитрозамина в мясе и мясных продуктах, потребляемых населением Социалистической Республики Вьетнам.

Основным критерием безопасности продукции, как известно, является величина риска, связанного с причинением вреда жизни или здоровью. Оценка риска, в свою очередь, позволяет установить связь между концентрацией вещества-загрязнителя в пищевых продуктах, длительностью воздействия неблагоприятного фактора и вероятностью негативных последствий для здоровья человека. К этим последствиям относятся, в том числе, развитие канцерогенных и неканцерогенных эффектов, а также смертельные исходы заболеваний. Критерием безопасности в данном контексте является достижение так называемого уровня «приемлемого (допустимого) риска». Под этим понимается такой уровень риска, который не требует принятия дополнительных мер по его снижению и оценивается как незначительный и приемлемый по отношению к рискам, существующим в повседневной жизни населения.

Оценка риска здоровью населения проводилась в соответствии с положениями «Руководства по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания Р.2.1.10.3968-23» (далее – Руководство) [Руководство Р.2.1.10.3968-23], а также с методологией оценки риска, принятой на территории стран Евразийского экономического союза [Разработка методических указаний по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, би-

ологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска здоровью человека].

В соответствии с методологией оценки риска и положениями Руководства, выполнение работ по оценке риска для здоровья населения включало в себя четыре основных этапа:

- идентификация опасности, включающая в себя выявление потенциально вредных факторов, оценку связи между изучаемым фактором и нарушениями состояния здоровья, а также анализ достаточности и надежности имеющихся данных об уровнях загрязнения пищевых продуктов исследуемыми веществами;
- оценка зависимости «экспозиция—ответ»: выявление количественных связей между показателями состояния здоровья и уровнями экспозиции;
- оценка экспозиции химических веществ на человека, включая определение воздействующих доз;
- характеристика риска, включающая расчет рисков и сравнительную их оценку.

Поскольку предметом оценки риска являлось влияние содержания N-нитрозаминов в мясе и мясной продукции на здоровье населения Социалистической Республики Вьетнам, основными задачами данной работы являлись:

1. проведение идентификации опасности N-нитрозаминов; отбор приоритетных по степени опасности для здоровья химических факторов с целью последующей количественной оценки риска;
2. обобщение данных о параметрах и критериях для оценки зависимости «доза—ответ»;
3. проведение оценки экспозиции N-нитрозаминами, поступающими с потребляемыми мясом и мясными продуктами, реализуемыми в Социалистической Республике Вьетнам;
4. характеристика риска для здоровья населения при потреблении мяса и мясных продуктов, реализуемых в Социалистической Республике Вьетнам, на основе коэффициентов опасности и уровня канцерогенного риска, а также выделение приоритетных N-нитрозаминов, для которых целесообразна разработка параметров для количественной оценки неканцерогенного риска.

Оценка риска основывалась на совместных усилиях, включая использование данных, полученных в ходе исследований NIFC, по количественному содержанию N-нитрозаминов и объемам потребления мяса и мясных продуктов детским и взрослым населением.

**Идентификация опасности N-нитрозаминов
для последующей количественной оценки риска**

В рамках этапа идентификации опасности было проведено исследование содержания N-нитрозаминов в пробах мяса и мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам [Le Thi Hong Hao et al., 2022]. Для количественного определения 9 N-нитрозаминов (НДМА, НМЭА, НДЭА, НДБА, НДПА, НПиПНА, НПиРНА, НМорфНА, НДФА) применялся метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии/масс-спектрометрии. Всего был проанализирован 131 образец, представляющий 98 различных наименований мясной продукции.

В ходе проведенных исследований было установлено, что содержание N-нитрозаминов в мясе и мясных продуктах, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам, варьировалось от 0,0002 мг/кг до 0,012 мг/кг. Средние концентрации N-нитрозаминов в различных группах продуктов представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1

**Среднее значение концентраций N-нитрозаминов в мясе
и мясных продуктах, реализуемых на территории СРВ (мг/кг)**

№	Наименование вещества	Мясо и мясные продукты, приготовленные на гриле	Жареное мясо и мясные продукты	Запеченное мясо и мясные продукты	Копченое мясо и мясные продукты
1	2	3	4	5	6
1	НДМА	0,0048	0,0027	0,0038	0,0042
2	НМЭА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
3	НДЭА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*

1	2	3	4	5	6
4	НДПА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
5	НДБА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
6	НПипНА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
7	НПирНА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
8	НМорфНА	<НПО*	<НПО*	<НПО*	<НПО*
9	НДФА	0,0005	<НПО*	<НПО*	<НПО*

НПО – нижний предел определения (0,0002 мг/кг продукта)

Как видно из представленных данных, наиболее часто обнаруживаемым N-нитрозамином был НДМА, который присутствовал во всех исследуемых группах продуктов, при этом наибольшие средние концентрации НДМА были выявлены в мясе и мясных продуктах, приготовленных на гриле (0,0048 мг/кг), а наименьшие – в жареных (0,0027 мг/кг). НДФА был обнаружен только в мясе и мясных продуктах, приготовленных на гриле, в среднем значении 0,0005 мг/кг. Остальные N-нитрозамины (НМЭА, НДЭА, НДПА, НДБА, НПипНА, НПирНА и НМорфНА) во всех исследованных пробах не превысили нижнего предела определения, который составил 0,0002 мг/кг. Данный факт может быть обусловлен их низким содержанием или отсутствием в исследованных пробах.

Результаты анализа содержания N-нитрозаминов в отобранных пробах мяса и мясных продуктов продемонстрировали, что концентрации большинства исследованных соединений, за исключением НДМА и НДФА, были меньше НПО более чем в 95% образцов. На основании методологических принципов оценки риска содержание НМЭА, НДЭА, НДБА, НДПА, НПипНА, НПирНА и НМорфНА в этих пробах условно принято за нулевое, что исключает необходимость их дальнейшей количественной оценки риска.

Вместе с тем концентрации НДФА в отобранных образцах не превышали предела определения менее чем в 95% проб. В связи с этим при количественной оценке риска для проб с содержанием НДФА ниже НПО значение его концентрации было принято равным половине нижнего предела определения, что составляет 0,0001 мг/кг.

Данный подход соответствует принятым в настоящем исследовании методологическим принципам оценки риска, применяемым в случаях содержания веществ ниже предела их обнаружения.

Для оценки неканцерогенных эффектов на этапе идентификации опасности был проведен анализ доступных данных о референтных дозах (RfD) исследуемых химических веществ. Одновременно с этим для каждого вещества определяли критические органы, системы и эффекты, которые соответствуют установленным референтным дозам. RfD представляет собой оценочное значение суточного воздействия химического вещества на протяжении всей жизни, которое, исходя из современных научных данных, вероятно, не приводит к неприемлемым рискам для здоровья, включая чувствительные группы населения.

Для оценки канцерогенного потенциала выявленных N-нитрозаминов была проведена идентификация их опасности в соответствии с классификациями Международного агентства по изучению рака (IARC) и Агентства по охране окружающей среды США (US EPA). Результаты классификации и значения факторов канцерогенного потенциала (SFo) представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2

Классификация канцерогенного потенциала и факторы канцерогенного потенциала N-нитрозаминов

№	Наименование вещества	Классификация IARC	Классификация US EPA	SFo, мг/ (кг*день)-1
1	НДМА	2A	B2	51,0
2	НДЭА	2A	B2	150,0
3	НМЭА	2B	B2	22,0
4	НДПА	2B	B2	7,0
5	НДБА	2B	B2	5,4
6	НПипНА	2B	B2	9,4
7	НПирНА	2B	B2	2,1
8	НМорфНА	2B	-	6,7
9	НДФА	3	B2	0,0049

Анализ данных, представленных в таблице 2.2, показывает, что из 9 N-нитрозаминов, выявленных в мясе и мясных продуктах, по классификации IARC 2 соединения (НДМА и НДЭА) отнесены к классу 2А, то есть являются вероятными канцерогенами для человека. 6 N-нитрозаминов (НМЭА, НДПА, НДБА, НПипНА, НПирНА и НМорфНА) отнесены к классу 2В как возможные канцерогены для человека. НДФА отнесен к классу 3, что означает, что он не классифицируется как канцероген для человека. Согласно классификации US EPA, 8 N-нитрозаминов относятся к классу В2, что соответствует вероятным канцерогенам для человека, и только для N-морфолиннитрозамина отсутствуют данные о канцерогенности. Важно отметить, что для всех выявленных N-нитрозаминов существуют факторы канцерогенного потенциала, необходимые для количественной оценки риска.

Таким образом, на этапе идентификации потенциальных опасностей, связанных с содержанием N-нитрозаминов в мясе и мясных продуктах, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам, было установлено, что для целей количественной оценки риска здоровью населения наиболее приоритетными являются НДМА и НДФА. Эти соединения были отобраны ввиду их наличия более чем в 5% проб, наличия референтных доз для оценки канцерогенных и неканцерогенных рисков и данных о факторах канцерогенного потенциала.

Завершающим этапом идентификации опасности является рассмотрение токсиколого-гигиенических характеристик N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодифениламина, отобранных для дальнейшей оценки риска.

Результаты исследований на крысах линии F344, получавших НДМА с питьевой водой, выявили выраженную корреляцию между дозой и развитием патологических изменений печени [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine]. Наблюдалось значительное увеличение случаев новообразований печени всех типов, включая гепатоцеллюлярные карциномы и гемангиосаркомы,

а также гиперпластические узелки, цитомегалию, кисты, снижение количества гепатоцитов у самцов и аномалии гликогенсодержащих клеток у самок. Минимальная доза, при которой были отмечены указанные эффекты, составила 0,022 мг/кг массы тела в день. Канцерогенный эффект зафиксирован при средней суточной дозе 0,05 мг/кг (LOAEL, 96 недель). Значение LD50 для НДМА составляет 40 мг/кг массы тела. Референтная доза при пероральном поступлении составляет 0,000008 мг/кг; критические органы и системы – процессы развития. Значения NOAEL для неканцерогенных эффектов составили 0,5 мг/кг при длительности воздействия 54 недели и 2,5 мг/кг при длительности 110 дней.

Исследования на мышах B6C3F1 [Patterson, Boateng, Walker, Verghese, 2012] и крысах F344 [Lijinsky, Reuber, 1984] показали, что НДФА при пероральном поступлении может вызывать гиперплазию мочевого пузыря у мышей и увеличение внезапных смертей у самок крыс, а также переходно-клеточный рак мочевого пузыря у обоих полов. Наблюдалась прямая зависимость частоты этих эффектов от дозы. Существенных различий в частоте новообразований в общей популяции у мышей при пероральном поступлении НДФА не наблюдалось. Однако 8-недельное исследование выявило пигментацию купферовских клеток в печени самцов мышей, получавших дозу 5980 мг/кг/день [Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine]. Орган-мишень для НДФА – мочевой пузырь; экспозиция с уровнем 183 мг/кг/2 недели и 123 мг/кг/13 недель вызывала инфильтрат смешанных клеток и гиперплазию переходного эпителия. Канцерогенный эффект (LOAEL) наблюдался при 0,0005 мг/кг/день (100 недель). RfD при пероральном поступлении – 0,02 мг/кг; критические органы/системы – глаза, системные эффекты (изменение массы тела). Нет данных о неканцерогенном эффекте (NOAEL). LD50 – 3000 мг/кг.

Проведенный анализ токсиколого-гигиенических характеристик НДМА и НДФА выявил, что оба соединения обладают выраженным токсическим потенциалом, проявляющимся в канцероген-

ных и неканцерогенных эффектах. НДМА в основном оказывает негативное воздействие на печень, тогда как НДФА является органотоксикантом для мочевого пузыря. Представленные данные подтверждают необходимость дальнейшей количественной оценки риска для здоровья населения, подвергающегося воздействию этих соединений.

После завершения этапа оценки экспозиции, в рамках которого были определены уровни воздействия приоритетных N-нитрозаминов, необходим переход к этапу выбора зависимости «экспозиция – ответ». Данный этап включает установление количественной взаимосвязи между дозой вещества, попадающего в организм, и вероятностью развития неблагоприятных эффектов для здоровья.

Определение ключевых параметров зависимости «экспозиция–ответ»

Важнейшим параметром, определяющим воздействие химического вещества на организм, является доза, рассчитываемая с учетом времени потребления продуктов, предназначенных для детского питания, и особенностей детского организма. Доза, в данном контексте, представляет собой количественную характеристику загрязнителя, потенциально способного вызывать определенный эффект в отношении органа-мишени.

Оценка зависимости «экспозиция–ответ» (доза–ответ) представляет собой процесс количественного анализа токсикологической информации, направленный на установление взаимосвязи между уровнем воздействия (дозой или концентрацией) химического вещества и вероятностью возникновения неблагоприятных эффектов в экспонируемой популяции. Анализ зависимости «экспозиция-ответ» включает в себя: определение причинно-следственной связи между воздействием вещества и развитием неблагоприятного эффекта, идентификацию минимальной дозы, способной вызвать наблюдаемый эффект (порог), и определение интенсивности нарастания эффекта при увеличении уровня воздействия.

При оценке риска развития неблагоприятных эффектов, обусловленных хроническим воздействием химических веществ, рассматриваются два основных типа эффектов: канцерогенные и неканцерогенные.

Оценка канцерогенных эффектов

Для оценки риска воздействия канцерогенных агентов, обладающих беспороговым механизмом действия, используется параметр – фактор канцерогенного потенциала, также известный как фактор наклона (SF). Данный параметр характеризует степень возрастания канцерогенного риска при увеличении дозы воздействия на одну единицу (мг/(кг*день)). Фактор наклона представляет собой консервативную оценку канцерогенного риска на протяжении ожидаемой продолжительности жизни человека (70 лет).

Факторы канцерогенного потенциала (SF₀), применяемые при оценке воздействия канцерогенных веществ, представлены в таблице 2.2.

Оценка неканцерогенных эффектов

Параметры опасности развития неканцерогенных эффектов для N-нитрозаминов, обнаруженных в мясе и мясных продуктах и включенных в дальнейшую оценку риска, представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3

Сведения о параметрах опасности развития неканцерогенных эффектов

№	Вещество	RfD, мг/кг	Критические органы и системы
1	N-диметилнитрозамин	0,000008	Процессы развития
2	N-дифенилнитрозамин	0,02	Глаза (помутнение роговой оболочки), системное действие (масса тела)

Таким образом, для всех включенных в дальнейшую оценку риска N-нитрозаминов определены параметры, необходимые для установления зависимостей «экспозиция-ответ». Данные параметры, отражающие связь между уровнем воздействия и вызываемыми эффектами, являются основой для количественной оценки риска, связанного с потенциальным воздействием этих веществ на организм.

Оценка потребления мяса и мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам

Экспозиция (воздействие) определяется как контакт организма (рецептора) с химическим, физическим или биологическим агентом. Количественная оценка экспозиции представляет собой измеренное или рассчитанное количество агента в пищевом продукте, контактирующего с пограничными органами человека (преимущественно пищеварительным трактом) в течение определенного промежутка времени. Экспозиция может быть выражена в различных единицах измерения: общее количество вещества в продукте (мг), суточная доза (мг/день) или доза, отнесенная к массе тела (мг/(кг*день)). В настоящем исследовании основным путем экспозиции рассматривается пероральное поступление N-нитрозаминов с мясом и мясными продуктами, что является наиболее значимым путем поступления данных контаминантов для населения. Для оценки экспозиции N-нитрозаминами, содержащимися в мясных продуктах, был проведен комплексный анализ, включающий следующие этапы: во-первых, оценка фактического потребления мяса и мясных продуктов населением Социалистической Республики Вьетнам проводилась на основании результатов анкетирования, ранее проведенного вьетнамскими коллегами. Данный подход позволил получить репрезентативные данные о структуре питания и потреблении целевых продуктов в различных возрастных группах, которые были разделены на детей до 6 лет, детей от 7 до 17 лет, взрослых от 18 до 50 лет и взрослых старше 50 лет. Это взаимо-

действие российских и вьетнамских специалистов стало важным этапом в обеспечении надежности и валидности данных. Во-вторых, на основании данных о содержании приоритетных N-нитрозаминов в различных группах мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам, полученных путем проведения скринингового исследования мясных пищевых продуктов на содержание N-нитрозаминов, была рассчитана средняя суточная доза для каждой возрастной группы. Для целей оценки канцерогенного и неканцерогенного риска расчет проводился отдельно, с учетом различий в подходах к оценке риска для данных типов эффектов, в соответствии с Руководством Р.2.1.10.3968-23. Данный подход обеспечил использование унифицированных методов расчета, применяемых в российской практике оценки риска.

Как было отмечено ранее, в рамках данного исследования основное внимание уделяется пероральному пути поступления N-нитрозаминов через потребление мяса и мясных продуктов. Для корректной оценки экспозиции необходимо учитывать фактическое потребление этих продуктов различными группами населения. На основании результатов ранее проведенных совместных социологических исследований [Lebedeva-Nesevrya N.A., Le Thi Hong Nao, Barg A.O. et al., 2019] было установлено, что как детское, так и взрослое население Социалистической Республики Вьетнам (включая детей до 3 лет) потребляют мясо и мясные продукты, в том числе приготовленные на гриле. Это наблюдение подчеркивает значимость включения детского населения в оценку экспозиции и дальнейшую оценку риска, поскольку дети являются особенно уязвимой группой в отношении воздействия химических веществ. Так, в продолжение исследований сотрудниками NIFC было проведено анкетирование населения, направленное на характеристику фактического потребления различных групп продуктов питания населением СРВ. Полученные данные о среднесуточном потреблении мяса и мясных продуктов различными возрастными группами представлены в таблице 2.4.

**Объем фактического суточного потребления мяса и мясных
продуктов различными возрастными группами населения
Социалистической Республики Вьетнам, кг**

№	Группа продуктов	Возрастная группа	Объем суточного потребления, кг
1	Мясо, приготовленное на гриле	Дети до 6 лет	0,037
2		Дети 7-17 лет	0,059
3		Взрослые 18-50 лет	0,14
4		Взрослые старше 50 лет	0,043
5	Жареное и запеченное мясо	Дети до 6 лет	0,032
6		Дети 7-17 лет	0,048
7		Взрослые 18-50 лет	0,08
8		Взрослые старше 50 лет	0,023
9	Копченое мясо	Дети до 6 лет	0,012
10		Дети 7-17 лет	0,023
11		Взрослые 18-50 лет	0,051
12		Взрослые старше 50 лет	0,014

Согласно представленным данным, наибольший объем потребления среди исследуемых групп населения СРВ характерен для мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле. Это наблюдение подчеркивает необходимость особого внимания к данной группе продуктов при оценке риска, связанного с N-нитрозаминами. Ввиду того, что потребление жареного и запеченного мяса и мясных продуктов было объединено специалистами NIFC в одну группу, дальнейшая оценка риска проводилась с учетом одинакового суточного объема потребления для этих видов продуктов. Таким образом, оценка потребления мяса и мясных продуктов, проведенная при сотрудничестве с вьетнамскими коллегами, позволила по-

лучить репрезентативные данные, необходимые для последующей оценки экспозиции N-нитрозаминами. Эти данные будут использованы для расчета суточных доз и дальнейшей оценки риска для различных групп населения СРВ.

Расчет среднесуточных доз

Для оценки экспозиции N-нитрозаминами были рассчитаны среднесуточные дозы (ADD) для различных возрастных групп населения Социалистической Республики Вьетнам. Расчет доз проводился в соответствии с Руководством Р.2.1.10.3968-23 для оценки канцерогенного и неканцерогенного эффектов. Для N-нитрозаминов, для которых установлены референтные дозы (RfD), ADD для оценки неканцерогенного действия рассчитывалась по следующей формуле 2.1.:

$$ADD = (C_{\text{спр}} * V_{\text{потр}}) / mт, \quad (2.1)$$

где ADD – среднесуточная доза, мг/кг массы тела в день;

C_{спр} – концентрация вещества в продукте, мг/кг;

V_{потр} – объем потребления данного продукта, кг/день;

mт – масса тела, кг.

Расчетные среднесуточные дозы N-нитрозаминов, поступающих с различными видами мяса и мясных продуктов, представлены в таблицах 2.5 – 2.8.

Таблица 2.5

Среднесуточные дозы N-нитрозаминов, поступающие с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, мг/кг массы тела в день

№	Наименование вещества	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	$8,27 \cdot 10^{-6}$	$7,03 \cdot 10^{-6}$	$1,39 \cdot 10^{-5}$	$4,00 \cdot 10^{-6}$
2	НДФА	$7,29 \cdot 10^{-7}$	$6,20 \cdot 10^{-7}$	$1,23 \cdot 10^{-6}$	$3,52 \cdot 10^{-7}$

Таблица 2.6

**Среднесуточные дозы N-нитрозаминов, поступающие
с жареными мясом и мясными продуктами,
мг/кг массы тела в день**

№	Наименование вещества	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	$3,15 \cdot 10^{-6}$	$2,52 \cdot 10^{-6}$	$3,51 \cdot 10^{-6}$	$9,43 \cdot 10^{-7}$

Таблица 2.7

**Среднесуточные дозы N-нитрозаминов, поступающие
с запеченными мясом и мясными продуктами,
мг/кг массы тела в день**

№	Наименование вещества	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	$5,81 \cdot 10^{-6}$	$4,94 \cdot 10^{-6}$	$9,79 \cdot 10^{-6}$	$2,81 \cdot 10^{-6}$

Таблица 2.8

**Среднесуточные дозы N-нитрозаминов, поступающие
с копчеными мясом и мясными продуктами,
мг/кг массы тела в день**

№	Наименование вещества	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	$2,11 \cdot 10^{-6}$	$2,15 \cdot 10^{-6}$	$3,99 \cdot 10^{-6}$	$1,02 \cdot 10^{-6}$

Таким образом, среднесуточные дозы НДМА, поступающие населению Социалистической Республики Вьетнам с мясом и мясными продуктами, составили:

- для детей до 6 лет: $8,27 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле; $3,15 \cdot 10^{-6}$ мг/кг

массы тела в день с жареными мясом и мясными продуктами; $5,81 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с запеченными мясом и мясными продуктами; $2,11 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с копчеными мясом и мясными продуктами;

- для детей 7-17 лет: $7,03 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле; $2,52 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с жареными мясом и мясными продуктами; $4,94 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с запеченными мясом и мясными продуктами; $2,15 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с копчеными мясом и мясными продуктами;

- для взрослых 18-50 лет: $1,39 \cdot 10^{-5}$ мг/кг массы тела в день с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле; $3,51 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с жареными мясом и мясными продуктами; $9,79 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с запеченными мясом и мясными продуктами; $3,99 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с копчеными мясом и мясными продуктами;

- для взрослых старше 50 лет: $4,00 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле; $9,43 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день с жареными мясом и мясными продуктами; $2,81 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с запеченными мясом и мясными продуктами; $1,02 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день с копчеными мясом и мясными продуктами.

Вместе с тем среднесуточная доза при экспозиции НДФА с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, составила: для детей до 6 лет – $7,29 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для детей 7-17 лет – $6,20 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $1,23 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $3,52 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день.

Для оценки канцерогенных рисков, связанных с воздействием N-нитрозаминов, были рассчитаны средние суточные дозы, усредненные с учетом ожидаемой средней продолжительности жизни человека (70 лет). Такие дозы обозначаются как LADD. Уравнение для расчета LADD (формула 2.2) имеет следующий вид:

$$LADD_{\text{канц}} = (C * CR * ED * EF) / (BW * AT * 365), \quad (2.2)$$

где:

$LADD_{\text{канц}}$ – средняя суточная доза для канцерогенных эффектов, мг/(кг × день);

C – концентрация вещества-канцерогена в продукте, мг/кг;

CR – объем суточного потребления пищевых продуктов, кг/день;

ED – продолжительность воздействия, лет;

EF – частота воздействия, дней/год;

BW – масса тела, кг;

AT – период осреднения экспозиции (для канцерогенных эффектов – 70 лет);

365 – число дней в году.

Для расчета $LADD$ использовались стандартные величины: ED – 6 лет для детей, 30 лет для взрослых; EF – 350 дней; AT – 70 лет.

Принимая во внимание вышеуказанные параметры, а также данные о потреблении исследуемых продуктов и полученные значения суточных доз, была рассчитана доза N-нитрозодиметиламина, характеризующая канцерогенный эффект при воздействии через потребление мяса и мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам.

Так, значения доз НДМА, характеризующие канцерогенный эффект, для различных возрастных групп населения Социалистической Республики Вьетнам. Полученные значения представлены ниже.

- Для детей до 6 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила: $6,80 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (гриль); $2,59 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (жарка); $4,78 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (запекание); $1,73 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (копчение);

- Для детей 7-17 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила: $5,78 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (гриль); $2,07 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (жарка); $4,06 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (запекание); $1,77 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (копчение);

- Для взрослых 18-50 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила: $5,73 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (гриль); $1,44 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (жарка); $4,02 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (запекание); $1,64 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (копчение);

- Для взрослых старше 50 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила: $1,64 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (гриль); $3,88 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (жарка); $1,15 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день (запекание); $4,20 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день (копчение).

Полученные расчетные значения дозы НДФА, характеризующие канцерогенный эффект, поступающие с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, представлены ниже.

- Для детей до 6 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила – $5,99 \cdot 10^{-8}$ мг/кг массы тела в день;

- Для детей 7-17 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила – $5,09 \cdot 10^{-8}$ мг/кг массы тела в день;

- Для взрослых 18-50 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила – $5,05 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день;

- Для взрослых старше 50 лет $LADD_{\text{канц}}$ составила – $1,45 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день.

В результате проведенной оценки экспозиции, включающей расчет ADD для неканцерогенных эффектов и LADD для канцерогенных эффектов, были получены количественные характеристики воздействия N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодифениламина на различные возрастные группы населения Социалистической Республики Вьетнам.

В результате проведенной оценки экспозиции были получены количественные характеристики воздействия N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодифениламина на различные возрастные группы населения Социалистической Республики Вьетнам.

Представленные значения ADD и LADD, характеризующие экспозицию N-нитрозодиметиламином и N-нитрозодифениламином, будут использованы для проведения количественной оценки риска, которая представлена на этапе «характеристика риска».

Характеристика риска

Характеристика риска включала оценку канцерогенного и неканцерогенного рисков на основе дозовых нагрузок, определенных на этапе оценки экспозиции. Оценка неканцерогенного риска проводилась с использованием коэффициентов опасности. Методология ЕАЭС по оценке риска предусматривает использование эволюционных моделей [Разработка методических указаний по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска здоровью человека], однако ввиду отсутствия необходимых параметров для количественной оценки неканцерогенного риска построение таких моделей в настоящем исследовании нецелесообразно. Проведенная полуколичественная оценка неканцерогенного риска позволит определить приоритетные N-нитрозамины для дальнейшего установления параметров для количественной оценки неканцерогенного риска.

Величину канцерогенного риска (CR) рассчитывали путем умножения пожизненной среднесуточной дозы на фактор канцерогенного потенциала при пероральном поступлении и на коэффициент тяжести злокачественного новообразования (g) в соответствии с формулой (2.3):

$$CR = LADD_{\text{канц}} * SF_o * g, \quad (2.3)$$

где:

$LADD_{\text{канц}}$ – пожизненная среднесуточная доза для канцерогенных эффектов;

SF_o – фактор канцерогенного потенциала при пероральном поступлении;

g – коэффициент тяжести злокачественного новообразования (рака).

Значение коэффициента тяжести злокачественного новообразования (g) было принято равным 0,495, что соответствует коэффициенту тяжести для злокачественных новообразований органов пищеварения.

Следовательно, полученное значение CR характеризует верхнюю границу канцерогенного риска за среднюю продолжительность жизни.

В свою очередь, характеристика риска развития неканцерогенных эффектов осуществляется путем сравнения фактических уровней экспозиции с безопасными уровнями воздействия (коэффициент /индекс опасности).

Для оценки риска неканцерогенных эффектов в данном исследовании применялся показатель коэффициента опасности HQ (формула 2.4), который определяется как отношение определенной экспозиции ($LADD_{\text{неканц}}$) к референтному уровню (RfD):

$$HQ = (LADD_{\text{неканц}}) / RfD \quad (2.4)$$

Для условий однонаправленного воздействия характеристикой суммарного неканцерогенного риска является величина индекса опасности (HI) (формула 2.5):

$$HI = \sum [HQ_i], \text{ где} \quad (2.5)$$

HQ_i – коэффициенты опасности для химических веществ.

В соответствии с международными рекомендациями, для неканцерогенных химических веществ под однонаправленным воздействием химических веществ понимается влияние веществ на одни и те же органы или системы.

В процессе характеристики рисков используется величина приемлемого (допустимого) риска – вероятность наступления события с незначительными последствиями для здоровья ($HQ \leq 1,0$; $HI \leq 1,0$).

Оценка риска осуществлялась для отдельных групп мясных продуктов, классифицированных по способу приготовления (гриль, жарка, запекание, копчение), с учетом их суточного потребления, а также с учетом средних расчетных доз N-нитрозаминов, поступающих с каждой группой пищевых продуктов.

Так результаты расчетов канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного поступлением НДМА и НДФА с мясом и

мясными продуктами, приготовленными на гриле, представлены в таблицах 2.9-2.10.

Таблица 2.9

**Уровень канцерогенного риска, обусловленного экспозицией
НДМА и НДФА при потреблении населением СРВ мяса
и мясных продуктов, приготовленных на гриле**

№	Вещество	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	$1,72 \cdot 10^{-5}$	$1,46 \cdot 10^{-5}$	$1,45 \cdot 10^{-4}$	$4,15 \cdot 10^{-5}$
2	НДФА	$1,45 \cdot 10^{-10}$	$1,24 \cdot 10^{-10}$	$1,22 \cdot 10^{-9}$	$3,51 \cdot 10^{-10}$
3	Суммарный канцерогенный риск	$1,72 \cdot 10^{-5}$	$1,46 \cdot 10^{-5}$	$1,45 \cdot 10^{-4}$	$4,15 \cdot 10^{-5}$

Примечание: жирным шрифтом выделен уровень канцерогенного риска выше приемлемого (допустимого)

В таблице 2.9 представлены результаты оценки канцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА и НДФА при потреблении населением Социалистической Республики Вьетнам мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле. Анализ данных выявил, что суммарный канцерогенный риск, связанный с воздействием НДМА и НДФА, демонстрирует значительную вариативность в зависимости от возрастной группы.

При этом установлено, что для взрослых в возрасте 18-50 лет канцерогенный риск достигает неприемлемого (недопустимого) уровня ($1,45 \cdot 10^{-4}$). Данное значение превышает пороговый уровень риска, установленный в $1,0 \cdot 10^{-4}$. В остальных возрастных группах, включая детей до 6 лет, детей 7-17 лет и взрослых старше 50 лет, наблюдаемые уровни канцерогенного риска являются допустимыми. Анализ вклада отдельных веществ в суммарный канцероген-

ный риск показывает, что НДМА является основным фактором, определяющим уровень риска, в то время как вклад НДФА является пренебрежимо малым во всех возрастных группах. Это свидетельствует о необходимости фокусирования внимания на контроле содержания НДМА в мясе и мясных продуктах, приготовленных на гриле.

Таблица 2.10

Уровень неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА и НДФА при потреблении населением СРВ мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле

№	Вещество	Критические органы и системы	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	НДМА	Процессы развития	1,03	0,88	1,74	0,50
2	НДФА	Глаза (помутнение роговой оболочки), системное действие (масса тела)	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01

Примечание: жирным шрифтом выделена величина коэффициента опасности выше приемлемого (допустимого)

В таблице 2.10 представлены результаты оценки неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА и НДФА при потреблении населением Социалистической Республики Вьетнам мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле. Анализ данных показал, что коэффициенты опасности для НДМА превышают единицу для детей до 6 лет (1,03) и взрослых 18-50 лет (1,74), что свидетельствует о потенциальном риске для критических органов и систем, в частности, для процессов развития. Для детей 7-17 лет и взрослых старше 50 лет коэффициент

опасности, обусловленной НДМА, не превышает единицу (0,88 и 0,50 соответственно).

Проведенное исследование по оценке риска для здоровья населения Социалистической Республики Вьетнам, связанного с экспозицией N-нитрозодиметиламином и N-нитрозодифениламином при потреблении мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле, позволило получить следующие ключевые результаты:

Суммарный индивидуальный канцерогенный риск, обусловленный экспозицией НДМА и НДФА для взрослого населения СРВ в возрасте 18-50 лет при потреблении мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле, также соответствовал настораживающему уровню.

В ходе оценки неканцерогенного риска установлено формирование неприемлемого уровня риска среди детей до 6 лет ($HQ = 1,03$) и взрослых 18-50 лет ($HQ = 1,74$).

При оценке неканцерогенного риска, формируемого поступлением НДФА с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, установлено формирование приемлемого уровня риска для всех исследуемых контингентов ($HQ < 0,01$).

Ввиду того, что для НДМА и НДФА согласно Руководству установлены разные критические органы и системы, расчет индексов опасности не проводился.

После завершения анализа риска, обусловленного потреблением мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле, представляется целесообразным перейти к исследованию риска, ассоциированного с поступлением N-нитрозаминов с запеченным мясом и мясными продуктами. В связи с тем, что в данной группе продуктов был идентифицирован только N-нитрозодиметиламин, оценка риска для данной группы проводилась исключительно для этого соединения. Результаты количественной оценки канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА с запеченным мясом и мясными продуктами, представлены в таблице 2.11.

**Уровень канцерогенного и неканцерогенного риска,
обусловленного экспозицией НДМА при потреблении
населением СРВ запеченного мяса и мясных продуктов**

№	Характер риска (расчетная величина)	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	Канцерогенный (CR)	$1,21 \cdot 10^{-5}$	$1,03 \cdot 10^{-5}$	$1,02 \cdot 10^{-4}$	$2,91 \cdot 10^{-5}$
2	Неканцерогенный (HQ)	0,73	0,62	1,22	0,35

Примечание: жирным шрифтом выделен уровень риска выше приемлемого (допустимого) значения

Анализ результатов оценки риска, ассоциированного с потреблением запеченного мяса и мясных продуктов, содержащих приоритетные для оценки риска N-нитрозамины, представленных в таблице 2.11, позволил установить, что индивидуальный канцерогенный риск, обусловленный экспозицией НДМА, для населения в возрасте 18-50 лет соответствует настораживающему уровню ($CR = 1,02 \cdot 10^{-4}$). Оценка неканцерогенного риска выявила формирование неприемлемого уровня риска также среди группы населения в возрасте 18-50 лет ($HQ = 1,22$), что указывает на потенциальные негативные эффекты на критические системы организма, обусловленные экспозицией нитрозаминов.

Таким образом, оценка риска, связанная с потреблением запеченного мяса и мясных продуктов, содержащих N-нитрозамины, была ограничена анализом НДМА ввиду отсутствия других значимых N-нитрозаминов. Результаты показывают, что НДМА является ключевым фактором, определяющим как канцерогенный, так и неканцерогенный риск для взрослого населения в возрасте 18–50 лет.

После анализа риска, связанного с запеченным мясом и мясными продуктами, перейдем к анализу риска, обусловленного по-

ступлением N-нитрозаминов с жареным мясом и мясными продуктами. Результаты расчетов индивидуального канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного потреблением жареного мяса и мясных продуктов, представлены в таблице 2.12. Аналогично запеченным мясным продуктам, в исследованных образцах жареного мяса и мясных продуктов также не было обнаружено присутствия НДФА.

Таблица 2.12

Уровень канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА при потреблении населением СРВ жареного мяса и мясных продуктов

№	Характер риска (расчетная величина)	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	Канцерогенный (CR)	$6,55 \cdot 10^{-6}$	$5,24 \cdot 10^{-6}$	$3,64 \cdot 10^{-5}$	$9,78 \cdot 10^{-5}$
2	Неканцерогенный (HQ)	0,39	0,32	0,44	0,12

Анализ данных, содержащихся в таблице, показывает, что уровни как канцерогенного, так и неканцерогенного риска, обусловленные экспозицией НДМА, не превышали приемлемых значений для всех исследуемых возрастных групп.

После анализа риска, связанного с жареным мясом и мясными продуктами, перейдем к анализу риска, обусловленного поступлением N-нитрозаминов с копченым мясом и мясными продуктами. Результаты расчетов индивидуального канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного потреблением копченого мяса и мясных продуктов, представлены в таблице 2.13. Аналогично запеченным и жареным мясным продуктам, в исследованных образцах копченого мяса и мясных продуктов также не было обнаружено присутствия НДФА.

Уровень канцерогенного и неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА при потреблении населением СРВ копченого мяса и мясных продуктов

№	Характер риска (расчетная величина)	Дети до 6 лет	Дети 7-17 лет	Взрослые 18-50 лет	Взрослые старше 50 лет
1	Канцерогенный (CR)	$4,37 \cdot 10^{-6}$	$4,47 \cdot 10^{-6}$	$4,14 \cdot 10^{-5}$	$1,06 \cdot 10^{-5}$
2	Неканцерогенный (HQ)	0,26	0,27	0,50	0,13

Анализ данных, содержащихся в таблице, показывает, что уровни как канцерогенного, так и неканцерогенного риска, обусловленные экспозицией НДМА, не превышали приемлемых значений для всех исследуемых возрастных групп.

Проведенный комплексный анализ риска, связанного с потреблением мясных продуктов, содержащих N-нитрозамины, позволил установить ряд важных закономерностей. Оценка канцерогенного и неканцерогенного риска для различных видов мясной продукции, включая мясо, приготовленное на гриле, запеченное, жареное и копченое мясо, выявила значительные различия в уровнях риска в зависимости от типа обработки продукта и возрастной группы населения.

Результаты исследования показали, что наиболее значительный уровень как канцерогенного, так и неканцерогенного риска формируется при потреблении мяса, приготовленного на гриле, и запеченного мяса, особенно для взрослого населения Социалистической Республики Вьетнам в возрасте 18-50 лет. Эти виды продуктов оказались основными источниками экспозиции N-нитрозодиметиламина (НДМА), что привело к формированию неприемлемого уровня риска. В то же время анализ риска, связанного с употреблением копченого мяса и мясных продуктов, показал, что уровни как канцерогенного, так и неканцерогенного риска, обусловленные

экспозицией НДМА, не достигали неприемлемых значений ни для одной из исследованных возрастных групп.

Оценка неопределенностей

На этапе идентификации опасности были выявлены неопределенности, связанные с:

1. Различиями в классификации канцерогенов: существуют различия в классификациях канцерогенности N-нитрозаминов, используемых различными международными организациями, такими как IARC и US EPA.

2. Различиями в направлениях и результатах научных исследований: большинство исследований, представленных в научной литературе, сосредоточено на изучении канцерогенного действия N-нитрозаминов. Исследования, посвященные неканцерогенным эффектам этих соединений, представлены в значительно меньшем объеме. Это может приводить к неполному пониманию спектра потенциальных негативных эффектов на здоровье человека.

На этапе выбора зависимости «доза-эффект» были установлены следующие неопределенности, обусловленные ограниченной оценкой неканцерогенного воздействия: детальная оценка вредного неканцерогенного воздействия имеется только для ограниченного числа веществ. Это вносит неопределенность в оценку неканцерогенного риска для всех N-нитрозаминов.

На этапе оценки экспозиции были идентифицированы следующие неопределенности, связанные с:

1. Ограниченным количеством проб: оценка содержания N-нитрозаминов в мясных продуктах проводилась на основании анализа ограниченного количества проб, что может привести к неполному представлению о распределении данных веществ в исследуемых продуктах и неточностям в оценке экспозиции.

2. Ограниченной информацией о потреблении: оценка потребления пищевых продуктов населением проводилась на основании ограниченных данных, что может вносить неопределенность в

определение реальной экспозиции N-нитрозаминов для различных групп населения.

В результате проведенного анализа неопределенностей можно заключить, что совокупный уровень неопределенности в настоящей оценке риска является высоким. Полученные результаты требуют проведения дополнительных исследований, направленных на уточнение данных и снижение неопределенностей, для разработки эффективных мер по управлению рисками и защите здоровья населения.

Результаты гигиенического исследования по оценке риска для здоровья населения при употреблении мяса и мясных продуктов в Социалистической Республике Вьетнам

Результаты гигиенического исследования по оценке риска для здоровья населения при употреблении мяса и мясных продуктов, реализуемых на территории Социалистической Республики Вьетнам, показали:

1. На этапе идентификации опасности было установлено, что среди выявленных в мясе и мясных продуктах девяти N-нитрозамин в дальнейшую оценку риска включены N-нитрозодиметилламин и N-нитрозодифениламин, поскольку они соответствовали критериям включения (наличие в концентрациях выше предела определения более чем в 5% проб продуктов; наличие параметров для оценки канцерогенного риска; наличие параметров для оценки неканцерогенного риска).

2. На этапе выбора зависимости «экспозиция – ответ» установлено, что для оценки канцерогенного риска целесообразно использовать следующие значения факторов канцерогенного потенциала: N-диметилнитрозамин – $51 \text{ (мг/(кг} \times \text{день))}^{-1}$, N-дифенилнитрозамин – $0,0049 \text{ (мг/(кг} \times \text{день))}^{-1}$. В качестве критериев неканцерогенного риска использовались референтные дозы: для N-нитрозодиметиламина – $0,000008 \text{ мг/кг массы тела}$ (критические органы и системы – процессы развития); N-нитрозодифениламина –

0,02 мг/кг массы тела (критические органы и системы – глаза (помутнение роговой оболочки), системное действие (изменение массы тела)).

3. На этапе оценки экспозиции установлены усредненные суточные дозы N-нитрозаминов для оценки канцерогенного и неканцерогенного риска.

Среднесуточная доза при экспозиции N-нитрозодиметиламина, поступающего с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, для населения Социалистической Республики Вьетнам составила от $4,00 \cdot 10^{-6}$ до $1,39 \cdot 10^{-5}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза при экспозиции N-нитрозодифениламина с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, составила от $3,52 \cdot 10^{-7}$ до $1,23 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза N-нитрозодиметиламина, характеризующая канцерогенный эффект ($LADD_{\text{канц}}$), поступающая с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле, составила: для детей до 6 лет – $6,80 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для детей 7-17 лет – $5,78 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $5,73 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $1,64 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Доза N-нитрозодифениламина, характеризующая канцерогенный эффект, для мяса и мясных продуктов, приготовленных на гриле, составила: для детей до 6 лет – $5,99 \cdot 10^{-8}$ мг/кг массы тела в день; для детей 7-17 лет – $5,09 \cdot 10^{-8}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $5,05 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $1,45 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза при экспозиции N-нитрозодиметиламина, поступающего с жареным мясом и мясными продуктами, для населения Социалистической Республики Вьетнам составила от $9,43 \cdot 10^{-7}$ до $3,51 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза N-нитрозодиметиламина, характеризующая канцерогенный эффект ($LADD_{\text{канц}}$), поступающая с жареным мясом и мясными продуктами, составила: для детей до 6 лет – $2,59 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для детей

7-17 лет – $5,78 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $1,44 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $3,88 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза при экспозиции N-нитрозодиметиламина, поступающего с запеченным мясом и мясными продуктами, для населения Социалистической Республики Вьетнам составила от $2,81 \cdot 10^{-6}$ до $9,79 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза N-нитрозодиметиламина, характеризующая канцерогенный эффект ($LADD_{\text{канц}}$), поступающая с запеченным мясом и мясными продуктами, составила: для детей до 6 лет – $4,78 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для детей 7-17 лет – $4,06 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $4,02 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $1,15 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза при экспозиции N-нитрозодиметиламина, поступающего с копченым мясом и мясными продуктами, для населения Социалистической Республики Вьетнам составила от $1,02 \cdot 10^{-6}$ до $3,99 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день.

Среднесуточная доза N-нитрозодиметиламина, характеризующая канцерогенный эффект ($LADD_{\text{канц}}$), поступающая с копченым мясом и мясными продуктами, составила: для детей до 6 лет – $1,73 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для детей 7-17 лет – $1,77 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых 18-50 лет – $1,64 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы тела в день; для взрослых старше 50 лет – $4,20 \cdot 10^{-7}$ мг/кг массы тела в день.

4. На этапе характеристики риска было установлено формирование среди взрослого населения в возрасте 18-50 летстораживающего уровня канцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле (CR до $1,45 \cdot 10^{-4}$), и запеченными мясом и мясными продуктами (CR до $1,02 \cdot 10^{-4}$).

Вместе с тем среди населения этой возрастной группы установлено формирование неприемлемого уровня неканцерогенного риска, обусловленного поступлением НДМА с мясом и мясными

продуктами, приготовленными на гриле (HQ до 1,74), и запеченным мясом и мясными продуктами (HQ до 1,22).

Среди детей до 6 лет отмечалось формирование неприемлемого уровня неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией НДМА с мясом и мясными продуктами, приготовленными на гриле (HQ до 1,03).

Результаты проведенной оценки риска свидетельствуют о необходимости разработки параметров зависимости «экспозиция-эффект» для дальнейшей количественной оценки неканцерогенного риска, формируемого экспозицией N-нитрозодиметиламина, что определяет первоочередную задачу в установлении научно обоснованных отправных точек. При этом необходимо отметить, что, несмотря на примененную, в соответствии с Руководством Р.2.1.10.3968-23, в настоящем исследовании референтную дозу НДМА, основанную на процессах развития, существующие научные данные указывают на более широкий спектр токсических эффектов, оказываемых N-нитрозаминами, включая НДМА [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine; Sheweita, Mostafa, 1996].

В частности, в научной литературе представлены публикации, демонстрирующие, что N-нитроамины, включая НДМА, могут оказывать негативное воздействие не только на процессы развития, но и на функцию печени [Shur, Suvorov, Zemlyanova, Zelenkin, 2020; Суворов, Шур, Зеленкин, 2024; Gao et al., 2017; Wong, Murphy, Wang, Hecht, 2003]. Ряд исследований свидетельствует о гепатотоксических эффектах N-нитроаминов. При этом следует отметить, что значения допустимых суточных доз (ДСД) для нитроаминов, установленные на основе BMDL (нижней границы доверительного интервала экспозиции, вызывающей определенный эффект) в этих исследованиях, оказываются более строгими, чем референтная доза (RfD) для НДМА в отношении процессов развития, используемая в настоящем исследовании. Однако установленные уровни BMDL для N-нитроаминов в данных исследованиях, ввиду специфики их экспериментального дизайна, не могут быть

использованы в качестве универсального критерия при оценке неканцерогенного риска, связанного с потреблением пищевых продуктов, содержащих нитрозамины.

В связи с этим возникает необходимость проведения специализированного токсикологического эксперимента на лабораторных животных. Такой эксперимент, выполненный в соответствии с международными стандартами и с применением валидированных методов, позволит получить более точные данные о параметрах зависимости «доза-эффект» для гепатотоксического действия N-нитрозаминов. Полученные в результате такого эксперимента данные позволят уточнить параметры для количественной оценки неканцерогенного риска, обусловленного экспозицией нитрозаминов, и установить научно обоснованные отправные точки, применимые к различным видам пищевых продуктов и категориям населения.

Таким образом, существует потребность в уточнении параметров оценки риска в отношении печени. Это требует проведения дополнительных исследований с целью установления биомаркеров эффекта [Землянова, Долгих, 2010] и экспозиции, позволяющих более точно характеризовать и количественно оценить гепатотоксический эффект НДМА и других N-нитрозаминов.

ГЛАВА 3. УСТАНОВЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЗАВИСИМОСТИ «ЭКСПОЗИЦИЯ-ЭФФЕКТ» ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА НА ОСНОВЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОМАРКЕРОВ ЭКСПОЗИЦИИ И ЭФФЕКТА

Уточнение параметров зависимости «экспозиция-ответ» для оценки риска для здоровья населения, связанного с воздействием N-нитрозаминов, проводилось в рамках совместной исследовательской работы между ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН, г. Пермь, Российская Федерация, и NIFC, г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам.

Как было установлено на предыдущем этапе, полуколичественная оценка риска для здоровья населения СРВ, формируемого потреблением мяса и мясных продуктов, содержащих N-нитрозамины, выявила формирование настораживающего уровня неканцерогенного риска для взрослого населения при пероральном поступлении N-нитрозодиметиламина с жареным и копченым мясом и мясными продуктами. Данные пищевые продукты были идентифицированы как основные источники N-нитрозаминов [Özbay, Şireli, 2021; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023; Park, Seo, Lee, Kwon, 2015; Lee, 2024].

Следует отметить, что, несмотря на важность полученных результатов, международные принципы анализа риска для здоровья [Комиссия Кодекс Алиментариус. Анализ рисков] не предполагают проведение количественной оценки неканцерогенного риска.

В то же время ряд исследований посвящен оценке канцерогенного действия N-нитрозаминов, прежде всего НДМА, которое, как правило, рассматривается как беспороговое, имеющее в основе генотоксический характер [National Toxicology Program; U.S. Environmental Protection Agency, 1987; Hidajat et al., 2019; Boniol, Koechlin, Boyle, 2017]. Однако проведенный литературный обзор токсикологических экспериментов на животных (крысах) выявил, что N-нитроамины, в частности, НДМА, могут вызывать эффек-

ты, действие которых характеризуется пороговыми уровнями. Это наблюдение более основано на глубоком изучении механистической основы этих эффектов.

В своем обзоре развития токсических эффектов при пероральном поступлении N-нитрозаминов Liteplo и Meek отмечали, что токсикологические эффекты НДМА развиваются посредством механизма алкилирования биологических макромолекул (например, ДНК, РНК, белков) ионом метилдiazония, образующимся в процессе метаболизма [Liteplo and Meek, 2001]. Кроме того, при пероральном поступлении НДМА оказывает воздействие на различные органы и системы, включая печень (вакуолизация гепатоцитов, портальная венопатия и некроз/кровоизлияние), почки (например, расширение гломерул и небольшое утолщение капсулы Боумена), селезенку (застой крови в селезенке), а также может вызывать желудочно-кишечные кровотечения [Barnes and Magee, 1954; Khanna and Puri, 1966; Reuber and Lee, 1968; Maduagwu and Bassir, 1980; Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996; Chooi, Rajendran, Phang and Toh, 2016; Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022]. В качестве перспективных биомаркеров эффекта при воздействии НДМА рассматривается содержание показателей печеночной функции в сыворотке крови [Usunomena et al., 2012].

В свою очередь, в исследовании Moniuszko-Jakoniuk et al. было показано, что при пероральном воздействии НДМА в дозах 0,002 и 0,003 мг/кг/день у крыс наблюдались гистопатологические изменения печени. Эти изменения включали дегенерацию гепатоцитов, формирование аргирофильных и коллагеновых волокон, а также воспалительные инфильтраты в районе портальных желчных путей через 30 дней. При этом через 90 дней эффект усиливался и проявлялся в виде стеатоза и паренхиматоза печени [Moniuszko-Jakoniuk, Roszczenko and Dzieciol, 1999]. Аналогично исследования Roszczenko et al. на крысах показали, что хроническое пероральное поступление НДМА приводит к снижению общей и латентной железосвязывающей способности сыворотки крови и увеличению

содержания в сыворотке крови печеночных ферментов (аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и γ -глутамилтрансферазы (ГГТ)) при однократной поступавшей дозе 20 мкг/кг массы тела [Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Таким образом, основным органом-мишенью при формировании неканцерогенных эффектов при пероральном поступлении НДМА является печень. В качестве биомаркеров ответа на гепатотоксическое действие N-нитрозаминов рассматриваются показатели активности АЛТ, АСТ и ГГТ в сыворотке крови [Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022].

Гамма-глутамилтрансфераза является специфичным маркером повреждения печени и желчевыводящих путей. Следует отметить, что активность ГГТ может повышаться даже при незначительных, субклинических нарушениях функции печени, что характеризует этот показатель как наиболее чувствительный биомаркер, отражающий повреждение печени [Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Аспартатаминотрансфераза, также известная как сывороточная глутамат-оксалоацетаттрансаминаза, повышается при остром повреждении печени. Однако необходимо учитывать, что АСТ также присутствует в эритроцитах, сердечной и скелетной мышцах и поэтому не является специфичным маркером для печени. Повышение уровня АСТ может происходить как при повреждении сердца или скелетных мышц, так и при поражении паренхимы печени. В клинической практике наличие повышенных значений АЛТ и АСТ свидетельствует о возможном поражении печени.

В свою очередь, аланинаминотрансфераза, также называемая сывороточной глутамат-пируват-трансаминазой – это фермент, присутствующий преимущественно в гепатоцитах. Когда клетка повреждается, она выпускает этот фермент в кровь, где его и измеряют. АЛТ резко повышается при остром повреждении печени. В то же время, согласно данным, представленным Usunomena

et al., аланин-аминотрансфераза является более надежным маркером целостности печени, чем аспартат-аминотрансфераза [Usunomena et al., 2012]. Следует отметить, что печеночные ферменты обычно содержатся в циркуляции в небольших количествах из-за процессов роста и восстановления печени. Как специфический для печени фермент, АЛТ значительно повышается только при гепатобилиарных заболеваниях. Повышение уровня АСТ, как отмечалось ранее, может происходить при повреждении сердечной или скелетной мышцы, а также паренхимы печени.

Таким образом, в ходе литературного обзора токсикологических экспериментов на животных (крысах) установлено, что N-нитрозамины, в частности, НДМА, наряду с беспороговым действием, обладают эффектами, действие которых характеризуется пороговыми уровнями. При этом в качестве органа-мишени при неканцерогенном действии N-нитрозаминов выступает печень, а в качестве биомаркеров развития негативных эффектов – изменение в сыворотке крови концентраций ГГТ, АСТ, АЛТ.

Вместе с тем, несмотря на проведенные исследования воздействия НДМА на организм, выявившие пороговый характер развития некоторых эффектов, анализ литературы показал, что установленный минимальный уровень риска (MRL) составляет 0,00001 мг/кг массы тела в день [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA)]. Этот MRL был получен на основании BMDL_{1SD} 0,0014 мг/кг массы тела в день (где в качестве критического эффекта было определено снижение железосвязывающей способности сыворотки крови) с применением фактора неопределенности (UF), равного 100 (10 – экстраполяция результатов с животных на человека, 10 – учет чувствительного контингента: младенцы, дети, пожилые, беременные). Следует отметить, что полученная величина BMDL была установлена на основании острого эксперимента с использованием одной опытной группы, получавшей суточную дозу НДМА 0,002 мг/кг массы тела в течение 10 дней.

US EPA в качестве хронической референтной дозы для оценки риска, формируемого НДМА, предлагает использовать результаты

исследования Anderson et al. [Anderson et al., 1978]. В ходе 10-недельного эксперимента на 10 мышах с использованием одной исследуемой дозы (100 мг/кг массы тела) и выявлением негативных эффектов при пероральном поступлении НДМА был установлен уровень LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level), равный 0,025 мг/кг массы тела в день, на основании которого была установлена референтная доза на уровне 8×10^{-6} мг/кг массы тела [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine]. При этом в качестве критического эффекта были отмечены патологии развития, включая мертворождение, снижение срока наступления беременности, увеличение неонатальной смертности и увеличение доли самцов в помете.

Следует подчеркнуть, что при расчете RfD были использованы факторы неопределенности, связанные с экстраполяцией данных с животных на человека (равный 10), учетом чувствительных групп населения (равный 10), использованием LOAEL в качестве отправной точки (равный 10), а также с неопределенностью данных, включая отсутствие исследований нейротоксичности и репродуктивной функции нескольких поколений (равный 3). Таким образом, общий модифицирующий фактор составил 3000.

Кроме того, при анализе полученных результатов и предложенных факторов неопределенности экспертами US EPA рассматривался вопрос о достаточности данных и величин факторов неопределенности. При этом причина повышенной перинатальной смертности была неясна, а потенциальный механизм действия сильно измененного соотношения полов отъемышей был неизвестен. Однако, поскольку перинатальная смертность могла быть результатом воздействия НДМА, а у US EPA имелись результаты других токсикологических экспериментов на мышах, и поскольку критическое исследование Anderson et al. было исследованием патологий развития, основанным на стандартной методологии US EPA, величины факторов неопределенности были признаны достаточными [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine].

Также эксперты ЕРА отмечали, что, несмотря на достаточное количество использованных мышей, исследование включало только один уровень воздействия, и результаты не были представлены полностью. Кроме того, ни перинатальная смертность, ни изменение соотношения полов у отъемышей не были подтверждены в других исследованиях НДМА [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine].

Тем не менее результаты исследования Anderson et al. [Anderson et al., 1978] были использованы для установления RfD, поскольку они подкреплялись результатами эксперимента Peto et al. [Peto et al., 1991]. В их исследовании изучалось развитие негативных эффектов со стороны печени у крыс при потреблении НДМА с водой (в концентрациях от 0,033 до 16,896 ppm). Среди всех отмечавшихся неканцерогенных эффектов статистически достоверным являлось формирование цитомегалии гепатоцитов. На основании развития цитомегалии были установлены LOAEL на уровне 0,043 мг/кг массы тела и NOAEL на уровне 0,022 мг/кг массы тела. При этом величина полученного NOAEL сопоставима с LOAEL, полученным в исследовании Anderson et al. [Anderson et al., 1978], что свидетельствует о том, что эффекты, связанные с патологиями развития, наступят раньше, а следовательно, их целесообразнее использовать при установлении RfD.

Таким образом, проведенный анализ литературных данных, соответствующий этапу идентификации опасности, показал, что в экспериментальных исследованиях токсичности НДМА наряду с канцерогенными эффектами установлено неканцерогенное действие на печень. В качестве биомаркеров развития негативных эффектов может рассматриваться изменение в сыворотке крови концентраций АСТ, АЛТ, ГГТ.

Таким образом, в связи с установленными неопределенностями, а также в связи с обоснованием разработанных параметров на остром воздействии, использование референтной дозы для оценки риска при пероральном поступлении НДМА преждевременно.

Следовательно, для уточнения параметров для количественной оценки риска, формируемого поступлением НДМА с пищевой продукцией, целесообразно проведение хронического токсикологического эксперимента.

В этой связи с целью количественной оценки неканцерогенного риска, формируемого экспозицией N-нитрозодиметиламином, Федеральным бюджетным учреждением науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и Национальным институтом по контролю качества пищевых продуктов был разработан соответствующий дизайн эксперимента.

Дизайн эксперимента на животных моделях по обоснованию параметров для количественной оценки неканцерогенного риска, формируемого экспозицией N-нитрозодиметиламином

Эксперимент проводился на базе NIFC (г. Ханой, СРВ) в соответствии с соглашением между ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН и NIFC. Дизайн эксперимента был утвержден протоколом совместного заседания, а его проведение одобрено локальным этическим комитетом ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН, что гарантировало соблюдение всех необходимых этических норм.

По результатам проведенной идентификации опасности в качестве неканцерогенного эффекта НДМА при пероральном поступлении рассматривался гепатотоксический эффект. В качестве биомаркеров эффекта рассматривалось изменение сывороточных показателей печеночной функции (АСТ, АЛТ и ГГТ). Исследование по обоснованию параметров для оценки риска проводилось на инбредных животных линии Вистар. Уход и содержание животных осуществлялись в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях ETS N 123 (European Convention for the protection of Vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes ETS N 123) [European Convention for the Protection of Vertebrate

Animals] и Руководством ОЭСР по проведению хронических токсикологических исследований [OECD, 2018].

Для проведения хронического токсикологического исследования целесообразно произвести выбор т.н. животной модели, соответствующей биомеханизмам человеческого организма [Cruz, Gomes, Landeira-Fernandez, 2024; Wei et al., 2024]. Выбор животной модели для исследования был основан на принципах отбора модельных организмов для лабораторных исследований по правилам GLP [Carroll, 2016] и соответствовал следующим критериям:

1. Релевантность модели: использование крыс в качестве модели было обусловлено сходством структуры и функций их печени с печенью человека, особенно в контексте метаболизма лекарств и токсических веществ. Это обеспечивает биологическое правдоподобие получаемых результатов [Kogure et al., 1999; Мужикян и др., 2017].

2. Генотипическая однородность: для обеспечения повышенной предсказуемости результатов были использованы инбредные животные. Инбредные линии характеризуются высокой степенью генетической однородности, что минимизирует влияние скрытых рецессивных признаков и создает более однородную популяцию для исследования. Это позволяет исключить влияние различных генетических комбинаций на результаты исследования, что увеличивает точность и достоверность полученных данных [Гайдай, Гайдай, 2019].

3. Частота применения крыс в качестве животной модели в исследованиях: крысы широко используются для изучения токсичности химических веществ, что делает их отличной моделью с богатой базой данных и разработанными протоколами [Семакова, Германчук, Шавина, 2021; Шагидулин и др., 2017].

4. Доступность и стоимость: крысы легко доступны и относительно недороги в содержании.

5. Технические характеристики: крысы достаточно большие для проведения ряда процедур, включая сбор образцов крови, а также для введения исследуемых веществ.

Животные закуплены в специализированном питомнике, осуществляющем свою деятельность на территории Социалистической Республики Вьетнам в г. Ханой.

Крысы, поступившие в виварий NIFC, находились на 5-дневном карантине под общим наблюдением, в помещении, изолированном от других видов животных.

Перед началом эксперимента возраст животных составлял 6 недель, вес ($SD \pm m$) – у самцов – $196,7 \pm 16,1$ грамм; у самок – до $178,6 \pm 15,0$ грамм.

Животные содержались по 2-3 животных в каждой клетке. Каждая клетка имела маркировку с указанием группы, в которую были отнесены животные, массы тела, возраста, пола, количества животных в клетке и продолжительности эксперимента.

В зависимости от дозы вводимого раствора НДМА животные случайным образом были разделены на 5 групп по 13 животных в каждой группе с равным количеством самцов и самок:

Группа № 1 получала раствор НДМА в дозе, равной дозе 0,001 значения LD_{50} (0,04 мг/кг массы тела) – доза, которая не вызовет гибель животных и дает возможности для построения моделей зависимости «экспозиция – биомаркер ответа»;

Группа № 2 получала раствор НДМА в дозе, равной LOAEL (0,002 мг/кг массы тела) [Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022];

Группа № 3 получала раствор НДМА в дозе на уровне 0,00001 значения LD_{50} (0,0004 мг/кг массы тела) – доза, обеспечивающая шаг для построения моделей зависимости «экспозиция-биомаркер ответа»;

Группа № 4 получала раствор НДМА на уровне максимальной дозы, установленной в главе 1 настоящей монографии, в качестве формирующей негативный эффект у взрослого населения при потреблении мяса и мясных продуктов (0,00002 мг/кг массы тела);

Группа № 5 – контрольная группа, получающая дистиллированную воду (1 мл).

Для оценки неканцерогенного действия НДМА на организм животных был разработан хронический токсикологический эксперимент продолжительностью 180 дней. Ежедневно утром, натощак, после взвешивания, лабораторным животным, в соответствии с их экспериментальной группой, вводился раствор НДМА. Введение осуществлялось *per os* (перорально) с использованием зонда, с учетом массы тела каждого животного. Индивидуальные дозы НДМА (мг/кг массы тела), вводимые лабораторным животным, в зависимости от экспериментальных групп и длительности эксперимента варьировались от $6,16 \cdot 10^{-3}$ до $1,54 \cdot 10^{-2}$ для группы № 1; от $3,20 \cdot 10^{-4}$ до $7,16 \cdot 10^{-4}$ для группы № 2; от $7,03 \cdot 10^{-5}$ до $1,54 \cdot 10^{-4}$ для группы № 3; от $3,43 \cdot 10^{-6}$ до $7,25 \cdot 10^{-6}$ для группы № 4.

Забор крови для анализа биомаркеров экспозиции и эффекта проводился один раз в месяц в течение всего эксперимента. Исследование крови на биомаркеры ответа (АСТ, АЛТ и ГГТ) проводилось аккредитованным лабораторным центром с использованием колориметрических методов. Анализ крови на биомаркеры экспозиции проводился на базе NIFC в аккредитованной лаборатории токсикологии пищевых продуктов и аллергенов методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии/масс-спектрометрии (GC-MS/MS).

Для статистической обработки данных и установления отправной точки типа BMDL был применен U-критерий Манна-Уитни. Этот непараметрический метод использовался для сравнения распределений данных между группами (например, контрольной и экспериментальной) с целью выявления статистически значимых различий в показателях, характеризующих воздействие исследуемого фактора ($p < 0,05$). Данный тест был предпочтительнее параметрических методов из-за возможного нарушения предпосылок нормальности распределения данных.

Для оценки зависимости между дозой НДМА и его концентрацией в крови лабораторных животных был применен метод нелинейной регрессии. Анализ проводился отдельно для каждой

экспериментальной группы, а также для всех групп совместно. В качестве зависимой переменной выступала концентрация НДМА в крови (мг/мл), а в качестве независимой переменной – индивидуальная доза НДМА (мг/кг массы тела).

Статистическая значимость полученных результатов оценивалась с помощью хи-квадрата. Коэффициент детерминации (R^2) использовался для оценки качества подгонки модели. Все статистические расчеты были выполнены с использованием пакета Statistica 13.0.

Для установления реперного уровня (BMDL) в соответствии с методикой, утвержденной ЕЭК, по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека [Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов] применялся метод скользящего окна. Данный метод (OR, 95% доверительный интервал, $R^2 \geq 0,5$) позволил проанализировать данные с учетом временной зависимости и определить порог воздействия, ниже которого не наблюдается статистически значимого эффекта ($p \leq 0,05$). Требование $R^2 \geq 0,5$ обеспечило достаточную объяснительную способность модели. Применение данного метода позволило учесть потенциальную нелинейность зависимости между дозой и ответом, обеспечивая более точное определение BMDL.

В последующих разделах представлены подробные результаты применения указанных методов и их интерпретация, включая конкретные значения p для каждого статистического теста и значения R^2 для метода скользящего окна.

Оценка зависимости эффектов (ответов) от дозы по результатам токсикологического эксперимента на животных моделях

Для оценки дозозависимых эффектов в условиях продолжительного воздействия НДМА представляло интерес проследить за

ежемесячной динамикой биохимических показателей крови, отражающих активность ключевых печеночных ферментов. Анализ активности АСТ, АЛТ и ГГТ, проводимый по окончании каждого месяца экспериментального периода, в том числе и на 6-м месяце, позволил оценить изменение характера гепатотоксического воздействия НДМА.

Перед началом эксперимента у крыс был осуществлен забор крови для определения фоновых значений биохимических показателей. Это позволило установить исходные уровни печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, ГГТ) и провести дальнейший анализ возможной связи между воздействием НДМА и изменением этих показателей (таблица 3.1).

Таблица 3.1

Биохимические показатели крови крыс до начала эксперимента, представленные в виде медианы (Me[Q25;Q75])

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	304,1 [258,3; 324,1]	50,9 [39,8; 57,1]	3,3 [2,8; 3,5]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	265,4 [248,7; 324,7]	47,1 [41,8; 49,5]	2,5 [2,4; 3,0]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	230,1 [222,5; 245,0]	51,1 [42,9; 58,1]	2,7 [2,5; 2,9]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	274,9 [273,4; 280,7]	45,7 [41,8; 55,8]	3,7 [2,5; 4,3]
Группа № 5 (контроль)	240,3 [219,9; 259,3]	40,7 [38,9; 49,6]	3,3 [2,5; 3,6]

Анализ фоновых значений АСТ, АЛТ, ГГТ у всех групп животных не выявил достоверных различий между группами ($p \leq 0,05$) (таблица 3.2).

Таблица 3.2

**Матрица результатов непараметрического критерия
Манна-Уитни: сравнение распределений данных биомаркеров
эффекта от воздействия НДМА между группами животных
(фоновые значения)***

Значимость различий фоновых значений по показателю АСТ между экспериментальными группами					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 10; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 13; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 18; Укрит = 8; $p>0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 14; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 10; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 7; Укрит = 5; $p>0,05$	–	Уэмп = 18; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 3	Уэмп = 15; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$	–	Уэмп = 7; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 13; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 2	Уэмп = 10; Укрит = 8; $p>0,05$	–	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 10; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 11; $p>0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 16; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 15; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 14; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$
Значимость различий фоновых значений по показателю АЛТ между экспериментальными группами					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 22; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 17; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 14; Укрит = 8; $p>0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	–	Уэмп = 14; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 3	Уэмп = 19; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 14; Укрит = 7; $p>0,05$	–	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 2	Уэмп = 20; Укрит = 11; $p>0,05$	–	Уэмп = 14; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 17; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 20; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 19; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 20; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 22; Укрит = 11; $p>0,05$
Значимость различий фоновых значений по показателю ГГТ между экспериментальными группами					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 23,5; Укрит = 11; $p>0,05$	Уэмп = 18; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 9; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 14; Укрит = 8; $p>0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 15,5; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	–	Уэмп = 14; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 3	Уэмп = 4,5; Укрит = 6; $p>0,05$	Уэмп = 6; Укрит = 5; $p>0,05$	–	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 9; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 2	Уэмп = 14,5; Укрит = 8; $p>0,05$	–	Уэмп = 6; Укрит = 5; $p>0,05$	Уэмп = 16; Укрит = 7; $p>0,05$	Уэмп = 18; Укрит = 8; $p>0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 14,5; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 4,5; Укрит = 6; $p>0,05$	Уэмп = 15,5; Укрит = 8; $p>0,05$	Уэмп = 23,5; Укрит = 11; $p>0,05$

*значимые различия выделены зеленым цветом, незначимые – желтым

Кроме того, предварительное исследование крови на наличие биомаркеров экспозиции НДМА показало отсутствие данного вещества во всех экспериментальных группах.

Через месяц после начала ежедневного введения различных доз НДМА был проведен повторный забор крови для анализа биомаркеров эффекта и экспозиции (таблицы 3.3-3.4).

Таблица 3.3

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс после одного месяца воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	290,3 [275,3; 325,5]	83,1 [80,5; 83,6]	3,2 [2,3; 3,5]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	392,2 [376,2; 508,6]	77,8 [69,9; 78,8]	3,7 [3,3; 4,5]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	279,5 [255,9; 302,9]	61,2 [60,1; 62,2]	2,9 [2,6; 3,2]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	274,9 [292,2; 335,7]	68,1 [67,1; 75,4]	3,0 [2,7; 3,5]
Группа № 5 (контроль)	240,3 [276,5; 368,1]	62,1 [55,5; 71,1]	3,3 [3,0; 4,2]

Результаты статистического анализа данных, представленных в таблице 3.3, продемонстрировали наличие статистически значимых межгрупповых различий по уровню экспозиции НДМА и активности АСТ ($p \leq 0,05$) с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Парные сравнения выявили статистически значимые различия между группой № 2 и группами № 1, № 3, и № 4, а также между группой № 4 и группами № 2 и № 3, и группой № 5 и группой № 2. Данные результаты позволяют предположить, что различные дозы НДМА оказывают дифференцированное влияние на активность АСТ.

Аналогичный сравнительный анализ активности АЛТ в сыворотке крови животных, подвергшихся воздействию различных доз НДМА, также выявил статистически значимые межгрупповые различия ($p \leq 0,05$). Парные сравнения показали статистически значимые различия между группой № 1 и группами № 4 и № 5, группой № 2 и группами № 4 и № 5, группой № 3 и группой № 4, а также группой № 4 и группами № 1, № 2 и № 3. Полученные результаты подтверждают наличие дозозависимого эффекта НДМА на активность АЛТ, что свидетельствует о его потенциальном гепатотоксическом действии.

Оценка активности ГГТ в исследуемых группах животных также выявила значимые межгрупповые различия: между группой № 1 и группами № 2, № 4 и № 5; группой № 2 и группами № 1, № 4 и № 5; группой № 3 и группами № 2 и № 5; а также группой № 4 и группами № 1, № 2 и № 5. Группа № 3 статистически значимо отличалась только от группы № 2. Обнаруженные изменения активности ГГТ позволяют сделать вывод о развитии гепатотоксического эффекта НДМА уже в течение первого месяца экспериментального воздействия.

Таблица 3.4

Результаты оценки биомаркеров экспозиции в крови после первого месяца эксперимента на лабораторных животных

Группы животных (доза НДМА)	Концентрация НДМА в крови в среднем по экспериментальной группе, нг/мл
Группа № 5 (контроль)	0,000
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	0,515±0,015
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	0,635±0,113
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	0,564±0,164
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	0,670±0,088

Примечание – $M \pm SD$ — среднее значение $\pm$ стандартное отклонение

В ходе исследования концентрация НДМА в крови лабораторных животных в экспериментальных группах варьировала в диапазоне от $0,515 \pm 0,015$ до $0,670 \pm 0,088$ нг/мл.

По истечении двух месяцев экспериментального периода были определены медианные значения показателей биомаркеров гепатотоксичности (активность АСТ, АЛТ и ГГТ), представленные в таблице 3.5.

Таблица 3.5

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс после двух месяцев воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АСТ	АСТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	238,2 [224,2; 252,2]	238,2 [224,2; 252,2]	238,2 [224,2; 252,2]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	243,4 [225,5; 281,2]	243,4 [225,5; 281,2]	243,4 [225,5; 281,2]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	300,0 [270,0; 315,2]	300,0 [270,0; 315,2]	300,0 [270,0; 315,2]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	290,0 [278,5; 303,0]	290,0 [278,5; 303,0]	290,0 [278,5; 303,0]
Группа № 5 (контроль)	330,0 [320,7; 356,2]	330,0 [320,7; 356,2]	330,0 [320,7; 356,2]

Статистический анализ зависимости между активностью печеночных ферментов в крови и уровнем экспозиции НДМА с использованием U-критерия Манна-Уитни выявил следующие закономерности.

В частности, анализ активности АСТ в пяти группах животных после двух месяцев воздействия различными дозами НДМА выявил статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между

контрольной группой (№ 5) и всеми экспериментальными группами (№ 1-4). Кроме того, статистически значимые различия были установлены между группой № 4 и группами № 1, № 2 и № 3, а также между группой № 3 и группами № 1 и № 2, и группой № 2 и группами № 1 и № 3. При этом статистически незначимые различия ($p > 0,05$) были выявлены между группами № 4 и № 3, а также между группами № 2 и № 1.

Полученные результаты позволяют заключить о наличии взаимосвязи между активностью АСТ в сыворотке крови и уровнем экспозиции НДМА после двух месяцев воздействия.

Сравнительный анализ активности АЛТ в сыворотке крови экспериментальных животных (группы № 2, № 3, № 4 и № 5) через два месяца после начала воздействия НДМА выявил статистически значимые межгрупповые различия ($p \leq 0,05$). В частности, активность АЛТ в контрольной группе (№ 5) статистически значимо отличалась от активности фермента в группах № 2, № 3 и № 4. Кроме того, группа № 4 продемонстрировала статистически значимые различия с группами № 2 и № 3. Статистически незначимые различия ($p > 0,05$) были отмечены между группами № 5 и № 4, а также между группами № 2 и № 1, и № 3 и № 1. На основании полученных данных можно предположить наличие дозозависимой тенденции в изменении активности АЛТ под воздействием НДМА, хотя статистически значимые различия не были выявлены во всех попарных сравнениях.

Оценка активности ГГТ в пяти группах экспериментальных животных после двух месяцев воздействия различными дозами НДМА также выявила статистически значимые межгрупповые различия ($p \leq 0,05$). В частности, активность ГГТ в контрольной группе (№ 5) статистически значимо отличалась от активности фермента в группах № 1, № 2 и № 3. Группа № 4 также продемонстрировала статистически значимые различия с группами № 2 и № 3, а группа № 1 – с группами № 2 и № 3. Статистически незначимые различия ($p > 0,05$) были отмечены между группами № 1 и

№ 4, № 2 и № 1, и № 3 и № 1. Полученные результаты указывают на наличие дозозависимого влияния НДМА на активность ГГТ, хотя не все межгрупповые сравнения показали статистически значимые различия.

Наряду с оценкой биохимических показателей на одном из этапов экспериментального периода (через один месяц после начала воздействия) был проведен анализ концентрации НДМА в крови животных (данные представлены в таблице 3.6).

Таблица 3.6

Результаты оценки биомаркеров экспозиции в крови после второго месяца эксперимента на лабораторных животных

Группы животных (доза НДМА)	Концентрация НДМА в крови в среднем по экспериментальной группе, нг/мл
Группа № 5 (контроль)	0,00
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	0,95±0,055
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	0,96±0,044
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	0,99±0,023
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	1,0±0,03

Примечание – $M \pm SD$ — среднее значение $\pm$ стандартное отклонение

Данные анализа концентрации НДМА в крови экспериментальных животных, полученные через два месяца после начала воздействия (таблица 3.6), продемонстрировали значения в диапазоне от $0,95 \pm 0,055$ нг/мл (группа № 4) до $1,0 \pm 0,03$ нг/мл (группа № 1), указывающие на незначительное, но последовательное увеличение средней концентрации НДМА в крови.

С целью оценки динамики развития гепатотоксического эффекта НДМА в среднесрочной перспективе (90 суток с начала экспериментального воздействия) был проведен анализ биохимических показателей крови экспериментальных животных. В таблице 3.7 представлены результаты определения ключевых биомаркеров печеночной функции, направленные на выявление ранних признаков повреждения гепатоцитов под воздействием НДМА и оценку выраженности дозозависимых эффектов.

Таблица 3.7

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс на половине экспериментального периода воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	238,2 [216,2; 258,8]	62,4 [57,0; 66,7]	4,1 [3,0; 4,8]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	254,9 [229,7; 290,5]	63,1 [51,1; 70,8]	3,7 [2,8; 4,4]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	300,0 [260,0; 317,5]	60,7 [59,5; 70,2]	2,0 [2,0; 2,6]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	294,3[283,7; 338,1]	87,8 [86,0; 102,0]	2,4 [2,1; 2,8]
Группа № 5 (контроль)	292,5 [264,1; 330,0]	80,9 [70,5; 84,2]	2,3 [2,0; 3,7]

Оценка активности ГГТ в сыворотке крови пяти групп животных после трехмесячного воздействия НДМА с использованием U-критерия Манна-Уитни выявила статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между контрольной группой (№ 5) и рядом экспериментальных групп (таблица 3.8).

Таблица 3.8

**Матрица результатов непараметрического критерия
Манна-Уитни: сравнение распределений данных биомаркеров
эффекта от воздействия НДМА между группами животных
(3 месяца от начала эксперимента)***

Значимость различий значений по показателю АСТ между экспериментальными группами после 3-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 36; Укрит = 51; $p \leq 0,05$	Уэмп = 47; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 55; Укрит = 33; $p > 0,05$	Уэмп = 56; Укрит = 37; $p > 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 14; Укрит = 37; $p \leq 0,05$	Уэмп = 23; Укрит = 34; $p \leq 0,05$	Уэмп = 34; Укрит = 20; $p > 0,05$	–	Уэмп = 56; Укрит = 37; $p > 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 19; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 25; Укрит = 30; $p > 0,05$	–	Уэмп = 34; Укрит = 20; $p > 0,05$	Уэмп = 55; Укрит = 33; $p > 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 61; Укрит = 47; $p > 0,05$	–	Уэмп = 25; Укрит = 30; $p > 0,05$	Уэмп = 23; Укрит = 34; $p \leq 0,05$	Уэмп = 47; Укрит = 47; $p > 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 61; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 19; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 14; Укрит = 37; $p \leq 0,05$	Уэмп = 36; Укрит = 51; $p \leq 0,05$
Значимость различий значений по показателю АЛТ между экспериментальными группами после 3-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 39; Укрит = 51; $p \leq 0,05$	Уэмп = 38; Укрит = 47; $p \leq 0,05$	Уэмп = 24; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 18; Укрит = 37; $p > 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 10; Укрит = 27; $p \leq 0,05$	Уэмп = 12; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	Уэмп = 6; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	–	Уэмп = 18; Укрит = 37; $p > 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 55; Укрит = 33; $p > 0,05$	Уэмп = 52; Укрит = 30; $p > 0,05$	–	Уэмп = 6; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	Уэмп = 24; Укрит = 33; $p \leq 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 78; Укрит = 47; $p > 0,05$	–	Уэмп = 52; Укрит = 30; $p > 0,05$	Уэмп = 12; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	Уэмп = 38; Укрит = 47; $p \leq 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 78; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 55; Укрит = 33; $p > 0,05$	Уэмп = 10; Укрит = 27; $p \leq 0,05$	Уэмп = 39; Укрит = 51; $p \leq 0,05$
Значимость различий значений по показателю ГГТ между экспериментальными группами после 3-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 46; Укрит = 51; $p \leq 0,05$	Уэмп = 41; Укрит = 47; $p \leq 0,05$	Уэмп = 13; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 43; Укрит = 37; $p > 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 47; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 35,5; Укрит = 31; $p > 0,05$	Уэмп = 12; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	–	Уэмп = 43; Укрит = 37; $p > 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 30; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 36; Укрит = 27; $p > 0,05$	–	Уэмп = 12; Укрит = 24; $p \leq 0,05$	Уэмп = 13; Укрит = 33; $p \leq 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 70,5; Укрит = 47; $p > 0,05$	–	Уэмп = 36; Укрит = 27; $p > 0,05$	Уэмп = 35,5; Укрит = 31; $p > 0,05$	Уэмп = 41; Укрит = 47; $p \leq 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 70,5; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 30; Укрит = 33; $p \leq 0,05$	Уэмп = 47; Укрит = 47; $p > 0,05$	Уэмп = 46; Укрит = 51; $p \leq 0,05$

*значимые различия выделены зеленым цветом, незначимые – желтым

В частности, группы № 1, № 2 и № 3 продемонстрировали статистически значимое повышение активности ГГТ по сравнению с контрольной группой. При этом группа № 4 не показала статистически значимых различий с контрольной группой. Несмотря на общую тенденцию к увеличению активности ГГТ в экспериментальных группах, отсутствие статистической значимости между некоторыми группами (например, между группами № 4 и № 5, а также между отдельными парами экспериментальных групп) не позволяет сделать однозначный вывод о наличии четко выраженной зависимости «доза-эффект».

Аналогичный анализ активности АСТ в сыворотке крови пяти групп животных после трехмесячного воздействия НДМА с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни выявил статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между некоторыми группами. В частности, статистически значимое повышение активности АСТ по сравнению с контрольной группой № 5 было обнаружено в группах № 1, № 2, № 3 и № 4. При этом статистически значимых различий между группами № 2 и № 5, а также № 3 и № 4 не наблюдалось ($p > 0,05$). Полученные результаты указывают на наличие дозозависимого влияния НДМА на активность АСТ, хотя отмечается некоторое перекрывание значений между группами, получавшими относительно высокие дозы НДМА.

Оценка активности АЛТ в сыворотке крови пяти групп животных с использованием U-критерия Манна-Уитни выявила статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между рядом групп. В частности, группа № 5 продемонстрировала статистически значимое повышение активности АЛТ по сравнению с группами № 1, № 2, № 3 и № 4. Группа № 4 также показала значительное повышение активности АЛТ по сравнению с группами № 1 и № 2. При этом группа № 3 не продемонстрировала статистически значимых различий по сравнению с группами № 1 и № 2, но показала значимое отличие от группы № 4. В отличие от установленных достоверных связей между активностью АСТ и ГГТ в сыворотке крови и уровнем экспозиции НДМА, оценка связи между активностью АЛТ и

экспозицией НДМА на данном этапе исследования не позволила получить достоверные различия, что требует подтверждения в дальнейших экспериментах.

Таким образом, результаты проведенного анализа активности печеночных ферментов АСТ, АЛТ и ГГТ в сыворотке крови после трехмесячного воздействия различных доз НДМА на животных с использованием U-критерия Манна-Уитни выявили статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между экспериментальными группами (№ 1–№ 4) и контрольной группой (№ 5). Во всех экспериментальных группах было отмечено статистически значимое повышение активности АСТ и АЛТ по сравнению с контролем, что указывает на гепатотоксическое действие НДМА. Для ГГТ статистически значимое повышение активности по сравнению с контрольной группой было обнаружено в группах № 1, № 2 и № 3, в то время как группа № 4 не продемонстрировала статистически значимого повышения активности.

Дополнительно, с целью оценки динамики изменений активности печеночных ферментов, был проведен анализ данных, полученных на 4-м месяце экспериментального воздействия НДМА. В таблице 3.9 представлены результаты измерения активности АСТ, АЛТ и ГГТ в сыворотке крови крыс по окончании 4-го месяца эксперимента, выраженные в виде медианных значений и межквартильных размахов (Me [Q25; Q75]).

Таблица 3.9

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс на 4-м месяце экспериментального периода воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
1	2	3	4
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	238,2 [216,2; 258,8]	63,4 [57,0; 66,7]	4,1 [3,0; 4,8]

1	2	3	4
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	254,9 [229,7; 290,5]	63,1 [51,1; 70,8]	3,7 [2,8; 4,4]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	300,0 [260,0; 317,5]	60,7 [59,5; 70,2]	2,6 [2,0; 3,3]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	294,3 [283,7; 338,1]	87,9 [86,0; 102,0]	2,4 [2,2; 2,8]
Группа № 5 (контроль)	292,5 [264,1; 330,0]	80,9 [70,5; 84,2]	2,3 [2,2; 3,9]

Статистический анализ с использованием U-критерия Манна-Уитни (уровень значимости $p \leq 0,05$) позволил сравнить активность АСТ, АЛТ и ГГТ между группами на данном сроке и выявить статистически значимые изменения. В частности, при анализе активности АСТ выявлена следующая закономерность: статистически значимо более высокая активность АСТ зарегистрирована в группе животных, подвергавшихся воздействию максимальной дозы НДМА (группа № 1, 0,04 мг/кг), по сравнению с таковой в группах № 3 (0,0004 мг/кг), № 4 (0,00002 мг/кг) и контрольной группе № 5. Аналогичная тенденция отмечена и для группы № 3, в которой активность АСТ статистически значимо превышала аналогичный показатель в группах № 1, № 4 и контроле. Особого внимания заслуживает тот факт, что минимальная доза НДМА (группа № 4) также приводит к статистически значимому повышению активности АСТ в сравнении с группами № 1, № 3 и контрольной группой. Следует отметить, что активность АСТ в группе № 2 не продемонстрировала статистически значимых различий по сравнению с другими группами. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что воздействие НДМА оказывает выраженное влияние на активность АСТ.

В отношении активности АЛТ на 4-м месяце воздействия НДМА сохраняется тенденция к меньшему количеству статистически значимых межгрупповых различий, чем для АСТ и ГГТ. Статистически значимо более высокая активность АЛТ зафиксирована

в группе № 1 по сравнению с группами № 4 и № 5 (контроль). В группе № 4 наблюдается статистически значимо более низкая активность АЛТ по сравнению с группой № 1 и контрольной группой № 5, а также более высокая по сравнению с группой № 3. Активность АЛТ в группе № 2 не демонстрирует статистически значимых различий с другими группами. Эти данные указывают на то, что длительное воздействие НДМА продолжает влиять на активность АЛТ, однако этот эффект остается менее выраженным, чем в случае АСТ и ГГТ.

Анализ активности ГГТ на 4-м месяце эксперимента выявил, что группа № 1 продолжает демонстрировать статистически значимо более высокую активность фермента по сравнению с группами № 3, № 4 и контрольной группой № 5. Аналогично в группе № 3 активность ГГТ статистически значимо превышает таковую в группах № 1, № 4 и контроле. Наконец, в группе № 4 по-прежнему наблюдается статистически значимое снижение активности ГГТ по сравнению с группами № 1, № 3 и контрольной группой. Активность ГГТ в группе № 2 не демонстрирует статистически значимых межгрупповых различий. Эти данные подтверждают сохраняющееся влияние НДМА на активность ГГТ при длительном воздействии, что подчеркивает ее роль в качестве индикатора гепатотоксичности.

В целом, анализ данных, полученных на 4-м месяце эксперимента, подтверждает ранее сделанные выводы о гепатотоксическом воздействии НДМА, проявляющемся в изменениях активности печеночных ферментов. Закономерности, выявленные на 4-м месяце, в основном сохраняются, что свидетельствует о стабильном характере воздействия НДМА на печень при длительном воздействии.

С целью оценки динамических изменений данных показателей и возможной стабилизации был проведен аналогичный биохимический анализ крови на 5-м месяце экспериментального периода.

Медианные значения и межквартильные размахи (Me [Q25; Q75]) активности АСТ, АЛТ и ГГТ в сыворотке крови крыс на 5-м месяце воздействия НДМА представлены в таблице 3.10.

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс на 5-м месяце экспериментального периода воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	284,9 [270,3; 296,5]	82,7 [64,6; 89,8]	7,0 [5,9; 7,5]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	385,1 [287,6; 411,6]	81,5 [78,5; 93,0]	2,7 [2,0; 3,9]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	324,9 [271,0; 388,4]	62,5 [58,2; 68,2]	3,4 [2,7; 11,3]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	265,5 [219,6; 341,4]	89,8 [74,6; 112,9]	2,9 [2,8; 4,1]
Группа № 5 (контроль)	232,5 [205,4; 246,0]	68,8 [55,5; 77,0]	3,2 [2,2; 4,8]

Результаты, представленные в таблице 3.10, были также подвергнуты статистическому анализу с использованием U-критерия Манна-Уитни для установления статистически значимых межгрупповых различий в активности исследуемых печеночных ферментов.

Анализ активности АСТ продемонстрировал, что в группе, подвергавшейся воздействию максимальной дозы НДМА (группа № 1, 0,04 мг/кг), наблюдается статистически значимо более высокая активность фермента по сравнению с группами № 3 (0,0004 мг/кг), № 4 (0,00002 мг/кг) и контрольной группой № 5. Схожая тенденция была выявлена и в группе № 3, где активность АСТ статистически значимо превышала аналогичные показатели в группах № 1, № 4 и контрольной группе. Следует отметить, что даже минимальная доза НДМА (группа № 4) вызывала статистически значимое повышение активности АСТ по сравнению с группами № 1, № 3 и контрольной группой. Активность АСТ в группе № 2 не продемонстрировала статистически значимых отличий от других групп. Полученные данные позволяют предположить, что НДМА оказывает влияние на активность АСТ.

В отношении активности АЛТ установлено, что в группе № 1 (0,04 мг/кг) наблюдается статистически значимо более высокая активность фермента по сравнению с группами № 4 и № 5 (контрольная группа). В то же время группа № 4 демонстрирует статистически значимо более низкую активность АЛТ по сравнению с группами № 1 и № 5, но более высокую по сравнению с группой № 3. Статистически значимых различий в активности АЛТ между группой № 2 и другими группами выявлено не было. Результаты свидетельствуют о наличии влияния НДМА на активность АЛТ, однако это влияние, по-видимому, менее выражено по сравнению с АСТ.

Анализ активности ГГТ выявил статистически значимо более высокую активность фермента в группе № 1 по сравнению с группами № 3, № 4 и контрольной группой. Аналогичная тенденция наблюдается в группе № 3, где активность ГГТ также статистически значимо превышает значения, полученные для групп № 1, № 4 и контроля. В группе № 4, напротив, зафиксирована статистически значимо более низкая активность ГГТ по сравнению с группами № 1, № 3 и контрольной группой. Активность ГГТ в группе № 2 статистически значимо не отличалась от других групп. Выявленные различия указывают на то, что НДМА оказывает существенное влияние на активность ГГТ, сопоставимое по выраженности с его влиянием на активность АСТ.

Таким образом, статистический анализ данных, полученных к 5-му месяцу эксперимента, подтверждает гипотезу о гепатотоксическом действии НДМА, проявляющемся в изменении активности печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, ГГТ). Анализ закономерностей, выявленных на 5-м месяце, показал, что максимальная доза НДМА (группа № 1) по-прежнему оказывает наиболее выраженное влияние на активность ферментов, однако группа с минимальной дозой (группа № 4) также продолжает демонстрировать значимые изменения. Сохранение данной тенденции на протяжении 5 месяцев воздействия НДМА позволяет говорить о стабильном характере его гепатотоксического эффекта. Полученные результаты подчеркива-

ют необходимость дальнейшего изучения механизмов воздействия НДМА на печень, оценки долгосрочных последствий этого воздействия и определения пороговых доз, оказывающих минимальное, но статистически значимое влияние.

Представленные выше результаты позволяют оценить динамику активности печеночных ферментов под воздействием НДМА на протяжении экспериментального периода. Для более детального анализа гепатотоксического эффекта НДМА были исследованы медианные значения и межквартильные размахи активности АСТ, АЛТ и ГГТ в сыворотке крови крыс на 6-м месяце воздействия (таблица 3.11).

Таблица 3.11

Медианные значения (Me [Q25; Q75]) биохимических показателей крови крыс на 6-м месяце экспериментального периода воздействия НДМА

Группы животных (доза НДМА)	Биохимические показатели крови (Е/л)		
	АСТ	АЛТ	ГГТ
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	196,4 [186,6; 274,6]	60,3 [47,3; 78,6]	3,5 [3,0; 4,8]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	267,1 [243,7; 302,7]	70,4 [63,7; 74,8]	4,2 [2,8; 5,1]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	270,7 [204,1; 301,2]	60,8 [56,4; 67,7]	4,5 [4,0; 4,7]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	218,3 [195,0; 239,4]	83,3 [73,5; 89,2]	4,0 [3,4; 4,2]
Группа № 5 (контроль)	196,4 [186,6; 274,6]	60,3 [47,3; 78,6]	3,5 [3,0; 4,8]

Полученные данные свидетельствуют о сохранении гепатотоксического воздействия НДМА на протяжении всего шестимесечного экспериментального периода. На конец эксперимента (6-й месяц) статистический анализ выявил, что максимальная доза НДМА (группа № 1) по-прежнему оказывает наиболее выраженное воздействие на активность АСТ и ГГТ (таблица 3.12).

Таблица 3.12

**Матрица результатов непараметрического критерия
Манна-Уитни: сравнение распределений данных биомаркеров
эффекта от воздействия НДМА между группами животных
(6 месяцев от начала эксперимента)***

Значимость различий значений по показателю АСТ между экспериментальными группами после 6-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 35, Укрит = 42, $p \leq 0,05$	Уэмп = 28, Укрит = 37, $p > 0,05$	Уэмп = 15, Укрит = 29, $p \leq 0,05$	Уэмп = 22, Укрит = 33, $p \leq 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 18, Укрит = 40, $p \leq 0,05$	Уэмп = 32, Укрит = 35, $p > 0,05$	Уэмп = 21, Укрит = 28, $p \leq 0,05$	–	Уэмп = 25, Укрит = 38, $p \leq 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 27, Укрит = 45, $p \leq 0,05$	Уэмп = 41, Укрит = 50, $p > 0,05$	–	Уэмп = 19, Укрит = 31, $p \leq 0,05$	Уэмп = 33, Укрит = 44, $p \leq 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 52, Укрит = 55, $p > 0,05$	–	Уэмп = 48, Укрит = 53, $p > 0,05$	Уэмп = 37, Укрит = 49, $p > 0,05$	Уэмп = 29, Укрит = 41, $p > 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 52, Укрит = 55, $p > 0,05$	Уэмп = 27, Укрит = 45, $p \leq 0,05$	Уэмп = 18, Укрит = 40, $p \leq 0,05$	Уэмп = 35, Укрит = 42, $p \leq 0,05$
Значимость различий значений по показателю АЛТ между экспериментальными группами после 6-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 38, Укрит = 45, $p \leq 0,05$	Уэмп = 31, Укрит = 40, $p > 0,05$	Уэмп = 23, Укрит = 35, $p > 0,05$	Уэмп = 19, Укрит = 30, $p \leq 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 20, Укрит = 38, $p \leq 0,05$	Уэмп = 34, Укрит = 43, $p > 0,05$	Уэмп = 26, Укрит = 33, $p \leq 0,05$	–	Уэмп = 28, Укрит = 39, $p \leq 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 29, Укрит = 47, $p > 0,05$	Уэмп = 44, Укрит = 52, $p > 0,05$	–	Уэмп = 24, Укрит = 37, $p \leq 0,05$	Уэмп = 36, Укрит = 48, $p > 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 51, Укрит = 58, $p > 0,05$	–	Уэмп = 47, Укрит = 55, $p > 0,05$	Уэмп = 39, Укрит = 51, $p > 0,05$	Уэмп = 33, Укрит = 44, $p > 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 51, Укрит = 58, $p > 0,05$	Уэмп = 29, Укрит = 47, $p > 0,05$	Уэмп = 20, Укрит = 38, $p \leq 0,05$	Уэмп = 38, Укрит = 45, $p \leq 0,05$
Значимость различий значений по показателю ГГТ между экспериментальными группами после 6-месячной затравки различными дозами НДМА					
Группы животных	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Группа № 4	Группа № 5
Группа № 5	Уэмп = 40, Укрит = 47, $p \leq 0,05$	Уэмп = 53, Укрит = 60, $p > 0,05$	Уэмп = 31, Укрит = 49, $p > 0,05$	Уэмп = 22, Укрит = 40, $p \leq 0,05$	–
Группа № 4	Уэмп = 22, Укрит = 40, $p \leq 0,05$	Уэмп = 36, Укрит = 45, $p > 0,05$	Уэмп = 28, Укрит = 35, $p \leq 0,05$	–	Уэмп = 30, Укрит = 41, $p \leq 0,05$
Группа № 3	Уэмп = 31, Укрит = 49, $p > 0,05$	Уэмп = 46, Укрит = 54, $p > 0,05$	–	Уэмп = 26, Укрит = 39, $p \leq 0,05$	Уэмп = 38, Укрит = 50, $p > 0,05$
Группа № 2	Уэмп = 53, Укрит = 60, $p > 0,05$	–	Уэмп = 49, Укрит = 57, $p > 0,05$	Уэмп = 41, Укрит = 53, $p > 0,05$	Уэмп = 35, Укрит = 46, $p > 0,05$
Группа № 1	–	Уэмп = 33, Укрит = 42, $p > 0,05$	Уэмп = 25, Укрит = 37, $p > 0,05$	Уэмп = 21, Укрит = 32, $p \leq 0,05$	Уэмп = 40, Укрит = 47, $p \leq 0,05$

*значимые различия выделены зеленым цветом, незначимые – желтым

При этом минимальная доза НДМА (группа № 4) также продолжает вызывать статистически значимые изменения, особенно в отношении АСТ, что может указывать на повышенную чувствительность к НДМА при низких концентрациях. Активность АЛТ демонстрирует менее выраженные изменения по сравнению с другими ферментами.

Важно отметить, что, несмотря на отсутствие прогрессивного увеличения активности ферментов от 5-го к 6-му месяцу, сохранение статистически значимых различий между группами свидетельствует о хроническом гепатотоксическом воздействии НДМА. Таким образом, к концу эксперимента полученные данные свидетельствуют о влиянии НДМА на активность печеночных ферментов. Максимальная доза НДМА (группа № 1) оказывает наиболее выраженное воздействие на активность АСТ и ГГТ, в то время как минимальная доза (группа № 4) также вызывает статистически значимые изменения, особенно в отношении АСТ. Активность АЛТ демонстрирует менее выраженные изменения. Отсутствие статистически значимых различий в группе № 2 может свидетельствовать о нелинейном характере зависимости «доза-эффект». Полученные результаты подтверждают гепатотоксическое воздействие НДМА на протяжении всего экспериментального периода.

Результаты, полученные в ходе исследования, наглядно визуализированы на графиках, представленных ниже. Данные графические представления позволяют оценить степень влияния различных доз НДМА на активность ключевых печеночных ферментов. В частности, на графиках продемонстрированы медианные значения активности АСТ, АЛТ и ГГТ для каждой экспериментальной группы (группы № 1–№ 5) на протяжении всего периода наблюдения. Визуализация медианных значений позволяет нивелировать влияние возможных выбросов и получить более репрезентативную картину состояния печеночных показателей в каждой группе (Рис. 3.1–3.3).

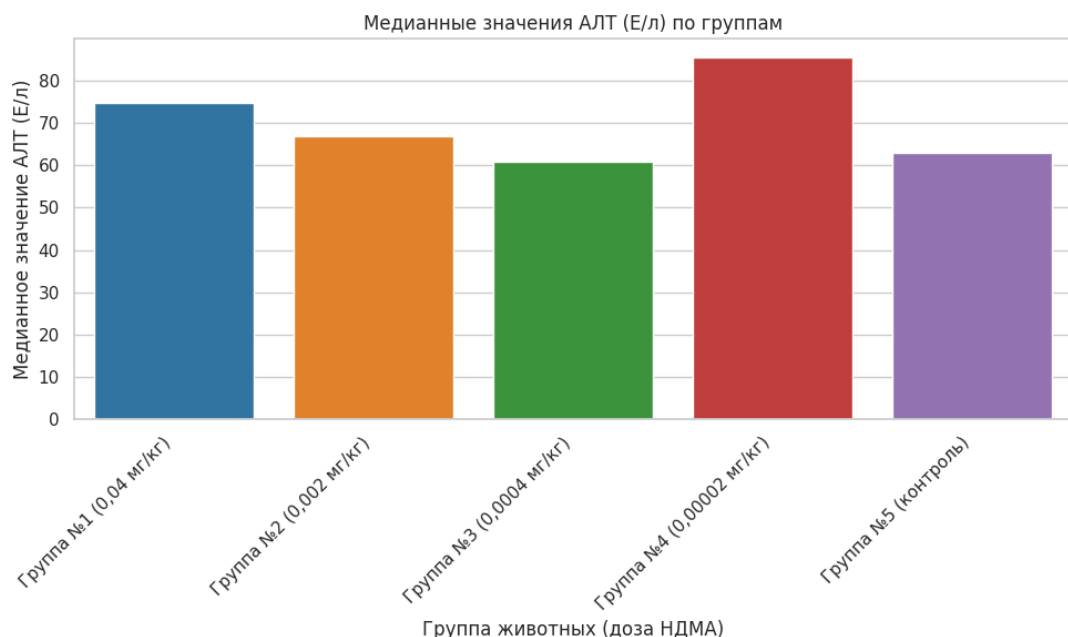


Рис. 3.1. Влияние различных доз НДМА на медианные значения активности АЛТ в группах животных за период исследования.

На рисунке 3.1 представлены медианные значения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) по завершении 6-месячного периода воздействия N-нитрозодиметиламина (НДМА) в различных экспериментальных группах. Анализ полученных данных указывает на отсутствие выраженной линейной зависимости «доза-эффект». В частности, максимальная доза НДМА (0,04 мг/кг) не ассоциируется с максимальной активностью АЛТ. При этом относительно повышенные значения АЛТ зафиксированы в группе, получавшей минимальную дозу НДМА (0,00002 мг/кг), что может свидетельствовать о вовлечении специфических механизмов гепатотоксического действия, инициируемых низкими концентрациями НДМА. Альтернативно наблюдаемые результаты могут объясняться феноменом гормезиса [Calabrese & Baldwin, 2003a], когда промежуточная доза НДМА (0,0004 мг/кг) индуцирует адаптивные или защитные процессы, приводящие к снижению активности АЛТ. Еще одним возможным объяснением является активация уникального механизма на уровне дозы 0,00002 мг/кг, способствующего

высвобождению АЛТ в кровотоки; данный механизм может не функционировать или ингибироваться при воздействии более высоких концентраций НДМА. Следует отметить, что установление конкретных механизмов, обуславливающих наблюдаемые отклонения от линейной зависимости «доза-эффект» в отношении активности АЛТ, не входило в задачи настоящего исследования. Тем не менее полученные результаты позволяют обозначить данное направление в качестве перспективного для дальнейших научных изысканий, в частности, посредством проведения экспериментов *in vitro* с использованием клеточных моделей гепатоцитов, а также углубленного анализа гистоморфологических изменений в ткани печени с применением методов количественной морфометрии.

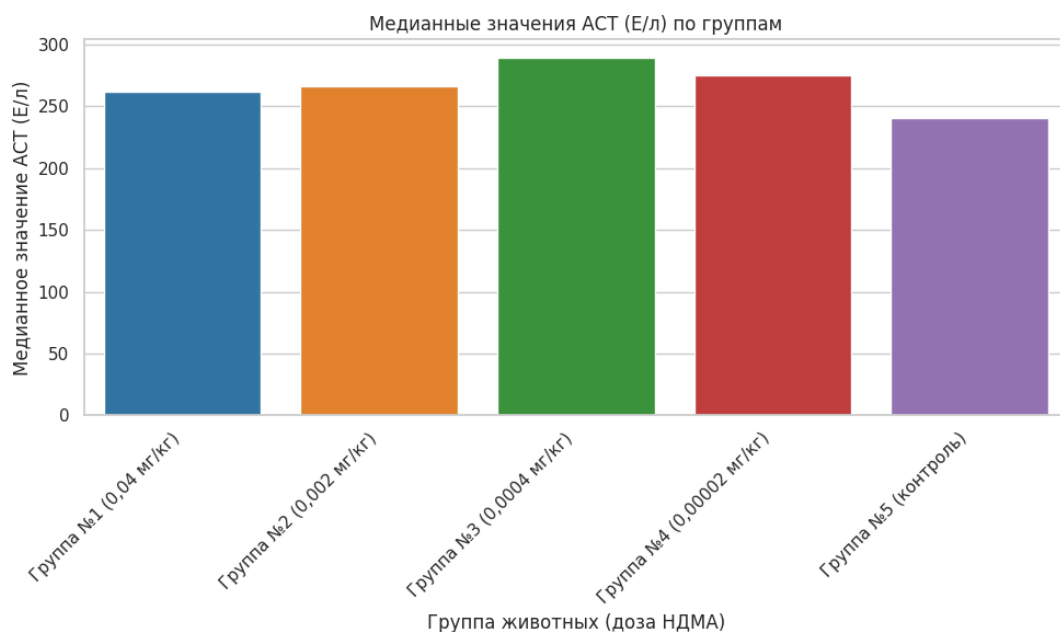


Рис. 3.2. Влияние различных доз НДМА на медианные значения активности АСТ в группах животных за период исследования.

На рисунке 3.2 представлены медианные значения активности АСТ по завершении 6-месячного периода воздействия N-нитрозодиметиламина в различных экспериментальных группах. Анализ полученных данных демонстрирует картину, сходную с наблюда-

емой в отношении активности АЛТ (Рис. 3.1). В частности, и для АСТ не отмечается выраженной линейной зависимости «доза-эффект». Максимальная доза НДМА (0,04 мг/кг) не приводит к максимальной активности фермента, а относительно повышенные значения АСТ регистрируются в группе, получавшей дозы НДМА ниже максимальной.

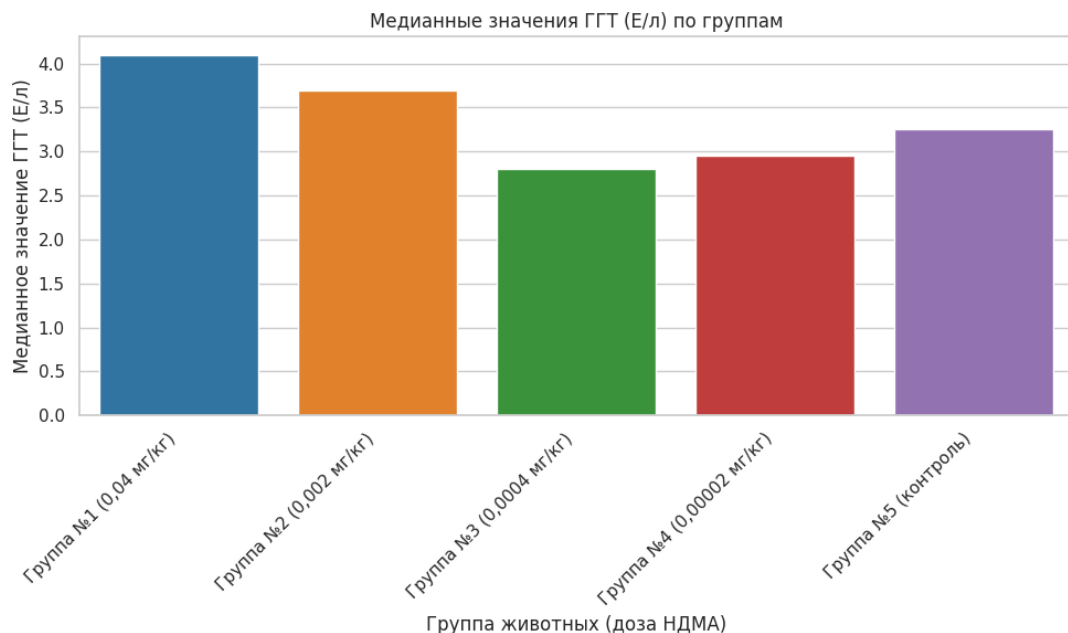


Рис. 3.3. Влияние различных доз НДМА на медианные значения активности ГГТ в группах животных за период исследования.

Рисунок 3.3. демонстрирует медианные значения активности ГГТ для различных групп животных. В отличие от АСТ и АЛТ, активность ГГТ, по-видимому, более чувствительна к воздействию НДМА в группе № 1 (0,04 мг/кг), где наблюдается существенное увеличение к 5-му месяцу (7,0 Е/л), с небольшим снижением к 6-му месяцу (5,3 Е/л). В то же время группы, получавшие более низкие дозы, демонстрируют менее выраженные изменения активности ГГТ.

Это может подтверждать гипотезу о том, что высокие дозы НДМА оказывают более выраженное повреждающее воздействие

на гепатоциты и эпителиальные клетки желчных протоков, приводя к повышенному высвобождению ГГТ в кровь.

Несмотря на то, что проведенный анализ медианных значений активности АЛТ и АСТ не выявил строгой линейной зависимости между дозой и эффектом, это не исключает возможности описания взаимосвязи между концентрацией НДМА и активностью указанных ферментов с использованием нелинейных регрессионных моделей. Как было отмечено ранее, сложные биологические процессы, такие как гормезис или активация специфических механизмов гепатотоксичности при низких дозах, могут приводить к отклонениям от линейной зависимости. В связи с этим для более точной характеристики взаимосвязи между дозой НДМА и активностью печеночных ферментов в следующем разделе будут рассмотрены возможности применения нелинейных регрессионных моделей, которые позволяют учитывать сложные, немонотонные зависимости.

Анализ зависимости активности печеночных ферментов (биомаркеров эффекта) и концентрации НДМА в крови (биомаркер экспозиции) от уровня экспозиции НДМА методом нелинейной парной регрессии

Основной целью было определение предикторов нарушения функции печени. Для достижения этой цели проводился анализ взаимосвязи между исходным уровнем активности печеночных ферментов и вероятностью их повышения под воздействием НДМА. В данном исследовании для оценки влияния дозы N-нитрозодиметиламина на активность печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, ГГТ) применялся статистический подход. Для более детального анализа взаимосвязи между дозой НДМА и активностью печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, ГГТ) целесообразно применение метода нелинейной парной регрессии. В данном подходе зависимыми переменными выступают показатели активности АСТ, АЛТ и ГГТ, а независимой переменной является доза НДМА. Анализ параметров нелинейных регрессионных моделей позволит оценить харак-

тер влияния дозы НДМА на активность каждого фермента, а также определить статистическую значимость выявленных зависимостей.

Для оценки возможности использования активности ГГТ, АСТ и АЛТ в качестве индикаторов превышения активности ферментов выше медианного значения контрольной группы в течение 1-6 месяцев исследования в зависимости от дозы N-нитрозодиметиламина был проведен ряд анализов логистической регрессии (таблица 3.13). В каждом анализе в качестве зависимой переменной выступало наличие или отсутствие превышения активности фермента выше медианного значения контрольной группы в период с 1-й по 6-й месяц исследования, а в качестве независимой переменной – исходная концентрация соответствующего фермента в крови.

Таблица 3.13

Результаты логистической регрессии для прогнозирования превышения активности печеночных трансаминаз (АЛТ и АСТ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке крови под воздействием N-нитрозодиметиламина (НДМА)

Переменная	ГГТ		АЛТ		АСТ	
	Оценка	Отн. Шансов (ед. изм.)	Оценка	Отн. Шансов (ед. изм.)	Оценка	Отн. Шансов (ед. изм.)
В0 (Константа)	0,397	0,345	0,065	1,067	-0,999	0,368
Исходная концентрация в крови	-1,065	1,487	-0,316	0,729	1,997	7,367
Статистика модели						
Хи-квадрат (df = 1)	9,975		0,630		34,524	
р-значение	0,002		0,427		< 0,001	
Итоговые потери (Log-Likelihood)	103,144		107,816		90,869	

Проведенный анализ исходных концентраций ферментов (ГГТ, АСТ и АЛТ) в рамках исследования влияния НДМА на их динамику позволил выявить значимые закономерности, которые могут быть использованы для прогнозирования изменений активности ферментов. Результаты исследования свидетельствуют о том, что исходные уровни ГГТ и АСТ обладают выраженной прогностической ценностью в отношении вероятности превышения их активности выше медианного значения контрольной группы в течение 6 месяцев под воздействием НДМА.

С целью выявления связи между концентрацией гамма-глутамилтрансферазы и дозой N-нитрозодиметиламина была применена модель логистической регрессии. В качестве зависимой переменной использовалась бинарная переменная, обозначающая превышение (1) или не превышение (0) уровня ГГТ медианного значения контрольной группы. Независимой переменной выступала доза N-нитрозодиметиламина. Оценка параметров модели осуществлялась методом максимизации правдоподобия (Maximum Likelihood Estimation, MLE). Итоговое значение функции потерь составило 222,73, что свидетельствует о приемлемом соответствии модели эмпирическим данным. Статистическая значимость построенной модели оценивалась с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). Результаты анализа показали высокую статистическую значимость модели: $\chi^2(1) = 20,417$ при $p < 0,00001$ (критический уровень значимости $\alpha = 0,05$) (таблица 3.14).

Таблица 3.14

Результаты логистической регрессии для прогнозирования дозы НДМА на основе уровня ГГТ в крови крыс

Параметр	Оценка	Отношение шансов (ед. изм.)
B0 (Константа)	-1,22055	30,37359
Уровень ГГТ в крови	0,29507	3,37010

Оценка параметров модели выявила, что константа (B_0) имеет значение $(-1,22)$, что соответствует отношению шансов (OR) в 0,295. Данный факт указывает на то, что при нулевой дозе НДМА вероятность наступления эффекта снижается в 0,295 раза относительно базового уровня, свидетельствуя о низкой вероятности положительного эффекта в отсутствие воздействия НДМА. Оценка коэффициента для дозы НДМА составила 30,37, что соответствует $OR = 3,37$.

На основании проведенного моделирования можно заключить, что доза НДМА оказывает существенное влияние на вероятность наступления наблюдаемого эффекта. Высокая статистическая значимость модели ($p < 0,00001$) подтверждает наличие выраженной зависимости между исследуемыми параметрами.

Визуальное представление зависимости вероятности воздействия НДМА от уровня ГГТ представлено на рисунке 3.4.

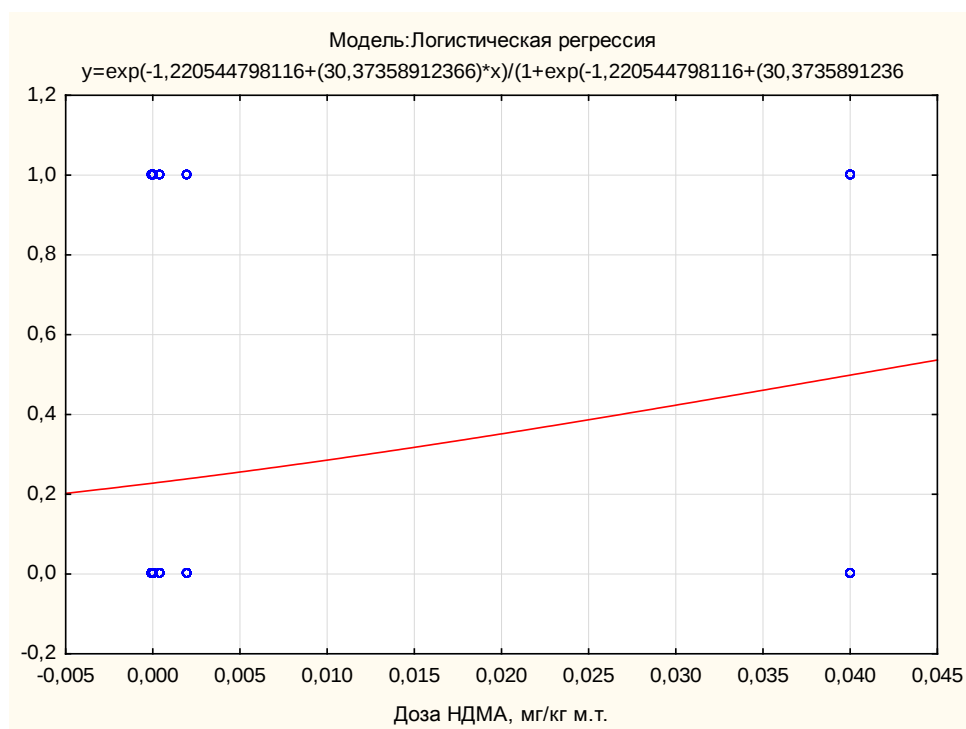


Рис. 3.4. Модель логистической регрессии, описывающая влияние дозы НДМА на вероятность повышения уровня ГГТ в крови у крыс.

График демонстрирует сигмоидальную форму кривой, что является типичным для моделей логистической регрессии. Визуальный анализ графика позволяет предположить, что по мере увеличения уровня ГГТ вероятность проявления эффекта, ассоциированного с воздействием НДМА, возрастает. Эта тенденция согласуется с положительным значением коэффициента регрессии и значением отношения шансов, превышающим единицу.

Наблюдаемая статистически значимая зависимость между уровнем ГГТ и дозой НДМА свидетельствует о том, что ГГТ может служить маркером эффекта воздействия НДМА на печень.

Проведенный анализ данных, включающий применение методов регрессионного моделирования, не выявил статистически достоверных моделей, описывающих взаимосвязь, соответствующую биологическому правдоподобию, между дозой N-нитрозодиметиламина и активностью ферментов АСТ и АЛТ. Это свидетельствует о том, что для данных показателей не удалось установить значимую зависимость, которая могла бы быть описана с использованием линейных или нелинейных регрессионных моделей.

Таким образом, ГГТ в сыворотке крови является статистически значимым биомаркером эффекта вероятности воздействия НДМА.

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение уровня ГГТ на единицу приводит к статистически значимому увеличению шансов проявления эффекта, связанного с воздействием НДМА, в 3,37 раза. Это подтверждается статистической значимостью модели логистической регрессии ($\chi^2(1) = 20,42$, $p < 0,00001$), что позволяет рассматривать ГГТ в качестве перспективного индикатора воздействия НДМА на печень.

В отличие от ГГТ, для ферментов АСТ и АЛТ не было установлено статистически значимых зависимостей между их активностью и дозой НДМА. Это может быть объяснено сложностью биологических взаимодействий, включая индивидуальные особенности метаболизма, адаптационные реакции организма и активацию компенсаторных механизмов, способных маскировать потенциальные эффекты. Кроме того, наблюдаемая вариабельность уровней АСТ

и АЛТ может быть обусловлена индивидуальной биологической изменчивостью [Calabrese and Baldwin, 2003b; Eaton and Gilbert, 2008; Andersen and Krewski, 2009; Hernández, Parrón, Alarcón, 2011].

На основании полученных эмпирических данных можно заключить, что уровень ГГТ является наиболее информативным биомаркером для оценки гепатотоксического воздействия НДМА. В связи с этим рекомендуется его использование в качестве ключевого параметра при установлении реперного уровня воздействия (BMDL) НДМА.

С целью оценки применимости НДМА в качестве биомаркера экспозиции было проанализировано содержание НДМА в периферической крови лабораторных животных после воздействия различных доз вещества. В ходе эксперимента установлено, что в контрольной группе (без введения НДМА) концентрация НДМА в крови была минимальной (0,00 нг/мл). В группах, получавших НДМА, наблюдалось повышение уровня вещества в крови, при этом медианные значения концентрации варьировались в зависимости от полученной дозы (см. таблицу 3.15).

Таблица 3.15

**Концентрация НДМА в периферической крови
экспериментальных животных, установленная в ходе
хронического эксперимента, Me [Q25; Q75], нг/мл**

Группы животных (доза НДМА)	Концентрация НДМА в крови по экспериментальной группе
Группа № 5 (контроль)	0,00 [0,00; 0,00295]
Группа № 4 (0,00002 мг/кг массы тела)	0,00351 [0,00350; 0,00358]
Группа № 3 (0,0004 мг/кг массы тела)	0,50525 [0,448; 0,5068]
Группа № 2 (0,002 мг/кг массы тела)	0,546 [0,0; 0,613]
Группа № 1 (0,04 мг/кг массы тела)	0,79 [0,47; 0,79]

Концентрация НДМА в крови лабораторных животных варьировала от 0,00351 [0,00350; 0,00358] до 0,79 [0,47; 0,79] нг/мл в экспериментальных группах.

Для установления связи между поступающей дозой и достигнутой концентрацией НДМА в крови как биомаркера экспозиции был применен метод бинарной логистической регрессии. В качестве независимой переменной выступала поступающая доза НДМА, а в качестве зависимой – его концентрация в крови, измеренная через определенное время после введения.

В рамках данного исследования был проведен анализ зависимости между дозой N-нитрозодиметиламина и вероятностью наступления бинарного исхода, закодированного в виде «0» и «1». Здесь «0» соответствует концентрации НДМА в крови ниже среднего значения, а «1» – выше среднего значения.

Для оценки статистической значимости модели использовался критерий хи-квадрат. Значимая величина χ^2 для одной степени свободы составляет 3,84. Результаты теста хи-квадрат ($\chi^2(1) = 4,37$; $p = 0,037$) указывают на статистически значимую связь между поступающей дозой НДМА и вероятностью исхода на уровне значимости $\alpha = 0,05$. Параметры модели представлены в таблице 3.16.

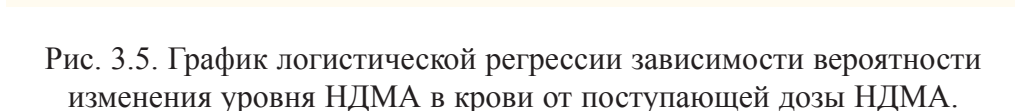
Таблица 3.16

Параметры модели логистической регрессии зависимости вероятности изменения уровня НДМА в крови экспериментальных животных от поступающей дозы НДМА

Параметр	Оценка (В)	Отношение шансов (OR)
Поступающая доза НДМА (В0)	0,085679	1,089457
Зав. пер. (концентрация НДМА в крови)	149,1888	6,7899

Коэффициент В0 (перехват), соответствующий условиям отсутствия поступления НДМА, равен 0,086. Отношение шансов для этого коэффициента составляет 1,09. Следовательно, данный параметр не оказывает значимого влияния на зависимую переменную (вероятность повышения концентрации НДМА в крови).

Графическое изображение полученной в ходе исследования логистической регрессии представлено на рисунке 3.5.



роятности превышения среднего уровня его концентрации в крови, что свидетельствует о выраженной дозозависимой реакции организма на воздействие данного вещества.

Следовательно, концентрация НДМА в крови может рассматриваться как потенциальный маркер экспозиции, то есть показатель, отражающий степень воздействия данного вещества на организм.

Далее в настоящей монографии будут рассмотрены методологические подходы и практические аспекты установления реперных уровней воздействия для НДМА, опираясь на полученные данные об информативности ГГТ как биомаркера гепатотоксичности и концентрации НДМА в крови как маркера экспозиции.

Установление реперного уровня НДМА на основании предварительных данных токсикологического эксперимента на крысах на основе уровня ГГТ

Для определения безопасных уровней воздействия веществ методом Benchmark Dose Lower Confidence Limit (BMDL), в частности, с использованием подхода скользящего окна (The «sliding window» method), широко применяются результаты токсикологических исследований на животных моделях. В рамках этих исследований ключевым этапом является расчет OR для оценки связи между экспозицией и развитием неблагоприятных эффектов для всего изученного диапазона концентраций исследуемого вещества.

Метод скользящего окна предполагает последовательное рассмотрение ряда гипотез о наличии связи между конкретным уровнем экспозиции и возникновением нарушений здоровья. При этом для каждой рассматриваемой гипотезы формируются две группы: контрольная, состоящая из животных, подвергшихся воздействию концентраций ниже рассматриваемой, и опытная, включающая животных, экспонированных концентрациям выше рассматриваемой.

Для каждой гипотезы проводится статистическая оценка наличия связи между экспозицией и эффектом с использованием отно-

шения шансов в качестве меры ассоциации. Полученные значения OR используются для построения математических моделей, описывающих зависимость между дозой поступившего химического вещества и отношением шансов (доза-ответ). Эти модели позволяют количественно оценить риск развития неблагоприятных эффектов при различных уровнях экспозиции.

Важно отметить, что данная методика, применяемая в контексте количественной оценки неканцерогенного риска, особенно при обосновании гигиенических нормативов, соответствует требованиям, установленным в ЕАЭС по обоснованию гигиенических нормативов содержания химических веществ и биологических агентов в пищевой продукции на основе критериев риска для здоровья. Это обеспечивает соответствие результатов исследований регуляторным требованиям и их применимость в практике установления безопасных уровней воздействия [Peto, Gray and Branton, 1991].

Для обеспечения надежности полученных результатов проводится оценка адекватности построенных математических моделей. Эта оценка базируется на однофакторном дисперсионном анализе с использованием F-критерия Фишера, позволяющего оценить статистическую значимость модели и ее способность адекватно описывать наблюдаемые данные.

При построении математических моделей необходимо учитывать неопределенность оценок. Для этого осуществляется определение 95%-ных доверительных границ для точечных оценок допустимых уровней маркеров экспозиции. Эти доверительные интервалы позволяют оценить диапазон вероятных значений безопасного уровня воздействия и учитывать вариабельность данных.

Установление реперного уровня НДМА на основании предварительных данных токсикологического эксперимента на крысах

В результате применения описанного выше метода скользящего окна была построена модель зависимости вероятности измене-

ния активности γ -глутамилтрансферазы (маркер эффекта) от дозы (НДМА) (маркера экспозиции). Параметризация модели осуществлялась на основе рассчитанных значений OR.

Определение параметров математической модели (3.1) «экспозиция-ответ» (b_0, b_1) производится методом наименьших квадратов с применением пакетов программ по статистическому анализу данных (например, Statistica 10.0) [Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: Монография].

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 x_1)}}, \text{ где} \tag{3.1}$$

p – вероятность ответа;
 X_1 – величина дозы, мг/кг массы тела в день;
 b_0, b_1 – параметры модели.

Результаты параметризации представлены графически на рис. 3.6. Параметры модели представлены в таблицах 3.17-3.18.

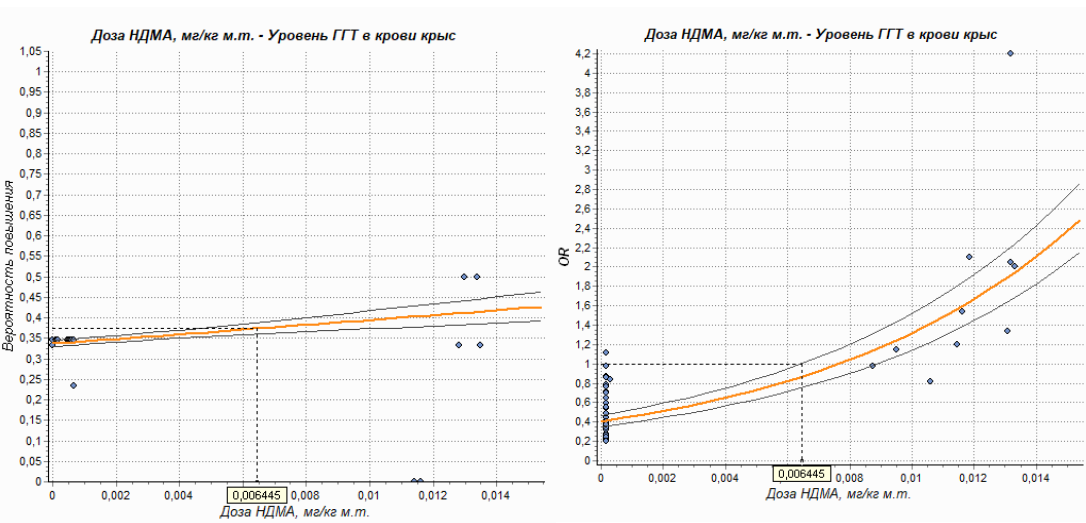


Рис. 3.6. Результаты параметризации зависимости концентрации ГГТ в крови (маркера эффекта) от дозы НДМА (величины экспозиции). График отношения шансов (справа), график вероятности (слева).

Таблица 3.17

**Результаты регрессионного анализа влияния дозы НДМА
на концентрацию ГГТ в крови (с указанием вероятности
повышения биомаркера)**

Вероятность	Показатель	Показатель	b0	Ошибка	b1	Ошибка	F	p	R2	Реперный уровень
Повышение биомаркера эффекта	Доза НДМА, мг/кг м.т.	Уровень ГГТ в крови крыс	-0,6748	0,00029	24,75068	23,447	26,12657	0,00001	0,33	0,006445

В таблице 3.17 представлены результаты регрессионного анализа, отражающие влияние дозы N-нитрозодиметиламина на концентрацию гамма-глутамилтрансферазы в крови крыс. Основываясь на результатах регрессионного анализа, наблюдается статистически значимая связь между дозой НДМА и концентрацией ГГТ в крови крыс ($p < 0,00001$). Положительный коэффициент b1 (24,75) указывает на то, что увеличение дозы НДМА связано с повышением уровня ГГТ. Значение R2 (0,33) показывает, что модель объясняет 33% дисперсии уровня ГГТ дозой НДМА. В результате регрессионного анализа был установлен реперный уровень для дозы НДМА, который составил 0,006445 мг/кг м.т., при превышении которого ожидается повышение биомаркера эффекта.

Таблица 3.18

**Рассчитанные значения отношения шансов зависимости
концентрации ГГТ в крови от дозы поступающей НДМА**

OR	Показатель	Показатель	a0	a1	F	p	R2
Повышение биомаркера эффекта	Доза НДМА, мг/кг м.т.	Уровень ГГТ в крови крыс	-0,89938	117,4716	61,81866	0,00	0,36

Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимой связи между дозой НДМА и повышением уровня ГГТ в

крови крыс. Значение F-статистики ($F = 61,82$) и соответствующее р-значение ($p < 0,001$) указывают на значимость регрессионной модели. Коэффициент детерминации ($R^2 = 0,36$) демонстрирует, что 36% вариации в логарифме отношения шансов повышения уровня ГГТ объясняется вариацией дозы НДМА.

Модель логистической регрессии выявила статистически значимую и положительную связь между дозой НДМА и повышением уровня ГГТ в крови крыс. Это указывает на то, что увеличение дозы НДМА связано с повышенной вероятностью повышения уровня ГГТ, что подтверждает его роль в качестве биомаркера токсического воздействия НДМА.

Анализ данных токсикологического эксперимента на лабораторных животных выявил статистически значимую зависимость между дозой НДМА и изменением активности ГГТ в сыворотке крови (см. таблицу 3.14). Дополнительное моделирование вероятности повышения уровня ГГТ при увеличении экспозиции НДМА, а также анализ методом скользящего окна подтвердили статистическую значимость данной корреляции.

На основании полученных данных нижняя доверительная граница экспозиции, вызывающей минимально значимый эффект (BMDL), для НДМА была оценена в 0,006445 мг/кг массы тела. В соответствии с методическими подходами к оценке риска, принятыми в странах ЕАЭС [Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека], к величине BMDL были последовательно применены следующие факторы неопределенности:

1. Фактор межвидовой экстраполяции, равный 10: данный коэффициент учитывает различия в чувствительности к воздействию химического вещества между экспериментальными животными и человеком. Он отражает вариабельность физиологических, метаболических и фармакокинетических характеристик между видами. Применение коэффициента 10 обусловлено необходимостью обеспечения достаточного запаса безопасности, учитывающего потен-

циальную повышенную чувствительность человека по сравнению с экспериментальными животными.

2. Фактор экстраполяции с контролируемых условий эксперимента на реальные условия экспозиции, равный 6: этот коэффициент учитывает разницу между условиями эксперимента и реальными сценариями воздействия на человека. Экспериментальные исследования, как правило, используют фиксированные, относительно высокие дозы, в то время как в реальной жизни экспозиция может быть переменной, зависеть от концентрации вещества, например, в пищевых продуктах, образа жизни и индивидуальных привычек. Неопределенность, связанная с путем воздействия, также учитывается: в экспериментах часто используется один путь воздействия (в настоящем исследовании, например, пероральный), тогда как в реальной жизни вещество может попадать в организм различными путями (вдыхание, питье, контакт с кожей). Наконец, коэффициент учитывает разницу в продолжительности воздействия: эксперименты часто проводятся в хроническом режиме, но реальное воздействие может быть прерывистым или меняться с течением времени. Выбор коэффициента 6 обусловлен необходимостью учета комплексности и вариабельности условий реального воздействия, которые не всегда полностью воспроизводятся в экспериментальных условиях.

3. Фактор использования BMDL в качестве отправной точки для установления допустимой суточной дозы, равный 4: этот коэффициент относится к неопределенности, связанной с использованием нижней доверительной границы (BMDL) для расчетной дозы, вызывающей определенный эффект, для определения ДСД. BMDL представляет собой нижнюю границу доверительного интервала для BMD (Benchmark Dose), что снижает риск недооценки опасности. Использование BMDL является консервативным подходом, который, как правило, учитывает неопределенности, связанные с оценкой дозы, вызывающей определенный эффект, включая вариабельность ответа в популяции и ошибки измерений. Применение коэффициента 4 отражает стремление к обеспечению дополнитель-

ного запаса безопасности при использовании статистических оценок, основанных на ограниченном количестве данных.

4. Фактор, учитывающий экстраполяцию результатов исследований при хроническом воздействии (фактор, учитывающий воздействие в период до года), равный 4: этот коэффициент учитывает неопределенность, возникающую при экстраполяции результатов исследований с воздействием, длящимся менее года, на более длительные периоды воздействия (например, в течение всей жизни). Краткосрочные эксперименты могут не отражать в полной мере долгосрочные эффекты. Коэффициент 4 учитывает потенциальные изменения в механизмах токсичности, кумулятивный эффект и адаптационные процессы, которые могут развиваться при длительном воздействии.

Результирующий комбинированный фактор неопределенности, составивший 960, обосновывает установление ДСД/RfD на основании полученной величины BMDL. С учетом данного совокупного фактора неопределенности ДСД/RfD для НДМА была установлена на уровне $6,7 \times 10^{-6}$ мг/кг массы тела.

Полученная величина, в отличие от ранее предложенной US EPA RfD [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine] (8×10^{-6} мг/кг массы тела), представляется более обоснованной и надежной. Преимущество настоящей RfD обусловлено рядом факторов:

- Применение современных методов анализа: в работе использованы современные аналитические методы, обеспечивающие повышенную точность и чувствительность при определении концентраций НДМА. Это позволило более адекватно оценить экспозицию и, как следствие, снизить неопределенность при расчете RfD.

- Меньший фактор неопределенности: в процессе установления RfD минимизированы факторы неопределенности, связанные с экстраполяцией данных с животных на человека, учетом индивидуальной чувствительности и другими переменными. Это достигнуто за счет использования более полных данных и применения стати-

стических методов, позволяющих более точно оценить популяционные риски.

– Более точная оценка зависимости «доза-эффект»: проведен детальный анализ зависимости «доза-эффект», учитывающий как пороговые, так и беспороговые эффекты НДМА. Это позволило более точно определить уровень экспозиции, при котором не наблюдается значимого риска для здоровья человека.

Таким образом, референтная доза НДМА, полученная в рамках настоящего исследования (0,000067 мг/кг массы тела), представляется обоснованной для приоритетного применения при оценке рисков для здоровья населения.

Анализ регрессионной модели, представленный ранее в этой монографии, показал, что наличие НДМА в крови указывает на факт поступления его извне, что согласуется с условиями эксперимента. Однако следует учитывать, что НДМА может образовываться эндогенно в организме [Зайцева, Уланова, Нурисламова, Мальцева, 2018; Боговский, Веттиг, 1988; Nair et al., 1996]. В рамках исследованного диапазона доз не удалось построить надежную модель, позволяющую определить пороговый уровень концентрации НДМА в крови, который можно было бы считать однозначным биомаркером экспозиции, так как эндогенное образование НДМА может влиять на базовый уровень его содержания в крови.

В рамках проведенного исследования детализированы характеристики зависимости «экспозиция-эффект» применительно к оценке риска, обусловленного воздействием N-нитрозодиметилamina. Подтверждено, что НДМА может вызывать как эффекты, не имеющие порога, так и эффекты, проявляющиеся лишь при достижении определенного уровня воздействия. Установлено, что печень является основным органом-мишенью при развитии неканцерогенных эффектов.

В качестве потенциальных биомаркеров негативного воздействия рассмотрены изменения активности ферментов в сыворотке крови. Установлена статистически значимая связь между воздействием НДМА и уровнем ГГТ, что указывает на перспек-

тивность использования данного фермента как биомаркера гепатотоксичности.

В то же время для ферментов АСТ и АЛТ выраженной зависимости с дозой НДМА не обнаружено, что, вероятно, связано со сложностью биологических процессов. Концентрация НДМА в крови продемонстрировала дозозависимую реакцию, что позволяет рассматривать ее как потенциальный маркер экспозиции, однако необходимо учитывать возможность эндогенного образования НДМА.

На основании проведенного анализа предложена референтная доза НДМА (0,000067 мг/кг м.т.), которая может быть использована для оценки рисков для здоровья населения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СОВМЕСТНОЙ РОССИЙСКО-ВЬЕТНАМСКОЙ РАБОТЫ В 2023-2024 ГГ.

В ходе выполнения этапов 2023 и 2024 годов была успешно реализована программа обучения и повышения квалификации специалистов Национального института по контролю качества пищевых продуктов (NIFC) в области оценки рисков здоровью населения, связанных с воздействием химических факторов, а также в области применения биомаркеров экспозиции и эффекта для обеспечения безопасности пищевой продукции.

На базе NIFC в 2023 году проведены обучающие семинары, посвященные методологии оценки риска, биомаркерам экспозиции и эффекта, в которых приняли участие 8 специалистов. Кроме того, на базе ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН были организованы практические семинары по отбору биоматериала у лабораторных животных. В рамках повышения квалификации 4 специалиста NIFC освоили методики забора крови у лабораторных животных.

В 2024 году программа обучения была продолжена: 5 специалистов NIFC приняли участие в стажировке по технике забора крови у лабораторных животных, проведенной на базе NIFC (г. Ханой).

Данная стажировка была сфокусирована на отработке правильной техники забора, соблюдении стандартов асептики и антисептики, а также минимизации стресса для животных. Улучшение этих ключевых навыков непосредственно повлияло на точность и воспроизводимость экспериментальных данных, обеспечивая более надежные результаты исследований.

Проведенное в рамках федерального проекта «Санитарный щит» комплексное исследование по разработке параметров для количественной оценки неканцерогенного риска, формируемого экспозицией N-нитрозодиметиламином, в условиях хронического токсикологического эксперимента, внесло существенный вклад в понимание механизмов формирования рисков для здоровья на-

селения, связанных с воздействием N-нитрозаминов, в частности, НДМА, поступающего с пищевыми продуктами.

Установлены параметры зависимости «экспозиция-эффект» для НДМА, выявлен пороговый уровень НДМА при оценке его влияния на ключевой орган-мишень – печень. Идентифицирована статистически значимая связь между активностью гамма-глутамил-трансферазы и дозой НДМА, что позволяет рассматривать ГГТ как перспективный биомаркер гепатотоксичности. Обоснована возможность использования концентрации НДМА в крови в качестве маркера его экзогенного поступления.

На основе анализа зависимости «доза-эффект» предложена референтная доза НДМА, которая может быть использована для оценки рисков при пероральном поступлении. Полученные данные являются научной основой для актуализации действующих уровней безопасности в пищевой продукции с учетом новых данных о пороговых уровнях воздействия и специфике биомаркеров.

Успешное международное сотрудничество с вьетнамскими учеными позволило объединить усилия для разработки глобальных стратегий контроля за содержанием N-нитрозаминов в пищевой цепи. Результаты исследования служат прочной основой для дальнейших изысканий, направленных на изучение механизмов эндогенного образования НДМА, валидацию биомаркеров в различных популяциях и разработку профилактических технологий, направленных на снижение содержания N-нитрозаминов в пищевых продуктах.

В 2025 году на основе полученных данных планируется проведение эпидемиологического исследования, направленного на уточнение и подтверждение токсикологических параметров, установленных в рамках данной работы.

Практическая значимость работы заключается в возможности внедрения научно обоснованных нормативов, ориентированных на минимизацию рисков для здоровья населения, а также в разработке рекомендаций по профилактике негативного воздействия НДМА, в

частности, гепатотоксических эффектов, связанных с его алиментарным поступлением. Результаты исследований представляют интерес для органов Роспотребнадзора, производителей пищевой продукции и международных организаций, занимающихся обеспечением пищевой безопасности, и потенциально могут способствовать повышению эффективности мероприятий по охране здоровья населения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЕАЭС** – Евразийский экономический союз
- NIFC** – Национальный институт контроля пищевых продуктов
- ФБУН ФНЦ МПТ УРЗН** – Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»
- НДМА** – N-нитрозодиметиламин
- НМЭА** – N-нитрозометилэтиламин
- НДЭА** – N-нитрозодиэтиламин
- НДБА** – N-нитрозодибутиламин
- НДПА** – N-нитрозодипропиламин
- НПипНА** – N-нитрозопиперидинамин
- НПирНА** – N-нитрозопирролидинамин
- НМорфНА** – N-нитрозоморфолинамин
- НДФА** – N-нитрозодифениламин
- НПО** – нижний предел определения
- СРВ** – Социалистическая Республика Вьетнам
- RfD** – референтная доза
- IARC** – Международное агентство по изучению рака
- US EPA** – Агентство по охране окружающей среды США
- SFo** – фактор канцерогенного потенциала при пероральном поступлении
- LOAEL** – минимальный уровень, при котором развивается негативный эффект
- NOAEL** – максимальный уровень, при котором отсутствует негативный эффект
- LD50** – доза, вызывающая гибель 50% особей в экспериментальной группе
- ADD** – среднесуточная доза
- LADD** – средние суточные дозы, усредненные с учетом ожидаемой средней продолжительности жизни человека
- CR** – канцерогенный риск
- HQ** – коэффициент опасности

HI – индекс опасности

ДСД – допустимая суточная доза

BMDL – уровень реперной дозы

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза

MRL – минимальный уровень риска

UF – фактор неопределенности

GC-MS/MS – газовая хроматография-масс-спектрометрия/масс-спектрометрия

OR – отношение шансов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Боговский П.А., Веттиг К. Гигиенические аспекты изучения канцерогенных N-нитрозосоединений // Гигиена и санитария. – 1988. – № 4. – С. 58-63.

Гайдай Е.А., Гайдай Д.С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля. // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 4. – С. 78-85.

Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., Попова Н.А., Мальцева О.А. Количественные показатели нитратов в моче и N-нитрозодиметиламина в крови как маркеры пероральной экспозиции нитратов, поступающих с питьевой водой // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 11. – С. 1087-1092. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1087-92>.

Землянова М.А., Долгих О.В. Биомаркеры эффекта как показатели и критерии воздействия техногенных химических факторов окружающей и производственной среды на здоровье // Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. – 2010. – № 11. – С. 31-33.

Комиссия Кодекс Алиментариус. Анализ рисков. В кн.: Комиссия Кодекс Алиментариус. Руководство по процедуре. Издание двадцать восьмое. Рим: ФАО/ВОЗ, 2023. – С. 100-172.

Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека. Евразийская экономическая комиссия, 2018.

Методические указания по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/3ae/MU-po-ustanovleniyu-i-obosnovaniyu-gigienicheskikh-normativov.pdf>.

Методологические аспекты оценки риска и его эволюции при воздействии на здоровье разнородных факторов среды обитания, условий и образа жизни. В кн.: Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: Монография. В 2-х томах. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва – Пермь: Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, 2024. – С. 63-227. – EDN UKGYGL.

Мужилян А.А., Заикин К.О., Гущин Я.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Сравнительная морфология печени и желчного пузыря человека и лабораторных животных // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 4. – С. 117-127.

Опыт российско-вьетнамского сотрудничества в области развития обеспечения химической безопасности пищевой продукции: монография / П.З. Шур, Д.В. Суворов, Т.С. Уланова [и др.]; под ред. А.Ю. Поповой, отв. ред. Н.В. Зайцева, В.Б. Алексеев, Le Thi Hong Hao. – Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2022. – 279 с.

Оценка риска для здоровья, связанного с содержанием приоритетных потенциально опасных компонентов, выявленных в мясных и мясорастительных консервах, предназначенных для питания детей раннего возраста / Д. В. Суворов, Н. В. Зайцева, П. З. Шур [и др.] // Вопросы питания. – 2023. – Т. 92, № 4 (548). – С. 38-48. – DOI 10.33029/0042-8833-2023-92-4-38-48. – EDN DQDUFJ.

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.

Разработка методических указаний по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска здоровью человека. Отчет о научно-исследовательской работе. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/iblock/6a5/Otchet-o-NIR-1-etap.pdf>.

Семакова А.П., Германчук В.Г., Шавина Н.Ю. Современный подход к оценке качества лабораторных животных, используемых в экспериментальных целях // Здоровье населения и среда обитания. – ЗНиСО. –2021. – № 2. – С. 84-90. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-332-2-84-90>.

Суворов Д.В., Шур П.З., Зеленкин С.Е. К вопросу об определении допустимой суточной дозы суммы N-нитрозаминов для детей раннего возраста // Анализ риска здоровью. – 2024. – № 4. – С. 72-80. DOI: [10.21668/health.risk/2024.4.07](https://doi.org/10.21668/health.risk/2024.4.07).

Шагидулин М., Волкова Е., Метельский С., Севастьянов В. Опыт организации и проведения экспериментальных исследований в ФБГУ «НМИЦ ТИО имени акад. В.И. Шумакова» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19, № 4. – С. 104-112. DOI: <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-4-104-112>.

Andersen M.E., Krewski D. Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy // Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. – 2009. – Vol. 12, No. 5-6. – P. 334-361. DOI: [10.1080/10937400903305260](https://doi.org/10.1080/10937400903305260).

Anderson L.M., Giner-Sorolla A., Ebeling D., Budinger J.M. Effects of imipramine, nitrite, and dimethylnitrosamine on reproduction in mice. // Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. – 1978. – № 19. – P. 311-327.

Barnes J.M., Magee P.N. Some toxic properties of dimethylnitrosamine. // British Journal of Industrial Medicine. – 1954. – № 11. – P. 167-174.

Boniol M, Koechlin A, Boyle P. 2017. Meta-analysis of occupational exposures in the rubber manufacturing industry and risk of cancer. // Int J Epidemiol. – 2017. – Vol. 46, № 6. – P. 1940-1947. <http://doi.org/10.1093/ije/dyx146>.

Calabrese E. J., Baldwin L. A. Defining hormesis // Human & Experimental Toxicology. – 2003a. – Vol. 22, № 8. – P. 377-378. DOI: [10.1191/0960327103ht357oa](https://doi.org/10.1191/0960327103ht357oa).

Calabrese E.J., Baldwin L.A. Hormesis: The Dose-Response Revolution. // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2003b. – Vol. 43, No. 1. – P. 175-197. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223.

Carroll E.E. Going GLP: Conducting Toxicology Studies in Compliance with Good Laboratory Practices. // US Army Med. Dep. J. – 2016. – P. 64-69.

Chooi K.F., Rajendran D.B., Phang S.S., Toh H.H. 2016. The dimethylnitrosamine induced liver fibrosis model in the rat. // JoVE (Journal of Visualized Experiments). – 2016. – № 112. – e54208.

Cruz A., Gomes V., Landeira-Fernandez J. An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder // Personality Neuroscience. – 2024. – Vol. 7. DOI: 10.1017/pen.2023.6.

Deveci G., Tek N.A. N-nitrosamines: a potential hazard in processed meat products // J. Sci. Food Agric. – 2024. – Vol. 104, No 5. – P. 2551–2560. DOI: 10.1002/jsfa.13102.

Eaton D.L., Gilbert S.G. Principles of toxicology. In: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (7th ed.). Kansas city:.. McGraw-Hill, 2008. – P. 11-49.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk assessment of N-nitrosamines in food: EFSA-Q-2020-00665 // EFSA Journal. – 2023. – Vol. 21, No 3. – 278 p. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. URL: <https://rm.coe.int/t/168007a67b> (дата обращения: 27.11.2024).

Hernández A.F., Parrón T., Alarcón R. (2011). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. Toxicology, 280(1-2), 1-11. DOI: 10.1016/j.tox.2010.11.008.

Hidajat M., McElvenny D.M., Ritchie P., Darnton A., Mueller W., van Tongeren M., Agius R.M., Cherrie J.W., de Voch F. Lifetime exposure to rubber dusts, fumes and N-nitrosamines and cancer mortality in a cohort of British rubber workers with 49 years follow-up. // Oc-

cup. Environ. Med. – 2019. – Vol. 76, № 4. – P. 250-258. <http://doi.org/10.1136/oemed-2018-105181>.

High CYP2E1 activity correlates with hepatofibrogenesis induced by nitrosamines / J. Gao, G.-J. Wang, Z. Wang, N. Gao, J. Li, Y.-F. Zhang, J. Zhou, H.-X. Zhang [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, No 68. – P. 112199-112210. DOI:10.18632/oncotarget.22937.

Khanna S.D., Puri D. The hepatotoxic effects of dimethyl-nitrosamine in the rat. // *Journal of Pathology and Bacteriology*. – 1966. – № 91. – P. 605-608.

Kogure K., Ishizaki M., Nemoto M., Kuwano H., Makuuchi M. A comparative study of the anatomy of rat and human livers // *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* – 1999. – № 6. – P. 171-175.

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.

Le Thi Hong Hao, Dang Thu Nien, Cao-Son Tran et al. Heterocyclic amines detected in cooked meats and fishes from street markets and restaurants in the city of Hanoi, Vietnam: A Pilot local field investigation findings in 2020. / Le Thi Hong Hao, Dang Thu Nien, Cao-Son Tran, Nguyen Thi Minh Hoa, Nguyen Thi Hong Ngoc, Binh Thanh Nguyen, Ngoan Tran Le // *Toxicology Reports*. – 2022. – № 9. – P. 1523-1527. DOI: 10.1016/j.toxrep.2022.07.004.

Lebedeva-Nesevrya N.A., Le Thi Hong Hao, Barg A.O. et al. A comparative study of food consumption patterns among children younger than three in Russia and Vietnam. / N.A. Lebedeva-Nesevrya, Le Thi Hong Hao, A.O. Barg, Tran Cao Son, Bui Quang Dong, Vu Ngoc Tu, D.V. Suvorov // *Health Risk Analysis*. – 2019. – № 4. – P. 77-83. DOI: 10.21668/health.risk/2019.4.08.eng.

Lee H. Dietary exposure assessment for volatile N-nitrosamines from food and beverages for the U.S. population. // *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*. – 2024. – № 41. – P. 1-12. doi: 10.1080/19440049.2024.2398704.

Lijinsky W., Reuber M.D. Carcinogenesis in rats nitrosodimethylamine and other nitrosomethylalkylamines at low doses // *Cancer Lett.* – 1984. – № 22. – P. 83-88.

Liteplo R.G., Meek M.E. N-nitrosodimethylamine: hazard characterization and exposure–response analysis // *Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews.* – 2001. – Vol. 19, № 1. – P. 281-304, DOI: 10.1081/GNC-100103588.

Maduagwu E.N., Bassir O. A comparative assessment of toxic effects of dimethylnitrosamine in six different species. // *Toxicology and Applied Pharmacology.* – 1980. – № 53. – P. 211-219. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90421-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90421-4).

Moniuszko-Jakoniuk J., Roszczenko A., Dzieciol J. Influence of low concentrations of N-nitrosodimethylamine on the iron level and histopathological picture of rats liver, spleen and bone marrow. // *Acta Pol Toxicol.* – 1999. – Vol. 7, № 2. – P. 179-186.

Nair J., Ohshima H., Nair U.J., Bartsch H. Endogenous formation of nitrosamines and oxidative DNA-damaging agents in tobacco users // *Crit. Rev. Toxicol.* – 1996. – Vol. 26, № 2. – P. 149-161. DOI: 10.3109/10408449609017928.

N-Nitrosamines: 15 listings. In: Report on carcinogens. 15th ed. National Toxicology Program. URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/nitrosamines.pdf>.

N-Nitrosodimethylamine; CASRN 62-75-9. Chemical assessment summary. Integrated Risk Information. U.S. Environmental Protection Agency, 1987. URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0045_summary.pdf (дата обращения: 26.11.2024).

OECD. Test No. 452: Chronic Toxicity Studies. In: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Paris: OECD Publishing, 2018. DOI: 10.1787/9789264071209-en.

Özbay S., Şireli U. The effect of ascorbic acid, storage period and packaging material on the formation of volatile N-nitrosamine in sausages. // *Journal of Food Science and Technology.* – 2021. – № 59. doi: 10.1007/s13197-021-05194-2.

Park J.-E., Seo J.-E., Lee J.-Y., Kwon H. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. // Toxicological research. – 2015. – № 31. – P. 279-288. doi: 10.5487/TR.2015.31.3.279.

Patterson J., Boateng J., Walker L.T., Verghese M. Cytotoxic Effects of Multiple N-nitrosamines in Human Liver Cell Line Hep2G: Possible Mechanisms of Action // Journal of Pharmacology and Toxicology. – 2012. – №. 7. – P. 114-127.

Peto R., Gray R., Brantom P., Grasso P. Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study // Cancer Res. – 1991. – № 51. – P. 6415-6451.

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

Reuber M.D., Lee C.W. 1968. Effect of age and sex on hepatic lesions in Buffalo strain rats ingesting diethylnitrosamine. // Journal of the National Cancer Institute. – 1968. – № 41. – P. 1133-1140.

Risk assessment of N-nitrosamines in food / EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM Panel), D. Schrenk, M. Bignami, L. Bodin, J.K. Chipman, J. Del Mazo, C. Hogstrand, L.R. Hoogenboom [et al.] // EFSA Journal. – 2023. – Vol. 28, No 3, pp. e07884. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

Roszczenko A., Jablonski J., Moniuszko-Jakoniuk J. Effect of N-nitrosodimethylamine (NDMA) on activity of selected enzymes in blood serum of the rat. // Medycyna Pracy. – 1996. – № 47. – P. 49-53.

Sheweita S.A., Mostafa M.H. N-Nitrosamines and their effects on the level of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in the liver of male mice // Cancer Lett. – 1996. – Vol. 99, No 1. – P. 29-34. DOI:10.1016/0304-3835(95)04034-X.

Specifying the permissible daily exposure to N-nitrosamines by alimentary intake with food using experimental studies / P. Z. Shur, D. V. Suvorov, M. A. Zemlyanova, S. E. Zelenkin // 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference – SGEM 2020: Conference Proceedings, Vienna, Austria, 08–11 декабря 2020

года. Vol. Issue 6.2. – Vienna, Austria: Общество с ограниченной ответственностью СТЕФ92 Технолоджи, 2020. – P. 387-394. – DOI 10.5593/sgem2020V/6.2/s12.47. – EDN QXAQAM.

Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA). USA, Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023. – 231 p.

Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine. USA, Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017. – 113 p.

Usunomena U., Ademuyiwa A.J., Tinuade O.O., Uduenevwo F.E., Martin O., 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, № 4. – P. 165-176.

Wei W., Liu A., Liu M., Li M., Wu X., Qin C. et al. (2024). Development of an animal model of hypothyroxinemia during pregnancy in Wistar rats. // Animal Models and Experimental Medicine. – 2024. DOI: 10.1002/ame2.12459.

Wong H.L., Murphy S.E., Wang M., Hecht S.S. Comparative metabolism of N-nitrosopiperidine and N-nitrosopyrrolidine by rat liver and esophageal microsomes and cytochrome P450 2A3 // Carcinogenesis. – 2003. – Vol. 24, No 2. – P. 291-300. DOI: 10.1093/carcin/24.2.291.

Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human
Welfare

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management
Technologies of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights
Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor)

Ministry of Health of the Socialist Republic of Vietnam

National Institute for Food Control (NIFC) of the Ministry of Health of the
Socialist Republic of Vietnam

**THE EXPERIENCE OF THE RUSSIAN-VIETNAMESE
COOPERATION IN THE DEVELOPMENT OF THE
CHEMICAL SAFETY OF FOOD PRODUCTS IN 2023-2024**

Monography

Edited by

A.Yu. Popova,

Editors-in-Chief: N.V. Zaitseva, V.B. Alekseev, P.Z. Shur,

Le Thi Hong Hao, Tran Cao Son

Perm
Hanoi
2025

Editors-in-Chief:

- N.V. Zaitseva,** Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk
V.B. Alekseev, Management Technologies of the Russian Federal Service for
P.Z. Shur Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare
(Rospotrebnadzor)
- Le Thi Hong Hao** National Institute for Food Control (NIFC) – Ministry of Health of
Tran Cao Son the Socialist Republic of Vietnam

Authors' team:

Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare:
Doctor of Medicine, Prof. Popova A.Yu.

The team of authors of the Vietnam Food Administration of the Ministry of Health of the Socialist Republic of Vietnam: Nguyen Hung Long, Lam Quoc Hung.

The team of authors of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor): Zaitseva N.V., Alekseev V.B., Shur P.Z., Suvorov D.V., Zemlyanova M.A., Nurislamova T.V., Zelenkin S.E., Lir D.N., Redko S.V., Fokin V.A., Subbotina D.Yu., Stepankov M.S.

The team of authors of the National Institute for Food Control (NIFC): Le Thi Hong Hao, Tran Cao Son, Nguyen Thanh Trung, Nguyen Thi Hong Ngoc, Bui Cao Tien, Phung Cong Ly, Tran Trung Thanh, Pham Van Quan, Thieu Quang Thang, Nguyen Van Cuong, Tran Hung, Le Thanh Long, Tran Quang Huy, Vu Ngoc Tu, Ta Thi Yen, Nghiem Thi Ngoc Huyen.

Reviewers:

Khotimchenko S.A., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Laboratory of Food Toxicology and Nanotechnology Safety Assessment of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety;

Meltser A.V., Doctor of Medicine, Professor, Vice-Rector for Regional Health Development and Medical and Preventive Direction, Head of the Department of Preventive Medicine and Health Protection of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov of the Russian Ministry of Health.

CONTENTS

INTRODUCTION	119
CHAPTER 1. COOPERATION BETWEEN FEDERAL SCIENTIFIC CENTER OR MEDICAL AND PREVENTIVE HEALTH RISK MANAGEMENT TECHNOLOGIES AND NIFC: DEVELOPMENT OF RESEARCH IN THE FIELD OF CHEMICAL FOOD SAFETY	123
CHAPTER 2. ASSESSMENT OF HEALTH RISK ASSOCIATED WITH N-NITROSAMINES IN MEAT AND MEAT PRODUCTS CONSUMED BY THE POPULATION OF THE SOCIALIST REPUBLIC OF VIETNAM	134
Hazard identification of N-nitrosamines for subsequent quantitative risk assessment	136
Determination of key parameters of the exposure-response relationship.....	140
Assessment of carcinogenic effects	141
Assessment of non-carcinogenic effects	141
Assessment of consumption of meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam.....	142
Calculation of average daily doses	145
Risk characterization.....	149
Assessment of uncertainties	156
Results of a hygienic study on public health risk assessment of meat and meat products consumption in the Socialist Republic of Vietnam.....	157
CHAPTER 3. ESTABLISHMENT OF EXPOSURE-EFFECT RELATIONSHIP PARAMETERS FOR RISK ASSESSMENT BASED ON TOXICOLOGICAL EXPERIMENT USING EXPOSURE AND EFFECT BIOMARKERS	161
Design of an animal model experiment to validate parameters for quantifying the non-carcinogenic risk generated by N-nitrosodimethylamine exposure	166
Assessment of dose-dependent effects (responses) from toxicological experiment on animal models.....	170
Analysis of the dependence of hepatic enzyme activity (biomarkers of effect) and blood NDMA concentration (biomarker of exposure) on the level of NDMA exposure by nonlinear paired regression method.....	190
Establishment of NDMA reference level on the basis of preliminary data of toxicological experiment on rats based on GGT level	198
Establishment of NDMA reference level on the basis of preliminary data of toxicological experiment on rats	199
	117

CONCLUSION ON THE RESULTS OF JOINT RUSSIAN-VIETNAMESE
ACTIVITIES IN 2023-2024..... 205

LIST OF ABBREVIATIONS 207

REFERENCE LIST 209

INTRODUCTION

On November 12, 2013 in Hanoi (Socialist Republic of Vietnam) within the framework of development of international cooperation in the sphere of ensuring sanitary and epidemiological well-being, a Memorandum of Understanding between the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor) of the Russian Federation and the Ministry of Health of the Socialist Republic of Vietnam was signed. This agreement became the basis for the intensification of scientific interaction between the two agencies, which, in turn, led to the inclusion of joint research projects in the federal project “Sanitary Shield” implemented by Rospotrebnadzor in 2022. The “Sanitary Shield” federal project is aimed at strengthening international cooperation in the field of sanitary and epidemiological well-being, including the exchange of experience and information with foreign partners. Furthermore, the initiative entails the cultivation of human resource capacity through training and professional development of specialists in the domains of sanitary and epidemiological surveillance, laboratory diagnostics, and emergency response. A critical component of the project entails the enhancement of the information support system through the formulation and advancement of information systems that facilitate prompt data exchange among disparate agencies and regions. Additionally, the project involves the dissemination of information to the population regarding potential hazards and recommended preventive measures. The “Sanitary Shield” initiative entails the enhancement of the regulatory and legal framework, with the objective of regulating issues pertaining to the sanitary and epidemiological well-being of the population. This initiative embodies a comprehensive approach to ensuring public health.

In the context of the “Sanitary Shield” federal project, which is designed to evaluate health risks and ensure the chemical safety of food products, the Federal Budgetary Institution of Science "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies" of Rospotrebnadzor (Perm) is playing an active role

in the project together with the National Institute for Food Control (NIFC), Hanoi. The basis for this cooperation is the Memorandum of Understanding concluded between the scientific institutes in 2018.

The Center has facilitated the establishment of a scientific school of health risk analysis, which has brought together a distinguished group of researchers, including both established and promising young scientists, to address critical issues in the field. These experts hail from diverse disciplines, including preventive medicine, hygiene, epidemiology of non-infectious diseases, cytogenetics, immunology, analytical chemistry, and mathematical modeling of biological processes. The school has developed modern techniques for assessing health risks caused by exposure to a variety of environmental factors, as well as a system of evidence of public health harms associated with negative environmental influences. The developed medical and preventive technologies for risk minimization are based on in-depth analysis of environmental and health monitoring data of the Russian population, results of in-depth clinical and laboratory, chemical and analytical and epidemiological studies. The research results are embodied in a set of methodological and information-analytical documents used in the practical activities of Rospotrebnadzor.

The National Institute for Food Control (NIFC) under the Ministry of Health of the Socialist Republic of Vietnam was established by the Decree No. 376/QĐ-TTg dated March 23, 2009 issued by the Prime Minister of the Socialist Republic of Vietnam. The Institute is governed by Resolutions No. 6065/QĐ-BYT of December 30, 2019 and No. 5455/QĐ-BYT of December 28, 2020, issued by the Minister of Health.

The National Institute of Food Control (NIFC) is the preeminent food testing institution within the Vietnamese health system. It provides support to public administration in the professional activities of the Ministry of Health and other competent authorities in related fields, in accordance with applicable laws.

The Institute boasts a contemporary infrastructure, encompassing state-of-the-art equipment, synchronized for optimal functionality. Its workforce is comprised of highly qualified personnel, a factor

that contributes to its preeminence within the realm of management, production, and the turnover of food products. NIFC offers a comprehensive array of services, ensuring a superior level of quality and efficiency. These services encompass the testing of diverse food products, the calibration of equipment, the certification of products, proficiency testing, and consulting and training in food sampling and technology transfer. Moreover, NIFC has been duly authorized by the relevant authorities to conduct rigorous tests and exercise stringent state oversight with regard to products falling within the domains of medicine, agriculture, industry, and commerce.

This collaboration is driven by the growing relevance of non-communicable diseases associated with exposure to various environmental factors, including chemical contaminants in food. The examination of food products from the standpoint of non-infectious hazards constitutes a pivotal element in ensuring public health. This is due to the fact that chronic exposure to even low concentrations of chemicals has been demonstrated to result in the development of pathological conditions, including cardiovascular diseases, cancer processes, metabolic disorders, neurotoxic effects, and other adverse health effects. In this regard, a comprehensive assessment of food safety, including analysis of chemical contaminants, development of methodological approaches to determine the permissible levels of their content and assessment of the risk to consumer health, is of paramount importance. The objective of collaborative research within the framework of this cooperative endeavor is to address these pressing issues and develop scientifically substantiated approaches to mitigate the risks associated with chemical factors of food origin. These efforts are aimed at ensuring the sanitary and epidemiological safety of the population.

This publication encapsulates the findings of a collaborative research initiative undertaken by the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, in conjunction with the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare and the National Institute of Food

Control. The study encompasses the period from 2023 to 2024, and it comprises pivotal information concerning their collaborative endeavors.

A roadmap was developed and endorsed for the successful implementation of the joint research project between the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies in the Russian Federation and the National Institute of Food Control in Vietnam. This Roadmap, which delineates the strategic framework for the joint scientific research initiative in the domain of food quality control, covers the period from 2023 to 2025. According to the Roadmap, during this period it is planned to carry out joint research work on the topic “Assessment of the public health risk formed by the consumption of N-nitrosamines with food products by the population of the Socialist Republic of Vietnam and the Russian Federation, taking into account the developed parameters of the exposure-response relationship”. Thus, in 2023 and 2024, the focus was on developing and refining parameters, including exposure and effect biomarkers, to assess public health risks. As part of this task, a phase of a collaborative scientific study entitled “Assessment of health risk associated with N-nitrosamines in meat and meat products consumed by the population of the Socialist Republic of Vietnam” was implemented in 2023. This work was continued and expanded in 2024 with the phase “Establishment of exposure-effect relationship parameters for risk assessment based on toxicology experiment using exposure and effect biomarkers” based on the results obtained in 2023. This work was continued and expanded in 2024 with the phase “Establishment of exposure-effect relationship parameters for risk assessment based on toxicology experiment using biomarkers of exposure and effect” based on the results obtained in 2023.

CHAPTER 1. COOPERATION BETWEEN FEDERAL SCIENTIFIC CENTER OR MEDICAL AND PREVENTIVE HEALTH RISK MANAGEMENT TECHNOLOGIES AND NIFC: DEVELOPMENT OF RESEARCH IN THE FIELD OF CHEMICAL FOOD SAFETY

As part of the development of partnership relations and in order to deepen international cooperation, the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies has been actively involved in the program of interaction between the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare and the Ministry of Health of the Socialist Republic of Vietnam since 2015. This collaborative endeavor, with the objective of providing support to Vietnam in promoting the sanitary and epidemiological well-being of the population, served as a foundational basis for the subsequent expansion of research endeavors in the domain of chemical food safety. This initiative ultimately led to the establishment of a collaborative relationship with the National Institute of Food Control in Hanoi.

The subsequent development of cooperation with NIFC was formalized by the Order of the Government of the Russian Federation No. 1536-r dated July 13, 2019, which marked a new stage in joint research. This phase was distinguished by an active exchange of experience and knowledge between professionals and young scientists, facilitated by a strengthened partnership between the two organizations. The initial meeting held at NIFC in the Socialist Republic of Vietnam was a pivotal event that initiated a series of subsequent interactions. The event from the Vietnamese side was attended by Rham Xuan Da (General Director (at the time of the meeting), Doctor of Science), Le Thi Hong Hao (Deputy Director of the Institute, Professor, Doctor of Science (currently General Director)), Le Thi Phieng Thao (Head of Quality Management Department), Nguyen Thi Giang (Head of Science and Technology Center), and Nguyem Ngoc Hien (International Cooperation Specialist). The legal basis for cooperation between the

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies and the National Institute of Food Control was the Memorandum of Understanding signed in 2018. This document defined the framework and principles of interaction, and also fixed the intentions of the parties to work together in the field of food safety assessment and assurance (Fig. 1.1).



Fig. 1.1. Memorandum of Understanding.

In accordance with the Memorandum and action plan ("The Roadmap"), a range of activities to improve the qualifications of Vietnamese specialists was consistently implemented. This package included a series of seminars held directly at NIFC, as well as internships at the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies. In 2018, in order to improve sample

preparation for chromatography-mass spectrometry analysis, NIFC hosted a workshop on “Method for preparing food samples for chemical analysis using Sepaths automated solid-phase extraction system followed by chromatography-mass spectrometry analysis” (Hanoi, May 2018). Then, in December 2018, Vietnamese specialists had the opportunity to familiarize themselves with the practical application of the method of preparing food samples for chemical analysis using the Sepaths automated solid-phase extraction system directly at the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies.

In the continuation of this initiative, Russian specialists conducted training seminars in July 2019 on the risk assessment of chemical contamination of food products according to the methods of the Codex Alimentarius Commission [Codex Alimentarius Commission. Risk Analysis] and EAEU [Methodological Guidelines for Establishing and Justifying Hygienic Standards for the Content of Chemical Impurities and Biological Agents in Food Products by Human Health Risk Criteria]. The workshops covered methodological aspects of risk assessment, including hazard identification of relevant food contaminants for both countries, establishment of exposure-response relationships, and application of evolutionary modeling in the risk assessment of chemicals in food (Fig. 1.2).



Fig. 1.2. A training seminar on health risk assessment conducted by the Russian specialists at NIFC (Hanoi).

During the period of collaboration, in accordance with the provisions of the Memorandum of Understanding, from the execution of the agreement until the present moment, a total of more than 30 employees of the National Institute of Food Control have undergone training and advanced training on health risk assessment methodologies. This outcome is indicative of the substantial efforts undertaken within the framework of the partnership, as well as the considerable contribution to the development of professional competencies of NIFC specialists. These efforts were carried out in accordance with the provisions of the Memorandum.

In addition to the training of Vietnamese specialists in risk assessment methodology, joint research was conducted on the topic of "Assessment of public health risk caused by the content of harmful substances in food products." This work, spanning a five-year period, was aimed at enhancing the understanding and development of methodological approaches in the field of risk assessment.

During the period of five years, Russian and Vietnamese specialists have been conducting joint international work aimed at analyzing and assessing the health risk caused by the content of N-nitrosamines in specialized food products for infants. This collaboration has also developed methodological approaches to food selection for further hazard assessment and control of unintentionally present chemicals in food products based on selection criteria. The results of the studies were published in scientific publications edited by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation, Doctor of Medical Sciences, Professor A.Yu. Popova, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor G.G. Onishchenko and Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor N.V. Zaitseva (Fig. 1.3) [Health risk analysis in the strategy of state socio-economic development: Monography; Experience of Russian-Vietnamese cooperation in the development of chemical safety of food products: Monography].



Fig. 1.3. Joint scientific publications Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies and NIFC (2022-2024).

Years of successful cooperation between research institutes of the Russian Federation, represented by the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, and the Socialist Republic of Vietnam, represented by NIFC, based on the principles of mutual trust, openness and respect, have laid a solid foundation for further development of partnerships in the field of food security. This phase of cooperation, aimed at establishing reliable and effective food quality control systems and risk assessment, played a pivotal role in ensuring the health and well-being of the populations of both countries.

Inspired by the successes achieved and realizing the importance of further developing joint efforts, Russia and Vietnam have identified new strategic areas of cooperation. Starting from 2023, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare included Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies into the Federal Project "Sanitation Shield".

This has led to the emergence of novel prospects for Russian-Vietnamese collaboration in the domain of food security. The project is aimed at creating a unified system to protect the population from biological, chemical and radiation threats, including food safety.

The new phase of the partnership has expanded the range of collaborative research, with the main focus on developing methodological approaches to quantifying non-carcinogenic risk for food security. These developments were based on the best practices of the Russian Federation, presented in the collective monograph “Health Risk Analysis in the Strategy of State Socio-Economic Development [Health risk analysis in the strategy of state socio-economic development: Monograph; Experience of Russian-Vietnamese cooperation in the development of chemical safety of food products: Monograph], which is a fundamental work in the field of public health risk assessment and is the basis for training programs for NIFC specialists in the assessment and management of health risks. This direction included the creation of parameters and criteria for quantitative assessment of non-carcinogenic risk, as well as the development of scientifically based methods of analysis that allow to accurately determine the level of hazard associated with the presence of non-carcinogenic substances in food products.

Thus, the inclusion of Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies in the Federal Project “Sanitary Shield” was an important step towards strengthening the Russian-Vietnamese partnership in the field of food security. This new stage of cooperation has opened up significant opportunities for the advancement of scientific research, the exchange of experiences, and the practical implementation of the obtained results. These efforts are aimed at ensuring the health and well-being of the populations of both countries. NIFC has been an integral part of this process, contributing significantly to the overall endeavor.

Within the framework of the Federal Project “Sanitary Shield” and the new stage of the Russian-Vietnamese partnership, training seminars presented by both experienced and young scientists were held for the specialists of the National Institute of Food Control by the specialists

of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies (Figure 1.4).



Fig. 1.4. Organization of training seminars by the staff of the Federal Scientific Center for Medical on “Assessment of public health risk formed by ingestion of chemical substances with food products, using the EEC methodology” on the basis of NIFC, 2023.

For example, in 2023, the staff of the Federal Scientific Center for Medical conducted training seminars on the assessment of public health risk formed by the ingestion of chemicals with food products, using the methodology of the Eurasian Economic Commission (EEC). The workshops covered key aspects of health risk assessment methodology and the application of exposure and response biomarkers to ensure food safety against risk criteria. The participants of the workshops received practical skills in applying modern methods of data analysis and interpretation, which contributed to the improvement of their professional competence.

The events that were conducted place significant emphasis on the importance of international cooperation and the exchange of experience in the field of health risk assessment. Furthermore, they demonstrate the successful integration of theoretical knowledge and practical skills into educational programs for NIFC specialists.

Moreover, the results of the seminars were used to formulate a comprehensive plan of further actions, which was developed with con-

sideration for scientific and methodological aspects, as well as the practical significance of collaborative efforts in the context of safeguarding public health in both countries. NIFC was actively involved in work planning and prioritization of cooperation, which was reflected in the Roadmap of joint research work signed by both parties (Fig. 1.5).

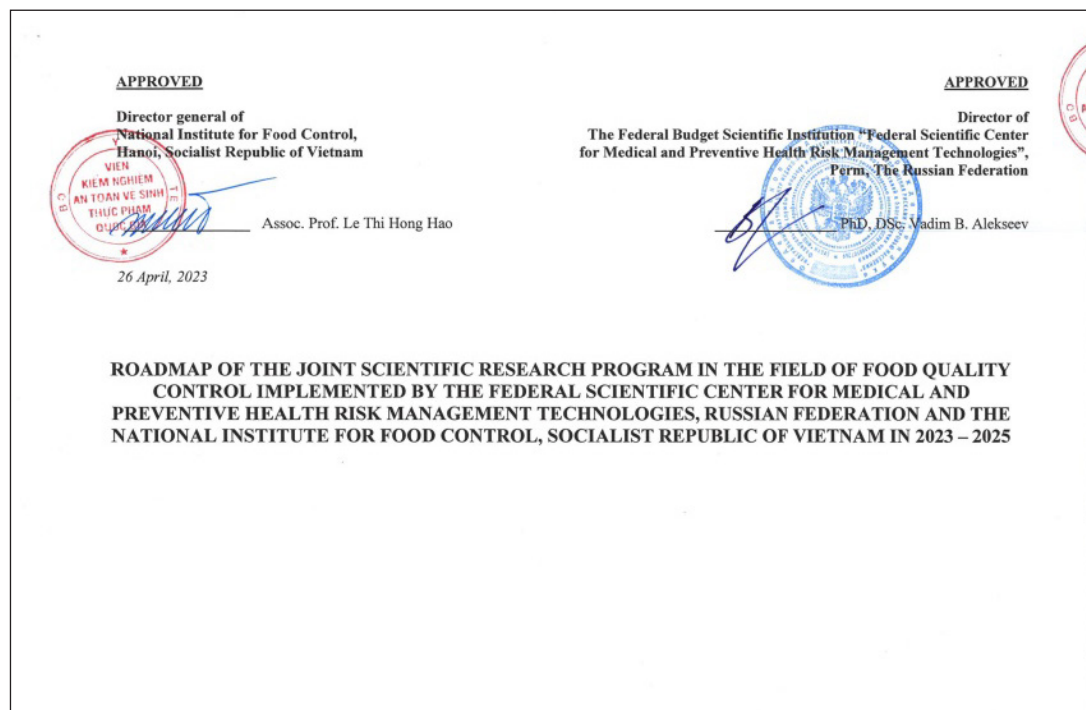


Fig. 1.5. Agreed plan of joint research (“The Roadmap”) of the Federal Scientific Center for Medical and NIFC

The result of the discussion of work plans was the definition of key areas of joint research aimed at ensuring food security. Thus, in the course of the discussion, the specialists of the Federal Scientific Center for Medical and NIFC prioritized joint research in 2023 to assess the health risks associated with N-nitrosamines in meat and meat products used in Vietnam. This choice was made due to the fact that the meat products, especially after thermal processing, may be the most dangerous due to the possible content of N-nitrosamines - potential carcinogens. In addition, the relevance of this issue at the global level [EFSA Panel

on Contaminants in the Food Chain, 2023; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023] stimulates the development of this topic in collaboration with the Vietnamese partners. The next stage (2024) of the collaborative work was to define parameters for quantifying the non-carcinogenic risk of nitrosamines, as a number of studies suggest that non-carcinogenic risk (especially those formed in relation to the liver) may occur earlier than carcinogenic risk [Deveci, Tek, 2024; Suvorov, Zaitseva, Shur et al., 2023].

A comprehensive training and professional development program for specialists was implemented in 2023 to realize the set goals. The main focus of the program was to improve skills in assessing public health risks associated with exposure to chemical factors, as well as to introduce modern methods of applying biomarkers of exposure and effect into the practice of monitoring and control of food safety. The training was conducted both on the basis of NIFC and on the basis of the Federal Scientific Center for Medical, which provided an integrated approach and adaptation of the acquired knowledge to the tasks of the Institute.

Theoretical training included a series of seminars on risk assessment methodology. Participants studied in depth hazard identification, dose-effect relationship analysis, exposure assessment and risk characterization. Emphasis was placed on constructing exposure scenarios, analyzing uncertainties, and interpreting results. A separate block of workshops was devoted to biomarkers: their classification, validation, methods of determination, and application for population exposure assessment and early detection of adverse effects. The theoretical sessions were attended by eight NIFC specialists, covering key areas of the institute's activities.

Practical training focused on mastering the techniques of working with biological material. NIFC specialists practiced the skills of blood collection from laboratory animals with observance of ethical norms and safety requirements on the basis of the Federal Scientific Center for Medical. As part of the training, four members of the Institute's staff mastered the techniques of sample collection, preservation, and

transport, and learned how to select the appropriate biomaterial based on the objectives of the study (Fig. 1.6).

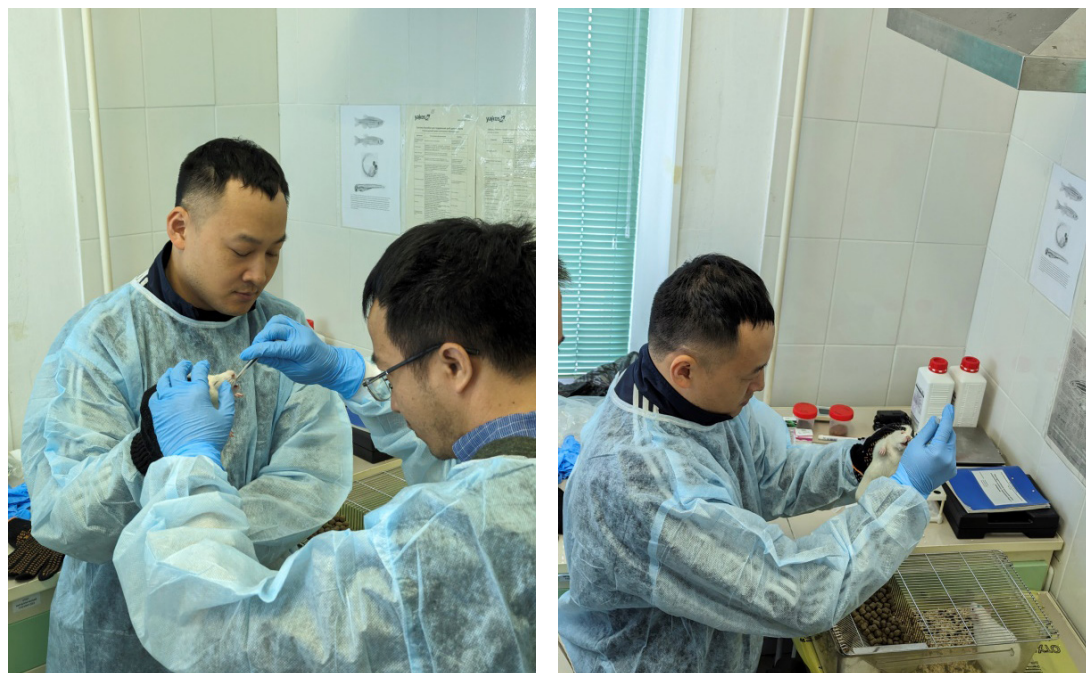


Fig. 1.6. Mastering the skills of NIFC specialists in the collection of biological material from laboratory animals on the basis of the Federal Scientific Center for Medical, 2023.

The implementation of the program has significantly strengthened the competencies of NIFC staff in health risk assessment and the implementation of innovative approaches such as the use of biomarkers. The acquired skills contribute to improving the accuracy of food quality control, validity of decisions on risk minimization and strengthening the food safety system in Russia. Further development of this direction will contribute to improving the scientific and methodological base of the Institute and strengthening its role in the protection of public health.

In addition, in order to realize the planned plans, the staff of the Federal Scientific Center for Medical carried out on-the-job training of NIFC specialists on the topic “Technique of blood collection from laboratory animals” (Fig. 1.7). This event allowed participants to

master modern methods and technologies of biological sampling, which is an important step in conducting experimental research. The internship focused on ethical and ethical handling of laboratory animals and minimizing stress to the animals during procedures. During the internship, five NIFC specialists received on-the-job training.

The skills acquired are key to further research in evaluating the toxicological effects of chemicals, including N-nitrosamines, and their effects on the body. The participants of the training also familiarized themselves with the methods of processing and storage of biological samples, which ensures high accuracy and reliability of the results of analyses.



Fig 1.7. On-the-job training for NIFC specialists on “Techniques of blood collection from laboratory animals”, 2024.

This training strengthened the professional competencies of NIFC specialists and ensured continuity of best practices in laboratory research. This, in turn, set the stage for the implementation of the 2024 phase of the outlined work.

CHAPTER 2. ASSESSMENT OF HEALTH RISK ASSOCIATED WITH N-NITROSAMINES IN MEAT AND MEAT PRODUCTS CONSUMED BY THE POPULATION OF THE SOCIALIST REPUBLIC OF VIETNAM

In accordance with the Roadmap for Joint Scientific Work for 2023 developed under the Sanitary Shield Program, a series of studies were conducted to assess the health risks associated with the levels of N-nitrosamines in meat and meat products consumed by the population of the Socialist Republic of Vietnam.

The main criterion for product safety is known to be the amount of risk associated with harm to life or health. Risk assessment, in turn, allows a relationship to be established between the concentration of a contaminant in food, the duration of exposure to an adverse factor, and the likelihood of adverse health effects. These effects include, but are not limited to, the development of carcinogenic and non-carcinogenic effects and the fatal outcome of diseases. The safety criterion, in this context, is the achievement of the so-called “acceptable (tolerable) risk” level. This is understood as a level of risk that does not require additional mitigation measures and is assessed as insignificant and acceptable in relation to the risks existing in the everyday life of the population.

Health risk assessment of the population was carried out in accordance with the provisions of the “Guidelines for the assessment of public health risk from exposure to chemicals polluting the environment R.2.1.10.3968-23” (hereinafter – the Guidelines) [Guidelines R.2.1.10.3968-23.], as well as with the risk assessment methodology adopted in the territory of the countries of the Eurasian Economic Union [Development of methodological guidelines for the establishment and justification of hygienic standards for the content of chemical impurities, biological agents in food products on the criteria of human health risk].

In accordance with the risk assessment methodology and the provisions of the Guidelines, the implementation of the public health risk assessment work included four main stages:

- hazard identification, which includes identification of potentially harmful factors, assessment of the relationship between the studied factor and health disorders, as well as analyzing the sufficiency and reliability of available data on the levels of contamination of food products with the substances under study;

- exposure-response relationship assessment: identification of quantitative relationships between health indicators and exposure levels;

- assessment of exposure of the population to chemicals, including the determination of exposure doses;

- risk characterization, including risk calculation and comparative risk assessment.

Since the subject of risk assessment was the impact of N-nitrosamines content in meat and meat products on the health of the population of the Socialist Republic of Vietnam, the main objectives of this work were as follows:

1. conducting hazard identification of N-nitrosamines; to select priority chemical factors in terms of health hazards for subsequent quantitative risk assessment;

2. summarizing data on parameters and criteria for assessing the dose-response relationship;

3. assessing the exposure to N-nitrosamine coming with consumed meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam;

4. characterizing public health risk associated with the consumption of meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam, based on hazard ratios and the level of carcinogenic risk, and to identify priority N-nitrosamines for which it is reasonable to develop parameters for the quantitative assessment of non-carcinogenic risk.

The risk assessment was based on a collaborative effort, including the use of data from the NIFC studies on quantitative N-nitrosamines and consumption of meat and meat products by the pediatric and adult populations.

Hazard identification of N-nitrosamines for subsequent quantitative risk assessment

As part of the hazard identification phase, N-nitrosamines were investigated in samples of meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam [Le Thi Hong Hao et al., 2022]. Gas chromatography/mass spectrometry-mass spectrometry-mass spectrometry method was used for the quantitative determination of 9 N-nitrosamines (NDMA, NMEA, NDEA, NDBA, NDPA, NPIP, NPYR, NMOR, and NDFA). A total of 131 samples representing 98 different meat products were analyzed.

The studies found that the content of N-nitrosamines in meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam ranged from 0.0002 mg/kg to 0.012 mg/kg. The average concentrations of N-nitrosamines in the different product groups are presented in Table 2.1.

Table 2.1

Average value of N-nitrosamines concentrations in meat and meat products sold in Vietnam (mg/kg)

No.	Name of substance	Grilled meats and meat products	Fried meat and meat products	Baked meat and meat products	Smoked meat and meat products
1	NDMA	0.0048	0.0027	0.0038	0.0042
2	NMEA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
3	NDEA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
4	NDPA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
5	NDBA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
6	NPIP	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
7	NPYR	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
8	NMOR	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
9	NDPHA	0.0005	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*

LLOD – lower limit of detection (0.0002 mg/kg of product)

As can be seen from the data presented, the most frequently detected N-nitrosamine was NDMA, which was present in all product groups studied, with the highest mean concentrations of NDMA detected in grilled meat and meat products (0.0048 mg/kg) and the lowest in fried meat (0.0027 mg/kg). NDPHA was detected only in grilled meat and meat products, with an average value of 0.0005 mg/kg. The remaining N-nitrosoamines (NMEA, NDEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR and NMOR) did not exceed the lower limit of determination, which was 0.0002 mg/kg, in all samples tested. This fact may be due to their low content or absence in the studied samples.

The results of the analysis of N-nitrosamines in selected samples of meat and meat products demonstrated that the concentrations of most of the tested compounds, except for NDMA and NDPHA, were less than LLOD in more than 95% of the samples. Based on the methodological principles of risk assessment, the content of NMEA, NDEA, NDBA, NDPA, NPIP, NPYR and NMOR in these samples is conditionally taken as zero, which eliminates the need for their further quantitative risk assessment.

However, the concentrations of NDPHA in the collected samples did not exceed the limit of determination in less than 95% of the samples. Therefore, in the quantitative risk assessment, for samples with NDPHA content below the LLOD, the value of its concentration was assumed to be half of the lower limit of detection, which is 0.0001 mg/kg. This approach is consistent with the risk assessment methodology adopted in the present study for substances below the lower limit of detection.

To assess non-carcinogenic effects at the hazard identification stage, available data on reference doses (RfD) of the studied chemicals were analyzed. At the same time, critical organs, systems, and effects were identified for each substance that corresponded to the established reference doses. RfD represents an estimated lifetime daily exposure to a chemical that, based on current scientific evidence, probably does not result in unacceptable health risks, including to sensitive populations.

In order to assess the carcinogenic potential of the identified N-nitrosamines, hazard identification was performed according to the

International Agency for Research on Cancer (IARC) and US EPA classifications. The classification results and values of carcinogenic potential factors (SFo) are presented in Table 2.2.

Table 2.2

**Classification of carcinogenic potential and factors
of carcinogenic potential of N-nitrosamines**

No.	Name of substance	IARC classification	US EPA classification	SFo, mg/(kg*day)-1
1	NDMA	2A	B2	51.0
2	NDEA	2A	B2	150.0
3	NMEA	2B	B2	22.0
4	NDPA	2B	B2	7.0
5	NDBA	2B	B2	5.4
6	NPIP	2B	B2	9.4
7	NPYR	2B	B2	2.1
8	NMOR	2B	-	6.7
9	NDPHA	3	B2	0.0049

Analysis of the data presented in Table 2.2 shows that of the 9 N-nitrosamines identified in meat and meat products, 2 compounds (NDMA and NDEA) are classified by IARC as class 2A, i.e. as probable carcinogens for humans. 6 N-nitrosoamines (NMEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR and NMOR) are classified in class 2B as probable carcinogens for humans. NDPHA is classified as a Class 3, which means it is not classified as a carcinogen for humans. According to the US EPA classification, 8 N-nitrosamines are class B2, corresponding to probable carcinogens to humans, and only N-nitrosomorpholine (NMOR) lacks data on carcinogenicity. It is important to note that for all identified N-nitrosamines, there are carcinogenic potential factors required for quantitative risk assessment.

Therefore, at the stage of identifying potential hazards associated with the content of nitrosamines in meat and meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam, it was determined that NDMA and NDPHA are the highest priority for the quantitative assessment of public health risk. These compounds were selected because of their presence in more than 5% of the samples, the availability of reference doses for carcinogenic and non-carcinogenic risk assessment, and data on carcinogenic potential factors.

The final step in hazard identification is to consider the toxicological and hygienic characteristics of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine selected for further risk assessment.

The findings of research conducted on F344 rats, to which NDMA was administered with drinking water, demonstrated a significant correlation between the administered dose and the emergence of pathological alterations in the liver [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine]. There was a significant increase in liver neoplasms of all types, including hepatocellular carcinomas and hemangiosarcomas, as well as hyperplastic nodules, cytomegaly, cysts, decreased hepatocyte counts in males, and abnormalities of glycogen-containing cells in females. The minimum dose at which these effects were observed was 0.022 mg/kg body weight per day. A carcinogenic effect was recorded at a mean daily dose of 0.05 mg/kg (LOAEL, 96 weeks). The LD50 value for NDMA is 40 mg/kg body weight. The reference dose for oral administration is 0.000008 mg/kg; critical organs and systems – developmental processes. The NOAEL values for noncarcinogenic effects were established at 0.5 mg/kg for an exposure duration of 54 weeks and 2.5 mg/kg for a duration of 110 days.

Studies in B6C3F1 mice [Patterson, Boateng, Walker, Verghese, 2012] and F344 rats [Lijinsky, Reuber, 1984] have shown that NDPHA, when administered orally, can cause bladder hyperplasia in mice and increased sudden deaths in female rats, as well as transitional cell bladder cancer in both sexes. The researchers observed direct dose-

dependent relationship between the frequency of these effects. No significant differences were observed in the incidence of neoplasms in the general population in mice given NDPHA orally. However, an 8-week study revealed pigmentation of the Kupffer cells in the liver of male mice dosed with 5980 mg/kg/day [Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine]. The target organ for NDPHA was the bladder; exposure at 183 mg/kg/2 weeks and 123 mg/kg/13 weeks induced mixed cell infiltrate and transitional epithelial hyperplasia. Carcinogenic effect (LOAEL) was observed at 0.0005 mg/kg/day (100 weeks). RfD for oral administration – 0.02 mg/kg; critical organs/systems – eyes, systemic effects (change in body weight). No data on non-carcinogenic effects (NOAEL). LD50 – 3000 mg/kg.

The analysis of toxicological and hygienic characteristics of NDMA and NDPHA revealed that both compounds had a pronounced toxic potential manifested in carcinogenic and non-carcinogenic effects. The primary adverse effects of NDMA are primarily associated with the liver, while NDPHA has been identified as an organotoxicant for the bladder. The data presented support the need for further quantification of the health risks to populations exposed to these compounds.

Subsequent to the exposure assessment step, in which exposure levels of priority N-nitrosamines were ascertained, a transition to the exposure-response relationship selection step is requisite. This step involves establishing a quantitative relationship between the dose of a substance ingested and the likelihood of developing adverse health effects.

Determination of key parameters of the exposure-response relationship

The pivotal parameter that determines the effect of a chemical substance on the body is the dose, which is calculated with consideration for the time of consumption of products intended for children's food and the characteristics of the child's body. The dose, in this context, is

a quantitative characterization of a contaminant potentially capable of causing a particular effect on a target organ.

Exposure-response (dose-response) assessment is a process of quantitative analysis of toxicological information aimed at establishing a relationship between the level of exposure (dose or concentration) to a chemical and the probability of adverse effects in the exposed population. The exposure-response analysis process involves several key elements. It entails the determination of the causal relationship between exposure to a substance and the subsequent development of an adverse effect. Additionally, it involves the identification of the minimum dose capable of inducing the observed effect, also known as the threshold dose. Furthermore, it includes the estimation of the intensity of the effect, which increases with increasing exposure levels.

In assessing the risk of adverse effects due to chronic exposure to chemicals, two main types of effects are considered: carcinogenic and non-carcinogenic.

Assessment of carcinogenic effects

A parameter, the carcinogenic potential factor, also known as the slope factor (SF), is used to assess the risk of exposure to carcinogenic agents that have a benchmark-free mechanism of action. This parameter characterizes the degree of increase in carcinogenic risk with increasing exposure dose by one unit ($\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{day})$). The slope factor is a conservative estimate of carcinogenic risk over a person's life expectancy (70 years).

The carcinogenic potential factors (CPFs) used in the assessment of exposure to carcinogens are summarized in Table 2.2.

Assessment of non-carcinogenic effects

The hazard parameters for the development of non-carcinogenic effects for N-nitrosamines found in meat and meat products and included in further risk assessment are presented in Table 2.3.

**Information on hazard parameters for the development
of non-carcinogenic effects**

No.	Substance	RfD, mg/kg	Critical organs and systems
1	N-Nitrosodimethylamine	0.000008	Developmental processes
2	N-Nitrosodiphenylamine	0.02	Eyes (corneal opacity), systemic effects (body weight)

Consequently, for all N-nitrosamines included in subsequent risk assessment, the parameters necessary to establish exposure-response relationships were determined. These parameters, which reflect the relationship between the level of exposure and the effects caused, are the basis for quantifying the risk associated with potential exposure to these substances.

**Assessment of consumption of meat and meat products
sold in the Socialist Republic of Vietnam**

Exposure is defined as contact of an organism (receptor) with a chemical, physical, or biological agent. Exposure quantification is defined as the measured or calculated amount of an agent in a food product in contact with human border organs (primarily the digestive tract) over a period of time. Exposure can be expressed in different units: total amount of substance in a product (mg), daily dose (mg/day) or dose related to body weight (mg/(kg*day)). In the present study, the primary exposure route of N-nitrosamines for the population is identified as oral ingestion of these compounds present in meat and meat products. This route of exposure is considered the most significant entry point for these contaminants. A comprehensive analysis was conducted to assess the exposure to N-nitrosamines contained in meat products. This analysis included the following steps: first, the actual consumption of meat and meat products by the population of the Socialist Republic of Vietnam was assessed based on the results of a survey previously conducted by

Vietnamese colleagues. This approach provided representative data on dietary patterns and consumption of target foods in different age groups, which were divided into children under 6 years of age, children 7 to 17 years of age, adults 18 to 50 years of age, and adults over 50 years of age. This collaborative effort between Russian and Vietnamese experts was a critical component in ensuring the reliability and validity of the data. Secondly, a study was conducted to determine the content of priority N-nitrosamines in various meat products sold in the Socialist Republic of Vietnam. This study involved the screening of meat food products for N-nitrosamines, which led to the calculation of the average daily dose for different age groups. For the purposes of carcinogenic and non-carcinogenic risk assessment, the calculation was performed separately, taking into account the different approaches to risk assessment for these types of effects, in accordance with Guideline R.2.1.10.3968-23. This approach ensured the use of unified calculation methods used in Russian risk assessment practice.

As previously mentioned, the present study concentrates on the oral ingestion of N-nitrosamines through the consumption of meat and meat products. In order to accurately estimate exposure, it is imperative to consider the actual consumption of these products by various population groups. Based on the results of previously conducted joint sociological research [Lebedeva-Nesevrya N.A., Le Thi Hong Hao, Barg A.O. et al., 2019], it was found that both children and adults in the Socialist Republic of Vietnam (including children under 3 years old) consume meat and meat products, including grilled meat. This observation emphasizes the importance of including the child population in exposure assessment and further risk assessment, as children are a particularly vulnerable group with respect to chemical exposure. Consequently, in the course of the ongoing research, NIFC employees undertook a population survey with the objective of characterizing the actual consumption of various food groups by the Vietnamese population. The obtained data on average daily consumption of meat and meat products by different age groups are presented in Table 2.4.

Table 2.4

Volume of actual daily consumption of meat and meat products by different age groups of the population of Vietnam, kg

No.	Product group	Age group	Volume of daily consumption, kg
1	Grilled meat	Children under 6 years of age	0.037
2		Children 7-17 years of age	0.059
3		Adults 18-50 years of age	0.14
4		Adults over 50 years of age	0.043
5	Fried and baked meat	Children under 6 years of age	0.032
6		Children 7-17 years of age	0.048
7		Adults 18-50 years of age	0.08
8		Adults over 50 years of age	0.023
9	Smoked meat	Children under 6 years of age	0.012
10		Children 7-17 years of age	0.023
11		Adults 18-50 years of age	0.051
12		Adults over 50 years of age	0.014

According to the data presented, the highest consumption among the population groups in Vietnam studied is characterized by grilled meat and meat products. This observation emphasizes the need for special attention to this product group when assessing the risk associated with N-nitrosamines. The consumption of fried and baked meat and meat products was grouped together by the NIFC experts. Consequently, further risk assessment was performed, considering the same daily intake for these types of products. Consequently, an assessment of meat and meat product consumption, conducted in collaboration with Vietnamese colleagues, yielded the necessary representative data for subsequent assessment of N-nitrosamine exposure. These data will be used to calculate daily doses and further risk assessment for different groups of population in Vietnam.

Calculation of average daily doses

To estimate N-nitrosamine exposure, average daily doses (ADD) were calculated for different age groups of the population of the Socialist Republic of Vietnam. Doses were calculated in accordance with Guideline R.2.1.10.3968-23, to assess carcinogenic and non-carcinogenic effects. For N-nitrosamines for which reference doses (RfD) have been established, the ADD for estimating non-carcinogenic effects was calculated using the following formula 2.1.:

$$ADD = (C_{prod} * V_{cons}) / mb, \quad (2.1)$$

where ADD is the average daily dose, mg/kg of body weight per day;

C_{prod} – concentration of the substance in the product, mg/kg;

V_{cons} – volume of consumption of this product, kg/day;

mb – body weight, kg.

Estimated average daily doses of N-nitrosamines from different types of meat and meat products are presented in Tables 2.5 to 2.8.

Table 2.5

Average daily doses of N-nitrosamines ingested with grilled meat and meat products, mg/kg of body weight per day

No.	Name of substance	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	$8.27 \cdot 10^{-6}$	$7.03 \cdot 10^{-6}$	$1.39 \cdot 10^{-5}$	$4.00 \cdot 10^{-6}$
2	NDPHA	$7.29 \cdot 10^{-7}$	$6.20 \cdot 10^{-7}$	$1.23 \cdot 10^{-6}$	$3.52 \cdot 10^{-7}$

Table 2.6

Average daily doses of N-nitrosamines ingested with fried meat and meat products, mg/kg of body weight per day

No.	Name of substance	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	$3.15 \cdot 10^{-6}$	$2.52 \cdot 10^{-6}$	$3.51 \cdot 10^{-6}$	$9.43 \cdot 10^{-7}$

Table 2.7

Average daily doses of N-nitrosamines administered with baked meat and meat products, mg/kg of body weight per day

No.	Name of substance	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	$5.81 \cdot 10^{-6}$	$4.94 \cdot 10^{-6}$	$9.79 \cdot 10^{-6}$	$2.81 \cdot 10^{-6}$

Table 2.8

Average daily doses of N-nitrosamines ingested with smoked meat and meat products, mg/kg of body weight per day

No.	Name of substance	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	$2.11 \cdot 10^{-6}$	$2.15 \cdot 10^{-6}$	$3.99 \cdot 10^{-6}$	$1.02 \cdot 10^{-6}$

Thus, the average daily doses of NDMA supplied to the population of the Socialist Republic of Vietnam with meat and meat products were as follows:

- for children under 6 years of age: $8.27 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with grilled meat and meat products; $3.15 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with fried meat and meat products; $5.81 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with baked meat and meat products; $2.11 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with smoked meat and meat products;

- for children 7-17 years of age: $7.03 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with grilled meat and meat products; $2.52 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with fried meat and meat products; $4.94 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with baked meat and meat products; $2.15 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with smoked meat and meat products;

- for adults 18-50 years: $1.39 \cdot 10^{-5}$ mg/kg of body weight per day with grilled meat and meat products; $3.51 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with roasted meat and meat products; $9.79 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with baked meat and meat products; $3.99 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with smoked meat and meat products;

- for adults over 50 years of age: $4.00 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with grilled meat and meat products; $9.43 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day with roasted meat and meat products; $2.81 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with baked meat and meat products; $1.02 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day with smoked meat and meat products.

However, the average daily dose for NDPHA exposure to grilled meat and meat products was: for children under 6 years of age, $7.29 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years of age, $6.20 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years of age, $1.23 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years of age, $3.52 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day.

To assess the carcinogenic risks associated with exposure to N-nitrosamines, average daily doses were calculated, averaged over the expected average human life expectancy (70 years). Such doses are referred to as LADD. The equation for calculating LADD (formula 2.2) is as follows :

$$\text{LADD}_{\text{carc}} = (C * CR * ED * EF) / (BW * AT * 365), \quad (2.2)$$

where:

$\text{LADD}_{\text{carc}}$ – is the average daily dose for carcinogenic effects, mg/(kg × day);

C – is the concentration of the carcinogenic substance in the product, mg/kg;

CR – is the volume of daily food consumption, kg/day;

ED – duration of exposure, years;

EF – exposure frequency, days/year;

BW – body weight, kg;

- AT – exposure averaging period (for carcinogenic effects – 70 years);

- 365 – the number of days in a year.

Standardized values were used to calculate LADD: ED – 6 years for children, 30 years for adults; EF – 350 days; AT – 70 years.

In consideration of the aforementioned parameters, as well as the data concerning the consumption of the products under scrutiny and

the values of daily doses obtained, the dose of N-nitrosodimethylamine that is indicative of the carcinogenic effect of exposure through the consumption of meat and meat products sold in Vietnam was calculated.

Thus, the values of NDMA doses characterizing carcinogenic effect for different age groups of the population of Vietnam. The values obtained are given below.

- For children under 6 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was: $6.80 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (grilled); $2.59 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (fried); $4.78 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (baked); $1.73 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (smoked);

- For children 7-17 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was: $5.78 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (grilled); $2.07 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (fried); $4.06 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (baked); $1.77 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (smoked);

- For adults 18-50 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was: $5.73 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (grilled); $1.44 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (fried); $4.02 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (baked); $1.64 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (smoked);

- For adults over 50 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was: $1.64 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (grilled); $3.88 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (fried); $1.15 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day (baked); $4.20 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day (smoked).

The calculated values of NDPHA dose characterizing carcinogenic effect, associated with grilled meat and meat products, are presented below.

- For children under 6 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was $-5.99 \cdot 10^{-8}$ mg/kg of body weight per day;

- For children 7-17 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was $-5.09 \cdot 10^{-8}$ mg/kg of body weight per day;

- For adults 18-50 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was $-5.05 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day;

- For adults over 50 years of age, $LADD_{\text{carc}}$ was $-1.45 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day.

The exposure assessment, which included calculation of ADD for non-carcinogenic effects and LADD for carcinogenic effects, resulted in quantitative characterization of exposure to N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine in different age groups of the population of Vietnam.

As a result of the exposure assessment conducted, quantitative characterizations of exposure to N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine were obtained for different age groups of the population of Vietnam.

The ADD and LADD values presented to characterize exposure to N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine will be used to perform quantitative risk assessments, which are presented in the “risk characterization” step.

Risk characterization

Risk characterization involved the assessment of carcinogenic and non-carcinogenic risks based on dose loads determined during the exposure assessment phase. The non-carcinogenic risk was assessed using hazard ratios. The EAEU methodology for risk assessment provides for the use of evolutionary models [Development of methodological guidelines for the establishment and justification of hygienic standards for the content of chemical impurities, biological agents in food products according to the criteria of risk to human health], but due to the lack of necessary parameters for quantitative assessment of non-carcinogenic risk, the construction of such models in this study is not appropriate. The semi-quantitative non-carcinogenic risk assessment performed will allow prioritization of N-nitrosamines for further establishment of parameters for quantitative non-carcinogenic risk assessment.

The carcinogenic risk value (CR) was calculated by multiplying the lifetime average daily dose by the oral carcinogenic potential factor and by the malignancy severity factor (g) according to formula (2.3):

$$CR = LADD_{\text{carc}} * SF_o * g, \quad (2.3)$$

where:

$LADD_{\text{carc}}$ – is a lifetime average daily dose for carcinogenic effects;

SF_o – is a factor of carcinogenic potential in oral ingestion;

g – is a severity coefficient of malignant neoplasm (cancer).

The value of the malignant neoplasm severity coefficient (g) was taken to be 0.495, which corresponds to the severity coefficient for malignant neoplasms of the digestive organs.

Consequently, the obtained CR value characterizes the upper limit of carcinogenic risk over the average life expectancy.

In turn, the risk of non-carcinogenic effects is characterized by comparing actual exposure levels with safe exposure levels (hazard ratio/index).

To assess the risk of non-carcinogenic effects, this study used the hazard quotient HQ (Formula 2.4), which is defined as the ratio of the determined exposure ($LADD_{\text{non-carc}}$) to the reference level (RfD):

$$HQ = (LADD_{\text{non-carc}}) / RfD \quad (2.4)$$

For conditions of unidirectional exposure the characteristic of total non-carcinogenic risk is the value of hazard index (HI) (Formula 2.5):

$$HI = \sum [HQ_i], \text{ where} \quad (2.5)$$

HQ_i – hazard quotients for chemical substances.

In accordance with international recommendations, the term "unidirectional exposure to chemicals" refers to the effects of substances on the same organs or systems.

In the process of risk characterization the value of acceptable (tolerable) risk is used – the probability of occurrence of an event with insignificant consequences for health ($HQ \leq 1.0$; $HI \leq 1.0$).

Risk assessment was conducted for separate groups of meat products classified by cooking method (grilling, frying, baking, smoking), taking into account their daily consumption, as well as taking into account the average calculated doses of N-nitrosamines coming with each group of food products.

Thus, the results of calculations of carcinogenic and non-carcinogenic risk due to ingestion of NDMA and NDPHA with grilled meat and meat products are presented in Tables 2.9-2.10.

Table 2.9

Level of carcinogenic risk due to exposure to NDMA and NDPHA from consumption of grilled meat and meat products by the population of Vietnam

No.	Substance	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	1.72×10^{-5}	1.46×10^{-5}	1.45×10^{-4}	4.15×10^{-5}
2	NDPHA	1.45×10^{-10}	1.24×10^{-10}	1.22×10^{-9}	3.51×10^{-10}
3	Cumulative carcinogenic risk	1.72×10^{-5}	1.46×10^{-5}	1.45×10^{-4}	4.15×10^{-5}

Note: The level of carcinogenic risk above the acceptable (tolerable) level is highlighted in bold

Table 2.9 presents the results of the carcinogenic risk assessment due to exposure to NDMA and NDPHA in the consumption of grilled meat and meat products by the population of the Socialist Republic of Vietnam. Data analysis revealed that the cumulative carcinogenic risk associated with exposure to NDMA and NDPHA showed significant variation by age group.

It has been determined that for adults aged 18-50 years, the carcinogenic risk has attained an unacceptable level (1.45×10^{-4}). This value exceeds the risk benchmark level set at 1.0×10^{-4} . In the remaining age groups, including children under 6 years of age, children 7-17 years of age, and adults over 50 years of age, the observed levels of carcinogenic risk are acceptable. Analysis of the contribution of individual substances to the total carcinogenic risk shows that NDMA is the main risk determinant, while the contribution of NDPHA is negligible in all age groups. This demonstrates the need to focus on monitoring NDMA levels in grilled meat and meat products.

Table 2.10

Non-carcinogenic risk level associated with NDMA and NDPHA exposure in the population of Vietnam from consumption of grilled meat and meat products

No.	Substance	Critical organs and systems	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	NDMA	Developmental processes	1.03	0.88	1.74	0.50
2	NDPHA	Eyes (corneal opacity), systemic effects (body weight)	>0.01	>0.01	>0.01	>0.01

Note: the value of the hazard quotient higher than the acceptable (permissible) value is highlighted in bold

Table 2.10 presents the results of the assessment of non-carcinogenic risk associated with exposure to NDMA and NDPHA through consumption of grilled meat and meat products by the population of Vietnam. Analysis of the data showed that hazard quotients for NDMA were more than 1 for children under 6 years of age (1.03) and adults 18-50 years of age (1.74), indicating potential risk to critical organs and systems, particularly developmental processes. For children 7-17 years of age and adults over 50 years of age, the hazard ratio due to NDMA does not exceed 1 (0.88 and 0.50, respectively).

A study conducted to assess the public health risk of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine exposure from consumption of grilled meat and meat products in the Socialist Republic of Vietnam yielded the following key findings:

The cumulative individual carcinogenic risk due to exposure to NDMA and NDPHA for adult population of Vietnam aged 18-50 years from consumption of grilled meat and meat products was also consistent with the alarming level.

The non-carcinogenic risk assessment found an unacceptable level of risk formation among children under 6 years of age (HQ=1.03) and adults 18-50 years of age (HQ=1.74).

When assessing the non-carcinogenic risk formed by ingestion of NDPHA with grilled meat and meat products, the formation of an acceptable level of risk was found for all studied populations (HQ<0.01).

As the critical organs and systems are different for NDMA and NDPHA according to the Guidelines, no hazard indices were calculated.

After completing the analysis of the risk associated with consumption of grilled meat and meat products, it seems appropriate to move on to investigate the risk associated with ingestion of N-nitrosamines with baked meat and meat products. Due to the fact that only N-nitrosodimethylamine was identified in this product group, the risk assessment for this group was performed exclusively for this compound. The results of the quantification of carcinogenic and non-carcinogenic risk due to exposure to NDMA from baked meat and meat products are presented in Table 2.11.

Table 2.11

Level of carcinogenic and non-carcinogenic risk due to NDMA exposure from consumption of roasted meat and meat products by the population of SRV

No.	Risk nature (estimated value)	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18-50 years of age	Adults over 50 years of age
1	Carcinogenic (CR)	1.21*10 ⁻⁵	1.03*10 ⁻⁵	1.02*10⁻⁴	2.91*10 ⁻⁵
2	Non-carcinogenic (HQ)	0.73	0.62	1.22	0.35

Note: risk level above the acceptable (tolerable) level is highlighted in bold

Analysis of the results of the risk assessment results associated with consumption of baked meat and meat products containing N-nitrosamines prioritized for risk assessment, presented in Table 2.11,

revealed that the individual carcinogenic risk due to NDMA exposure for the population aged 18-50 years corresponds to an alarming level ($CR = 1.02 \cdot 10^{-4}$). Non-carcinogenic risk assessment revealed the formation of an unacceptable risk level also among the population aged 18-50 years ($HQ = 1.22$), indicating potential adverse effects on critical body systems due to exposure to nitrosamines.

Thus, the risk assessment associated with consumption of baked meat and meat products containing N-nitrosamines was limited to the analysis of NDMA due to the absence of other significant N-nitrosamines. The results indicate that NDMA is a key determinant of both carcinogenic and non-carcinogenic risk in adults aged 18-50 years.

After analyzing the risk associated with baked meat and meat products, we proceeded to analyzing the risk associated with the ingestion of N-nitrosamines with fried meat and meat products. The results of calculations of individual carcinogenic and non-carcinogenic risk due to consumption of smoked meat and meat products are presented in Table 2.12. Similar to baked meat products, the presence of NDPHA was also not detected in the tested samples of smoked meat and meat products.

Table 2.12

Level of carcinogenic and non-carcinogenic risk due to NDMA exposure from consumption of fried meat and meat products by the population of Vietnam

No.	Risk nature (estimated value)	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18- 50 years of age	Adults over 50 years of age
1	Carcinogenic (CR)	$6.55 \cdot 10^{-6}$	$5.24 \cdot 10^{-6}$	$3.64 \cdot 10^{-5}$	$9.78 \cdot 10^{-5}$
2	Non-carcinogenic (HQ)	0.39	0.32	0.44	0.12

Analysis of the data in the table shows that both carcinogenic and non-carcinogenic risk levels due to NDMA exposure did not exceed acceptable values for all age groups under study.

After analyzing the risk associated with fried meat and meat products, we proceed to analyze the risk due to ingestion of N-nitrosamines with smoked meat and meat products. The results of calculations of individual carcinogenic and non-carcinogenic risk due to consumption of smoked meat and meat products are presented in Table 2.13. Similar to baked and fried meat products, the presence of NDPHA was also not detected in the examined samples of smoked meat and meat products.

Table 2.13

Level of carcinogenic and non-carcinogenic risk due to NDMA exposure in smoked meat and meat products consumed by the population of Vietnam

No.	Risk nature (estimated value)	Children under 6 years of age	Children 7-17 years of age	Adults 18- 50 years of age	Adults over 50 years of age
1	Carcinogenic (CR)	4.37*10 ⁻⁶	4.47*10 ⁻⁶	4.14*10 ⁻⁵	1.06*10 ⁻⁵
2	Non-carcinogenic (HQ)	0.26	0.27	0.50	0.13

Analysis of the data in the table shows that both carcinogenic and non-carcinogenic risk levels due to NDMA exposure did not exceed acceptable values for all age groups under study.

A comprehensive analysis of the risk associated with the consumption of meat products containing N-nitrosoamines has established a number of important patterns. Carcinogenic and non-carcinogenic risk assessment for different types of meat products, including grilled, baked, fried and smoked meats, revealed significant differences in risk levels depending on the type of product processing and the age group of the population.

The results of the study showed that the most significant level of both carcinogenic and non-carcinogenic risk is formed by the consumption of grilled and baked meat, especially for adults in the Socialist Republic of Vietnam aged 18-50 years. These types of products have proven to be major sources of N-nitrosodimethylamine (NDMA) exposure, resulting in an unacceptable level of risk. At the same time, an analysis

of the risk associated with the consumption of smoked meat and meat products showed that the levels of both carcinogenic and non-carcinogenic risk due to NDMA exposure did not reach unacceptable values for any of the age groups studied

Assessment of uncertainties

During the hazard identification phase, we identified the uncertainties associated with:

1. Differences in the classification of carcinogens: there are differences in the carcinogenicity classifications of N-nitrosamines used by various international organizations such as IARC and US EPA.

2. Differences in research directions and results: most of the studies presented in the scientific literature focus on the study of the carcinogenic effect of N-nitrosamines. Studies on the non-carcinogenic effects of these compounds are considerably underrepresented. This may lead to an incomplete understanding of the range of potential negative effects on human health.

The following uncertainties due to the limited assessment of non-carcinogenic effects were identified at the dose-effect selection stage: a detailed assessment of harmful non-carcinogenic effects is available only for a limited number of substances. This introduces uncertainty into the non-carcinogenic risk assessment for all N-nitrosamines.

The following uncertainties associated with the exposure assessment phase were identified:

1. Limited number of samples: The evaluation of N-nitrosamines in meat products was based on the analysis of a limited number of samples, which may result in an incomplete representation of the distribution of these substances in the products under investigation and inaccurate exposure estimates.

2. Limited information on consumption: the estimation of food consumption in the population was based on limited data, which may introduce uncertainty in determining the real exposure to N-nitrosamines for different populations.

As a result of the uncertainty analysis, it can be concluded that the aggregate level of uncertainty in this risk assessment is high. The results require additional research to refine the data and reduce uncertainties in order to develop effective measures to manage risks and protect public health.

Results of a hygienic study on public health risk assessment of meat and meat products consumption in the Socialist Republic of Vietnam

The results of the hygienic study to assess the risk to public health when consuming meat and meat products sold in the territory of the Socialist Republic of Vietnam revealed:

1. In the hazard identification phase, among the nine N-nitrosamines identified in meat and meat products, N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiphenylamine were included in further risk assessment because they met the inclusion criteria (presence at concentrations above the limit of detection in more than 5% of product samples; presence of parameters for carcinogenic risk assessment; presence of parameters for non-carcinogenic risk assessment).

2. At the stage of selecting the exposure-response relationship, it was found that the following values of carcinogenic potential factors are appropriate for carcinogenic risk assessment: N-nitrosodimethylamine – $51 \text{ (mg/(kg} \times \text{day))}^{-1}$, N-nitrosodiphenylamine – $0.0049 \text{ (mg/(kg} \times \text{day))}^{-1}$. Reference doses were used as criteria of non-carcinogenic risk: for N-nitrosodimethylamine – $0.000008 \text{ mg/kg body weight}$ (critical organs and systems – developmental processes); N-nitrosodiphenylamine – $0.02 \text{ mg/kg body weight}$ (critical organs and systems – eyes (cornea opacity), systemic effects (change in body weight)).

3. During the exposure assessment phase, average daily doses of N-nitrosamines were established for carcinogenic and non-carcinogenic risk assessment.

The average daily dose for exposure to N-nitrosodimethylamine from meat and grilled meat products for the population of the Socialist

Republic of Vietnam was $4.00 \cdot 10^{-6}$ to $1.39 \cdot 10^{-5}$ mg/kg body weight per day.

The average daily dose for N-nitrosodiphenylamine exposure to grilled meat and meat products ranged from $3.52 \cdot 10^{-7}$ to $1.23 \cdot 10^{-6}$ mg/kg body weight per day.

The average daily dose of N-nitrosodimethylamine characterizing carcinogenic effect ($LADD_{\text{carc}}$) ingested with grilled meat and meat products was: for children under 6 years of age, $6.80 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years of age, $5.78 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years of age, $5.73 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years of age, $1.64 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day.

The dose of N-nitrosodiphenylamine, characterizing carcinogenic effect, for grilled meat and meat products was: for children under 6 years old – $5.99 \cdot 10^{-8}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years old – $5.09 \cdot 10^{-8}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years old – $5.05 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years old – $1.45 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose for exposure to N-nitrosodimethylamine from fried meat and meat products for the population of the Socialist Republic of Vietnam was $9.43 \cdot 10^{-7}$ to $3.51 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose of N-nitrosodimethylamine characterizing carcinogenic effect ($LADD_{\text{carc}}$) ingested with fried meat and meat products was: for children under 6 years of age, $2.59 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years of age, $5.78 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years of age, $1.44 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years of age, $3.88 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose for exposure to N-nitrosodimethylamine from baked meat and meat products for the population of the Socialist Republic of Vietnam ranged from $2.81 \cdot 10^{-6}$ to $9.79 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose of N-nitrosodimethylamine characterizing carcinogenic effect ($LADD_{\text{carc}}$) ingested with baked meat and meat products was: for children under 6 years of age, $4.78 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years of age, $4.06 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years of age, $4.02 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years of age, $1.15 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose for exposure to N-nitrosodimethylamine from smoked meat and meat products for the population of the Socialist Republic of Vietnam ranged from $1.02 \cdot 10^{-6}$ to $3.99 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day.

The average daily dose of N-nitrosodimethylamine characterizing carcinogenic effect ($LADD_{\text{carc}}$) entering with smoked meat and meat products was: for children under 6 years old – $1.73 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for children 7-17 years old – $1.77 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day; for adults 18-50 years old – $1.64 \cdot 10^{-6}$ mg/kg of body weight per day; for adults over 50 years old – $4.20 \cdot 10^{-7}$ mg/kg of body weight per day.

4. During the risk characterization phase, an alarming level of carcinogenic risk was found among adults aged 18-50 years due to exposure to NDMA from grilled meat and meat products (CR up to $1.45 \cdot 10^{-4}$) and baked meat and meat products (CR up to $1.02 \cdot 10^{-4}$).

However, in the population of this age group, the formation of an unacceptable level of non-carcinogenic risk due to ingestion of NDMA with grilled meat and meat products (HQ up to 1.74) and baked meat and meat products (HQ up to 1.22) was found.

Among children under 6 years of age, there was an unacceptable level of noncarcinogenic risk generation due to exposure to NDMA from grilled meat and meat products (HQ up to 1.03).

The results of the conducted risk assessment indicate the necessity to develop parameters of the exposure-effect relationship for further quantitative assessment of the non-carcinogenic risk formed by exposure to N-nitrosodimethylamine, which determines the primary task in establishing scientifically justified starting points. It should be noted,

however, that despite the developmental reference dose of NDMA used in this study in accordance with Guideline R.2.1.10.3968-23, existing scientific data indicate a wider range of toxic effects of N-nitrosamines, including NDMA [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine; Sheweita, Mostafa, 1996].

In particular, there are scientific literature publications demonstrating that N-nitrosamines, including NDMA, can have negative effects not only on developmental processes but also on liver function [Shur, Suvorov, Zemlyanova, Zelenkin, 2020; Suvorov, Shur, Zelenkin, 2024; Gao et al., 2017; Wong, Murphy, Wang, Hecht, 2003]. A number of studies indicate hepatotoxic effects of N-nitrosamines. It should be noted, however, that the allowable daily dose (ADD) values for nitrosamines established on the basis of BMDL (benchmark dose level of exposure causing a particular effect) in these studies appear to be more stringent than the reference dose (RfD) for NDMA with respect to developmental processes used in the present study. However, the established BMDL levels for N-nitrosamines in these studies, due to the specificity of their experimental design, cannot be used as a universal criterion in assessing the non-carcinogenic risk associated with the consumption of foods containing nitrosamines.

This necessitates a specialized toxicological experiment on laboratory animals to be conducted. Such an experiment, performed in accordance with international standards and using validated methods, will provide more accurate data on the parameters of the dose-effect relationship for the hepatotoxic effect of N-nitrosamines. The data obtained from such an experiment will make it possible to refine the parameters for quantifying the non-carcinogenic risk due to exposure to nitrosamines and to establish scientifically valid starting points applicable to different types of food products and population categories.

Thus, there is a need to refine the parameters of liver risk assessment. This requires additional studies to establish biomarkers of effect [Zemlyanova, Dolgikh, 2010] and exposure, which would allow a more accurate characterization and quantification of the hepatotoxic effect of NDMA and other N-nitrosamines.

CHAPTER 3. ESTABLISHMENT OF EXPOSURE-EFFECT RELATIONSHIP PARAMETERS FOR RISK ASSESSMENT BASED ON TOXICOLOGICAL EXPERIMENT USING EXPOSURE AND EFFECT BIOMARKERS

Exposure-response parameters for the assessment of public health risk associated with exposure to N-nitrosoamines were refined within the framework of joint research work between the Federal Scientific Center of Health Risk Management Technologies, Perm, Russian Federation and NIFC, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam.

As it was established at the previous stage, the semi-quantitative assessment of the health risk for the population of Vietnam formed by the consumption of meat and meat products containing N-nitrosamines, revealed the formation of an alarming level of non-carcinogenic risk for the adult population at oral intake of N-nitrosodimethylamine with fried and smoked meat and meat products. These foods have been identified as major sources of N-nitrosamines [Özbay, Şireli, 2021; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023; Park, Seo, Lee, Kwon, 2015; Lee, 2024].

It should be noted that, despite the importance of the results obtained, the international principles of health risk analysis [Codex Alimentarius Commission. Risk analysis] do not suggest a quantitative assessment of non-carcinogenic risk.

At the same time, a number of studies are devoted to the evaluation of the carcinogenic effect of N-nitrosamines, primarily NDMA, which is generally regarded as benchmark-free, with an underlying genotoxic nature [National Toxicology Program; U.S. Environmental Protection Agency, 1987; Hidajat et al., 2019; Boniol, Koechlin, Boyle, 2017]. However, a literature review of toxicological experiments in animals (rats) revealed that N-nitrosamines, particularly NDMA, can cause effects whose effects are characterized by BMD levels. This observation is more centered on an in-depth study of the mechanistic basis of these effects.

In their review of the development of toxic effects in oral ingestion of N-nitrosoamines, Liteplo and Meek noted that the toxicological effects of NDMA develop through the mechanism of alkylation of biological macromolecules (e.g., DNA, RNA, proteins) by the methyldiazonium ion formed during metabolism [Liteplo and Meek, 2001]. In addition, oral ingestion of NDMA has effects on various organs and systems, including the liver (vacuolization of hepatocytes, portal venopathy and necrosis/bleeding), kidneys (e.g., glomerular enlargement and slight thickening of Bowman's capsule), spleen (blood stasis in the spleen), and may also cause gastrointestinal bleeding [Barnes and Magee, 1954; Khanna and Puri, 1966; Reuber and Lee, 1968; Maduagwu and Bassir, 1980; Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996; Chooi, Rajendran, Phang and Toh, 2016; Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022]. The content of liver function indices in serum is considered as promising biomarkers of effect of NDMA exposure [Usunomena et al., 2012].

In turn, in a study by Moniuszko-Jakoniuk et al. it was shown that oral exposure to NDMA at doses of 0.002 and 0.003 mg/kg/day in rats resulted in histopathologic changes in the liver. These changes included hepatocyte degeneration, formation of argyrophilic and collagen fibers, and inflammatory infiltrates in the vicinity of the portal bile ducts after 30 days. At the same time, after 90 days, the effect was intensified and manifested as steatosis and liver parenchymatosis [Moniuszko-Jakoniuk, Roszczenko and Dzieciol, 1999]. Similarly, studies by Roszczenko et al. on rats showed that chronic oral ingestion of NDMA leads to a decrease in total and latent serum iron-binding capacity and an increase in serum levels of liver enzymes (alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and γ -glutamyltransferase (GGT)) at a single administered dose of 20 μ g/kg of body weight [Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Thus, the liver is the main target organ in the formation of non-carcinogenic effects during oral ingestion of NDMA. The activity

of ALT, AST, and GGT in serum are considered as biomarkers of the response to the hepatotoxic effect of N-nitrosamines [Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022].

Gamma-glutamyltransferase is a specific marker of liver and biliary tract damage. It should be noted that GGT activity can increase even in minor, subclinical liver function disorders, which characterizes this index as the most sensitive biomarker reflecting liver damage [Roszczenko, Jablonski and Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Aspartate aminotransferase, also known as serum glutamate-oxaloacetate transaminase, is elevated in cases of acute liver injury. However, it should be kept in mind that AST is also present in red blood cells, cardiac and skeletal muscle and is therefore not a specific marker for the liver. Elevated AST levels can occur either with damage to the heart or skeletal muscle or with damage to the liver parenchyma. In clinical practice, the presence of elevated ALT and AST values indicates possible liver damage.

In turn, alanine aminotransferase, also called serum glutamate-pyruvate transaminase, is an enzyme present predominantly in hepatocytes. When a cell is damaged, it releases this enzyme into the bloodstream, where it is measured. ALT is dramatically elevated in cases of acute liver injury. At the same time, according to the data presented by Usunomena et al., alanine aminotransferase is a more reliable marker of liver integrity than aspartate aminotransferase [Usunomena et al., 2012]. It should be noted that liver enzymes are usually found in the circulation in small amounts due to the growth and repair processes of the liver. As a liver-specific enzyme, ALT is significantly elevated only in hepatobiliary diseases. Elevated AST levels, as noted earlier, can occur with damage to cardiac or skeletal muscle as well as liver parenchyma.

Thus, a literature review of toxicological experiments on animals (rats) established that N-nitrosamines, in particular NDMA, along with benchmark-free action, have effects whose effects are characterized by benchmark levels. At the same time, the liver acts as a target organ in

the non-carcinogenic action of N-nitrosamines, and changes in serum concentrations of GGT, AST, and ALT act as biomarkers of negative effects.

At the same time, despite the studies of NDMA effects on the body, which revealed the benchmark character of the development of some effects, the analysis of the literature showed that the established minimum risk level (MRL) is 0.00001 mg/kg of body weight per day [Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA)]. This MRL was derived from $BMDL_{1SD}$ 0.0014 mg/kg body weight per day (where decreased serum iron-binding capacity was identified as a critical effect) using an uncertainty factor UF) of 100 (10 for extrapolation of results from animals to humans, 10 to account for the sensitive population: infants, children, elderly, pregnant women). It should be noted that the BMDL value obtained was established on the basis of an acute experiment using one experimental group receiving a daily dose of NDMA 0.002 mg/kg of body weight for 10 days.

US EPA suggests using the results of the study by Anderson et al. as a chronic reference dose for assessing the risk posed by NDMA. [Anderson et al., 1978]. A 10-week experiment on 10 mice using a single study dose (100 mg/kg body weight) and detecting adverse effects from oral ingestion of NDMA established a LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) of 0.025 mg/kg of body weight per day, based on which a reference dose was established at 8×10^{-6} mg/kg of body weight [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine]. However, developmental abnormalities including stillbirth, decreased gestational age, increased neonatal mortality and increased proportion of males in the litter were noted as critical effects.

It is important to point out that uncertainties associated with extrapolation of animal-to-human data (equal to 10), consideration of sensitive populations (equal to 10), use of LOAEL as a starting point (equal to 10), and uncertainty in the data, including lack of multigenerational neurotoxicity and reproductive studies (equal to 3),

were used in the calculation of RfD. Thus, the total modifying factor amounted to 3000.

In addition, US EPA experts considered the sufficiency of the data and uncertainty values when analyzing the results and proposed uncertainties. However, the cause of the increased perinatal mortality was unclear, and the potential mechanism of action of the highly altered weaner sex ratio was unknown. However, because perinatal mortality could have resulted from exposure to NDMA and US EPA had results from other toxicology experiments in mice, and because the Anderson et al. critical study was a developmental pathology study based on standard US EPA methodology, the uncertainty factor values were considered sufficient [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine].

EPA experts also noted that despite the sufficient number of mice used, the study included only one level of exposure, and the results were not presented in full. In addition, neither perinatal mortality nor sex ratio changes in weanlings have been confirmed in other NDMA studies [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine].

Nevertheless, the results of the study by Anderson et al. [Anderson et al., 1978] were used to establish RfD because they were supported by the results of the experiment of Peto et al. [Peto et al., 1991]. Their study examined the development of adverse liver effects in rats when NDMA was consumed with water (at concentrations ranging from 0.033 to 16.896 ppm). Among all the non-carcinogenic effects observed, the formation of hepatocyte cytomegaly was statistically significant. Based on the development of cytomegaly, the LOAEL was set at 0.043 mg/kg body weight and the NOAEL at 0.022 mg/kg body weight. Moreover, the magnitude of the NOAEL obtained is comparable to the LOAEL obtained in the study by Anderson et al. [Anderson et al., 1978], indicating that the effects associated with developmental pathologies will occur earlier, and therefore, it is more appropriate to use them in the establishment of RfD.

Thus, the conducted analysis of literature data corresponding to the stage of hazard identification showed that in experimental studies of NDMA toxicity along with carcinogenic effects non-carcinogenic effect on the liver was established. Changes in serum concentrations of AST, ALT, GGT can be considered as biomarkers of the development of negative effects.

Thus, due to the uncertainties identified, as well as the validity of the developed parameters on acute exposure, the use of a reference dose for risk assessment for oral ingestion of NDMA is premature.

Consequently, it is advisable to conduct a chronic toxicological experiment to refine the parameters for quantitative assessment of the risk formed by ingestion of NDMA with food products.

In this regard, in order to quantify the non-carcinogenic risk formed by exposure to N-nitrosodimethylamine, the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies and the National Institute for Food Control developed an appropriate experimental design.

Design of an animal model experiment to validate parameters for quantifying the non-carcinogenic risk generated by N-nitrosodimethylamine exposure

The experiment was conducted on the basis of NIFC (Hanoi, SRV) in accordance with the agreement between the Federal Scientific Center for Medical and NIFC. The experimental design was formally endorsed by the minutes of the joint meeting, and its execution was sanctioned by the local ethical committee of the Federal Scientific Center for Medical, thereby ensuring adherence to all pertinent ethical standards.

Based on the results of the hazard identification performed, hepatotoxic effect of NDMA was considered as a non-carcinogenic effect of NDMA at oral intake. Changes in serum indices of hepatic function (AST, ALT and GGT) were considered as biomarkers of effect. A study to validate parameters for risk assessment was conducted on

inbred Wistar line animals. The animals were cared for and maintained in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes ETS N 123 [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes ETS N 123] and the OECD Guidelines for Chronic Toxicology Studies [OECD 2018]. [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals] and the OECD Guidelines for Chronic Toxicology Research [OECD, 2018].

For chronic toxicological studies, it is advisable to select an animal model that corresponds to the biological mechanisms of the human body [Cruz, Gomes, Landeira-Fernandez, 2024; Wei et al., 2024]. The choice of animal model for the study was based on the principles of selection of model organisms for laboratory research according to the GLP guidelines [Carroll, 2016] and met the following criteria:

1. Model relevance: the use of rats as a model was due to the similarity of their liver structure and function to the human liver, especially in the context of drug and toxicant metabolism. This ensures the biological plausibility of the results obtained [Kogure et al., 1999; Muzhikyan et al., 2017].

2. Genotypic homogeneity: inbred animals were used to provide increased predictability of results. Inbred lines are characterized by a high degree of genetic homogeneity, which minimizes the influence of hidden recessive traits and creates a more homogeneous population for research. This makes it possible to exclude the influence of different genetic combinations on the results of the study, which increases the accuracy and reliability of the obtained data [Gaidai, Gaidai, 2019].

3. frequent use of rats as animal models in research: rats are widely used to study the toxicity of chemicals, which makes them an excellent model with a rich database and developed protocols [Semakova, Germanchuk, Shavina, 2021; Shagidulin et al., 2017].

4. Availability and cost: rats are readily available and relatively inexpensive to keep.

5. Specifications: The rats are large enough for a number of procedures, including collection of blood samples, as well as for administration of test substances.

The animals were purchased from a specialized vivarium operating in the territory of the Socialist Republic of Vietnam in Hanoi.

Rats admitted to the NIFC vivarium were quarantined for 5 days under general observation, in a room isolated from other animal species.

Before the start of the experiment, the animals were 6 weeks old and weighed ($SD \pm m$) - in males, 196.7 ± 16.1 grams; in females, up to 178.6 ± 15.0 grams.

The animals were kept in groups of 2-3 animals in each cage. Each cage was labeled with the group to which the animals were assigned, body weight, age, sex, number of animals per cage, and duration of the experiment.

The animals were randomly divided into 5 groups of 13 animals in each group with equal number of males and females depending on the dose of administered NDMA solution:

Group No. 1 received NDMA solution at a dose equal to 0.001 of the LD_{50} value (0.04 mg/kg of body weight), a dose that will not cause animal death and provides opportunities to build models of the exposure-biomarker response relationship;

Group #2 received NDMA solution at a dose equal to the LOAEL (0.002 mg/kg body weight) [Lathouri, Korre, Dusinska and Durucan, 2022];

Group No. 3 received NDMA solution at a dose at 0.00001 of the LD_{50} value (0.0004 mg/kg body weight), a dose that provided a step to build exposure-response biomarker relationship models;

Group No. 4 received NDMA solution at the level of the maximum dose established in Chapter 1 of this study as a formative adverse effect in adults for consumption of meat and meat products (0.00002 mg/kg of body weight);

Group No. 5 was the control group receiving distilled water (1 ml).

A chronic toxicology experiment lasting 180 days was designed to evaluate the non-carcinogenic effect of NDMA on animals. Every day

in the morning, on an empty stomach, after weighing, the laboratory animals were injected with NDMA solution according to their experimental group. Administration was done per os (orally) using a probe, taking into account the body weight of each animal. Individual doses of NDMA (mg/kg of body weight) administered to laboratory animals depending on the experimental groups and duration of the experiment ranged from $6.16 \cdot 10^{-3}$ to $1.54 \cdot 10^{-2}$ for Group No. 1; from $3.20 \cdot 10^{-4}$ to $7.16 \cdot 10^{-4}$ for Group No. 2; from $7.03 \cdot 10^{-5}$ to $1.54 \cdot 10^{-4}$ for Group No. 3; from $3.43 \cdot 10^{-6}$ to $7.25 \cdot 10^{-6}$ for Group No. 4.

Blood sampling to analyze exposure and effect biomarkers was performed once a month throughout the experiment. Blood tests for response biomarkers (AST, ALT and GGT) were performed by an accredited laboratory center using colorimetric methods. Blood analysis for exposure biomarkers was performed at NIFC at an accredited food and allergen toxicology laboratory by gas chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry (GC-MS/MS).

The Mann-Whitney U-criterion was applied to statistically process the data and establish the starting point of BMDL type. This nonparametric method was used to compare data distributions between groups (e.g., control and experimental) in order to identify statistically significant differences in indicators characterizing the impact of the factor under study ($p < 0.05$). This test was preferred over parametric methods because of the possible violation of the assumptions of normality of data distribution.

A nonlinear regression method was used to evaluate the relationship between the dose of NDMA and its concentration in the blood of laboratory animals. Analyses were conducted separately for each experimental group, and for all groups together. Blood NDMA concentration (mg/ml) served as the dependent variable, and individual NDMA dose (mg/kg of body weight) served as the independent variable.

The statistical significance of the obtained results was assessed using chi-squared distribution. The coefficient of determination (R^2) was

used to assess the quality of the model fit. All statistical calculations were performed using Statistica 13.0 software package.

The sliding window method was used to establish the reference level (BMDL) in accordance with the methodology approved by the EEC for establishing and substantiating hygienic standards for the content of chemical impurities in food products according to the criteria of risk to human health [Methodological Guidelines for Establishing and Substantiating Hygienic Standards]. This method (OR, 95% confidence interval, $R^2 \geq 0.5$) allowed us to analyze the data in a time-dependent manner and identify the exposure threshold below which no statistically significant effect was observed ($p \leq 0.05$). The requirement of $R^2 \geq 0.5$ ensured sufficient explanatory power of the model. The use of this method allowed us to account for the potential non-linearity of the dose-response relationship, providing a more accurate determination of BMDL.

The following sections present detailed results of the above methods and their interpretation, including specific p values for each statistical test and R^2 values for the sliding window method.

Assessment of dose-dependent effects (responses) from toxicological experiment on animal models

To assess dose-dependent effects under conditions of prolonged exposure to NDMA, it was of interest to follow the monthly dynamics of blood biochemical parameters reflecting the activity of the main hepatic enzymes. The analysis of AST, ALT and GGT activity, conducted at the end of each month of the experimental period, including the month 6, made it possible to assess the change in the nature of hepatotoxic effect of NDMA.

Before the beginning of the experiment, blood was collected from rats to determine the baseline values of biochemical parameters. This made it possible to establish baseline levels of liver enzymes (AST, ALT, GGT) and further analyze the possible relationship between NDMA exposure and changes in these parameters (Table 3.1).

Table 3.1

Blood biochemical parameters of rats before the beginning of the experiment, presented as median (Me[Q25;Q75])

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	304.1 [258,3; 324,1]	50.9 [39,8; 57,1]	3.3 [2,8; 3,5]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	265.4 [248,7; 324,7]	47.1 [41,8; 49,5]	2.5 [2,4; 3,0]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	230.1 [222,5; 245,0]	51.1 [42,9; 58,1]	2.7 [2,5; 2,9]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	274.9 [273,4; 280,7]	45.7 [41,8; 55,8]	3.7 [2,5; 4,3]
Group No. 5 (control)	240.3 [219,9; 259,3]	40.7 [38,9; 49,6]	3.3 [2,5; 3,6]

Analysis of baseline values of AST, ALT, GGT in all groups of animals did not reveal significant differences between groups ($p \leq 0.05$) (Table 3.2).

Table 3.2

Results matrix of nonparametric Mann-Whitney test: comparison of the distributions of these biomarkers of the effect of NDMA exposure between groups of animals (background values)*

Significance of differences in background values of AST between experimental groups					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 20; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 10; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 13; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 18; Ucrit = 8; $p > 0.05$	–
Group No. 4	Uemp = 14; Ucrit = 5; $p > 0.05$	Uemp = 10; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 7; Ucrit = 5; $p > 0.05$	–	Uemp = 18; Ucrit = 8; $p > 0.05$
Group No. 3	Uemp = 15; Ucrit = 5; $p > 0.05$	Uemp = 20; Ucrit = 8; $p > 0.05$	–	Uemp = 7; Ucrit = 5; $p > 0.05$	Uemp = 13; Ucrit = 8; $p > 0.05$
Group No. 2	Uemp = 10; Ucrit = 8; $p > 0.05$	–	Uemp = 20; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 10; Ucrit = 8; $p > 0.05$	Uemp = 16; Ucrit = 11; $p > 0.05$
Group No. 1	–	Uemp = 16; Ucrit = 11; $p > 0.05$	Uemp = 15; Ucrit = 5; $p > 0.05$	Uemp = 14; Ucrit = 5; $p > 0.05$	Uemp = 20; Ucrit = 8; $p > 0.05$

Significance of differences in background values of ALT between experimental groups					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 22; Ucrit = 11; p>0.05	Uemp = 17; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0.05	–
Group No. 4	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	–	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 3	Uemp = 19; Ucrit = 11; p>0.05	Uemp = 14; Ucrit = 7; p>0.05	–	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 2	Uemp = 20; Ucrit = 11; p>0.05	–	Uemp = 14; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 17; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 1	–	Uemp = 20; Ucrit = 11; p>0.05	Uemp = 19; Ucrit = 11; p>0.05	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 22; Ucrit = 11; p>0.05
Significance of differences in background values of GGT between experimental groups					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 23,5; Ucrit = 11; p>0.05	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 9; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0.05	–
Group No. 4	Uemp = 15,5; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	–	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 3	Uemp = 4,5; Ucrit = 6; p>0.05	Uemp = 6; Ucrit = 5; p>0.05	–	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 9; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 2	Uemp = 14,5; Ucrit = 8; p>0.05	–	Uemp = 6; Ucrit = 5; p>0.05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0.05	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0.05
Group No. 1	–	Uemp = 14,5; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 4,5; Ucrit = 6; p>0.05	Uemp = 15,5; Ucrit = 8; p>0.05	Uemp = 23,5; Ucrit = 11; p>0.05

**significant differences are highlighted in green, insignificant differences – in yellow*

In addition, preliminary blood testing for biomarkers of NDMA exposure showed the absence of this substance in all experimental groups.

One month after the start of daily administration of different doses of NDMA, blood sampling was repeated to analyze biomarkers of effect and exposure (Table 3.3-3.4).

Table 3.3

**Median values (Me [Q25; Q75]) of biochemical parameters
in rat blood after one month of NDMA exposure**

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
1	2	3	4
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	290.3 [275,3; 325,5]	83,1 [80,5; 83,6]	3.2 [2,3; 3,5]

1	2	3	4
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	392.2 [376,2; 508,6]	77,8 [69,9; 78,8]	3.7 [3,3; 4,5]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	279.5 [255,9; 302,9]	61,2 [60,1; 62,2]	2.9 [2,6; 3,2]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	274.9 [292,2; 335,7]	68,1 [67,1; 75,4]	3.0 [2,7; 3,5]
Group No. 5 (control)	240.3 [276,5; 368,1]	62,1 [55,5; 71,1]	3.3 [3,0; 4,2]

The results of statistical analysis of the data presented in Table 3.3 demonstrated the presence of statistically significant intergroup differences in NDMA exposure and AST activity ($p \leq 0.05$) using the non-parametric Mann-Whitney U-criterion. Paired comparisons revealed statistically significant differences between Group No. 2 and Groups No. 1, No. 3, and No. 4, as well as between Group No. 4 and Groups No. 2 and No. 3, and Group No. 5 and Group No. 2. These results suggest that different doses of NDMA have differential effects on AST activity.

A similar comparative analysis of ALT activity in the serum of animals exposed to different doses of NDMA also revealed statistically significant intergroup differences ($p \leq 0.05$). Paired comparisons showed statistically significant differences between Group No. 1 and Groups No. 4 and No. 5, Group No. 2 and Groups No. 4 and No. 5, Group No. 3 and Group No. 4, and Group No. 4 and Groups No. 1, No. 2, and No. 3. The results confirm the presence of a dose-dependent effect of NDMA on ALT activity, indicating its potential hepatotoxic effect.

Evaluation of GGT activity in the studied groups of animals also revealed significant intergroup differences: between Group No. 1 and Groups No. 2, No. 4, and No. 5; Group No. 2 and Groups No. 1, No. 4, and No. 5; Group No. 3 and Groups No. 2 and No. 5; and Group No. 4 and Groups No. 1, No. 2, and No. 5. Group No. 3 was statistically significantly different only from Group No. 2. The observed changes in GGT activity allow us to conclude about the development of hepatotoxic effect of NDMA already during the first month of experimental exposure.

Table 3.4

Results of assessment of exposure biomarkers in blood after the first month of the experiment on laboratory animals

Animal groups (NDMA dose)	Concentration of NDMA in blood on average in the experimental group, ng/ml
Group No. 5 (control)	0.000
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	0.515±0.015
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	0.635±0.113
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	0.564±0.164
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	0.670±0.088

Note – M ± SD – mean value ± standard deviation

During the study, the concentration of NDMA in the blood of laboratory animals in the experimental groups ranged from 0.515±0.015 to 0.670±0.088 ng/ml.

After two months of the experimental period, the median values of hepatotoxicity biomarkers (AST, ALT and GGT activities) were determined and presented in Table 3.5.

Table 3.5

Median values (Me [Q25; Q75]) of biochemical parameters in rat blood after two months of NDMA exposure

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	AST	AST
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	238.2 [224,2; 252,2]	238.2 [224,2; 252,2]	238.2 [224,2; 252,2]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	243.4 [225,5; 281,2]	243.4 [225,5; 281,2]	243.4 [225,5; 281,2]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	300.0 [270,0; 315,2]	300.0 [270,0; 315,2]	300.0 [270,0; 315,2]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	290.0 [278,5; 303,0]	290.0 [278,5; 303,0]	290.0 [278,5; 303,0]
Group No. 5 (control)	330.0 [320,7; 356,2]	330.0 [320,7; 356,2]	330.0 [320,7; 356,2]

Statistical analysis of the relationship between the activity of liver enzymes in blood and the level of NDMA exposure using the Mann-Whitney U-criterion revealed the following patterns.

In particular, analysis of AST activity in five groups of animals after two months of exposure to different doses of NDMA revealed statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between the control group (No. 5) and all experimental groups (No. 1-4). In addition, statistically significant differences were found between Group No. 4 and Groups No. 1, No. 2, and No. 3, and between Group No. 3 and Groups No. 1 and No. 2, and Group No. 2 and Groups No. 1 and No. 3. Statistically insignificant differences ($p > 0.05$) were found between Group No. 4 and No. 3, as well as between Groups No. 2 and No. 1.

The results suggest that there is a relationship between serum AST activity and NDMA exposure after two months of exposure.

Comparative analysis of ALT activity in the blood serum of experimental animals (Group 2, Group 3, Group 4 and Group 5) two months after the beginning of NDMA exposure revealed statistically significant intergroup differences ($p \leq 0.05$). In particular, ALT activity in the control group (No. 5) was statistically significantly different from the enzyme activity in Groups No. 2, No. 3, and No. 4. In addition, Group No. 4 showed statistically significant differences with Groups No. 2 and No. 3. Statistically insignificant differences ($p > 0.05$) were noted between Groups No. 5 and No. 4, and between Groups No. 2 and No. 1, and Groups No. 3 and No. 1. Based on the data obtained, a dose-dependent trend in the change in ALT activity under the influence of NDMA can be assumed, although statistically significant differences were not found in all paired comparisons.

Evaluation of GGT activity in five groups of experimental animals after two months of exposure to different doses of NDMA also revealed statistically significant intergroup differences ($p \leq 0.05$). In particular, GGT activity in the control group (No. 5) was statistically significantly different from the enzyme activity in Groups No. 1, No. 2, and No. 3. Group No. 4 also showed statistically significant differences with groups

No. 2 and No. 3, and group No. 1 with groups No. 2 and No. 3. Statistically insignificant differences ($p > 0.05$) were noted between Groups No. 1 and No. 4, No. 2 and No. 1, and No. 3 and No. 1. The results indicate that there is a dose-dependent effect of NDMA on GGT activity, although not all intergroup comparisons showed statistically significant differences.

Along with the evaluation of biochemical parameters, at one stage of the experimental period (one month after the beginning of exposure) the concentration of NDMA in the blood of animals was analyzed (the data are presented in Table 3.6).

Table 3.6

Results of assessment of exposure biomarkers in blood after the second month of the experiment on laboratory animals

Animal groups (NDMA dose)	Concentration of NDMA in blood on average in the experimental group, ng/ml
Group No. 5 (control)	0.00
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	0.95 ± 0.055
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	0.96 ± 0.044
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	0.99 ± 0.023
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	1.0 ± 0.03

Note – $M \pm SD$ – mean value $\pm$ standard deviation

The data from the analysis of NDMA concentration in the blood of experimental animals obtained two months after the start of exposure (Table 3.6) showed values ranging from 0.95 ± 0.055 ng/mL (Group No. 4) to 1.0 ± 0.03 ng/mL (Group No. 1), indicating a

slight but consistent increase in the mean blood concentration of NDMA.

In order to assess the dynamics of the development of hepatotoxic effect of NDMA in the medium term (90 days from the beginning of experimental exposure), the blood biochemical parameters of experimental animals were analyzed. Table 3.7 presents the results of key biomarkers of hepatic function aimed at identifying early signs of hepatocyte damage under NDMA exposure and assessing the severity of dose-dependent effects.

Table 3.7

Median values (Me [Q25; Q75]) of blood biochemical parameters of rats on the half of the experimental period of NDMA exposure

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	238.2 [216.2; 258.8]	62.4 [57.0; 66.7]	4.1 [3.0; 4.8]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	254.9 [229.7; 290.5]	63.1 [51.1; 70.8]	3.7 [2.8; 4.4]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	300.0 [260.0; 317.5]	60.7 [59.5; 70.2]	2.0 [2.0; 2.6]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	294.3 [283.7; 338.1]	87.8 [86.0; 102.0]	2.4 [2.1; 2.8]
Group No. 5 (control)	292.5 [264.1; 330.0]	80.9 [70.5; 84.2]	2.3 [2.0; 3.7]

Evaluation of GGT activity in the serum of five groups of animals after three months of exposure to NDMA using the Mann-Whitney U test revealed statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between the control group (#5) and a number of study groups (Table 3.8).

Table 3.8

Results matrix of nonparametric Mann-Whitney test: comparison of the distributions of these biomarkers of the effect of NDMA exposure between groups of animals (3 months from the beginning of the experiment)*

Significance of differences in AST values between experimental groups after 3 months of inoculation with different doses of NDMA					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 36; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$	Uemp = 47; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 55; Ucrit = 33; $p > 0.05$	Uemp = 56; Ucrit = 37; $p > 0.05$	–
Group No. 4	Uemp = 14; Ucrit = 37; $p \leq 0.05$	Uemp = 23; Ucrit = 34; $p \leq 0.05$	Uemp = 34; Ucrit = 20; $p > 0.05$	–	Uemp = 56; Ucrit = 37; $p > 0.05$
Group No. 3	Uemp = 19; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 25; Ucrit = 30; $p > 0.05$	–	Uemp = 34; Ucrit = 20; $p > 0.05$	Uemp = 55; Ucrit = 33; $p > 0.05$
Group No. 2	Uemp = 61; Ucrit = 47; $p > 0.05$	–	Uemp = 25; Ucrit = 30; $p > 0.05$	Uemp = 23; Ucrit = 34; $p \leq 0.05$	Uemp = 47; Ucrit = 47; $p \leq 0.05$
Group No. 1	–	Uemp = 61; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 19; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 14; Ucrit = 37; $p \leq 0.05$	Uemp = 36; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$
Significance of differences in ALT values between experimental groups after 3 months of inoculation with different doses of NDMA					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 39; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$	Uemp = 38; Ucrit = 47; $p \leq 0.05$	Uemp = 24; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 18; Ucrit = 37; $p > 0.05$	–
Group No. 4	Uemp = 10; Ucrit = 27; $p \leq 0.05$	Uemp = 12; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	Uemp = 6; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	–	Uemp = 18; Ucrit = 37; $p > 0.05$
Group No. 3	Uemp = 55; Ucrit = 33; $p > 0.05$	Uemp = 52; Ucrit = 30; $p > 0.05$	–	Uemp = 6; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	Uemp = 24; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$
Group No. 2	Uemp = 78; Ucrit = 47; $p > 0.05$	–	Uemp = 52; Ucrit = 30; $p > 0.05$	Uemp = 12; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	Uemp = 38; Ucrit = 47; $p \leq 0.05$
Group No. 1	–	Uemp = 78; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 55; Ucrit = 33; $p > 0.05$	Uemp = 10; Ucrit = 27; $p \leq 0.05$	Uemp = 39; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$
Significance of differences in GGT values between experimental groups after 3 months of inoculation with different doses of NDMA					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 46; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$	Uemp = 41; Ucrit = 47; $p \leq 0.05$	Uemp = 13; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 43; Ucrit = 37; $p > 0.05$	–
Group No. 4	Uemp = 47; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 35,5; Ucrit = 31; $p > 0.05$	Uemp = 12; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	–	Uemp = 43; Ucrit = 37; $p > 0.05$
Group No. 3	Uemp = 30; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 36; Ucrit = 27; $p > 0.05$	–	Uemp = 12; Ucrit = 24; $p \leq 0.05$	Uemp = 13; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$
Group No. 2	Uemp = 70,5; Ucrit = 47; $p > 0.05$	–	Uemp = 36; Ucrit = 27; $p > 0.05$	Uemp = 35,5; Ucrit = 31; $p > 0.05$	Uemp = 41; Ucrit = 47; $p \leq 0.05$
Group No. 1	–	Uemp = 70,5; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 30; Ucrit = 33; $p \leq 0.05$	Uemp = 47; Ucrit = 47; $p > 0.05$	Uemp = 46; Ucrit = 51; $p \leq 0.05$

*significant differences are highlighted in green, insignificant differences – in yellow

In particular, Groups No. 1, No. 2, and No. 3 showed a statistically significant increase in GGT activity compared to the control group. Meanwhile, Group No. 4 showed no statistically significant differences with the control group. Despite the general tendency to increase GGT activity in the experimental groups, the lack of statistical significance between some groups (e.g., between groups No. 4 and No. 5, as well as between individual pairs of experimental groups) does not allow us to draw a definite conclusion about the presence of a clearly expressed dose-effect relationship.

Similar analysis of AST activity in the serum of five groups of animals after three months of NDMA exposure using the nonparametric Mann-Whitney U-test revealed statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between some groups. In particular, a statistically significant increase in AST activity compared to the control group No. 5 was found in Groups No. 1, No. 2, No. 3, and No. 4. No statistically significant differences were observed between Groups No. 2 and No. 5, and Groups No. 3 and No. 4 ($p > 0.05$). The results indicate a dose-dependent effect of NDMA on AST activity, although there was some overlap between groups receiving relatively high doses of NDMA.

Evaluation of serum ALT activity in five groups of animals using the Mann-Whitney U-test revealed statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between a number of groups. In particular, Group No. 5 demonstrated a statistically significant increase in ALT activity compared to Groups No. 1, No. 2, No. 3, and No. 4. Group No. 4 also showed a significant increase in ALT activity compared to groups No. 1 and No. 2. Meanwhile, Group No. 3 showed no statistically significant difference compared to Groups No. 1 and No. 2, but showed a significant difference from Group No. 4. In contrast to the established reliable relationships between serum AST and GGT activity and NDMA exposure level, evaluation of the relationship between ALT activity and NDMA exposure at this stage of the study did not allow us to obtain reliable differences, which requires confirmation in further experiments.

Thus, the results of the analysis of the activity of hepatic enzymes (AST, ALT and GGT in blood serum) after three months of exposure of

animals to different doses of NDMA using Mann-Whitney U-test revealed statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between the experimental groups (No. 1-No. 4) and the control group (No. 5). All experimental groups showed a statistically significant increase in AST and ALT activity compared to control group, indicating the hepatotoxic effect of NDMA. For GGT, a statistically significant increase in activity compared to the control group was found in Groups No. 1, No. 2 and No. 3, while Group No. 4 showed no statistically significant increase in activity.

Additionally, in order to assess the dynamics of changes in the activity of hepatic enzymes, the data obtained at the 4th month of experimental exposure to NDMA were analyzed. Table 3.9 presents the results of AST, ALT, and GGT activities in rat serum at the end of the 4th month of the experiment, expressed as median values and interquartile ranges (Me [Q25; Q75]).

Table 3.9

Median values (Me [Q25; Q75]) of biochemical parameters in rat blood at 4 months of experimental period of NDMA exposure

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	238.2 [216.2; 258.8]	63.4 [57.0; 66.7]	4.1 [3.0; 4.8]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	254.9 [229.7; 290.5]	63.1 [51.1; 70.8]	3.7 [2.8; 4.4]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	300.0 [260.0; 317.5]	60.7 [59.5; 70.2]	2.6 [2.0; 3.3]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	294.3 [283.7; 338.1]	87.9 [86.0; 102.0]	2.4 [2.2; 2.8]
Group No. 5 (control)	292.5 [264.1; 330.0]	80.9 [70.5; 84.2]	2.3 [2.2; 3.9]

Statistical analysis using Mann-Whitney U-test (significance level $p \leq 0.05$), allowed us to compare AST, ALT and GGT activities between groups at this term and to identify statistically significant changes. In particular, when analyzing AST activity, the following regularity was

revealed: statistically significantly higher AST activity was registered in the group of animals exposed to the maximum dose of NDMA (Group No. 1, 0.04 mg/kg), as compared to that in Groups No. 3 (0.0004 mg/kg), No. 4 (0.00002 mg/kg) and Control Group No. 5. A similar trend was noted for Group No. 3, in which AST activity was statistically significantly higher than in Groups No. 1, No. 4 and the control group. Of particular note is the fact that the minimal dose of NDMA (Group No. 4) also leads to a statistically significant increase in AST activity compared to Groups No. 1, No. 3 and the control group. It should be noted that AST activity in Group No. 2 did not show statistically significant differences compared to the other groups. Collectively, these data suggest that exposure to NDMA has a pronounced effect on AST activity.

For ALT activity at month 4 of NDMA exposure, a trend toward fewer statistically significant intergroup differences persisted than for AST and GGT. Statistically significantly higher ALT activity was recorded in Group No. 1 compared to Groups No. 4 and No. 5 (control). In Group No. 4, statistically significantly lower ALT activity was observed compared to Group No. 1 and Control Group No. 5, as well as higher activity compared to Group No. 3. ALT activity in Group No. 2 does not show statistically significant differences with other groups. These data indicate that prolonged exposure to NDMA continues to affect ALT activity, but this effect remains less pronounced than in the case of AST and GGT.

Analysis of GGT activity at the 5th month of the experiment revealed that Group No. 1 continued to show statistically significantly higher enzyme activity compared to Groups No. 3, No. 4, and Control Group No. 5. Similarly, in Group No. 3, GGT activity is statistically significantly higher than that in Groups No. 1, No. 4 and control group. Finally, Group No. 4 still showed a statistically significant decrease in GGT activity compared to Groups No. 1, No. 3, and the control group. GGT activity in Group No. 2 does not show statistically significant differences between groups. These data confirm the persistent effect of NDMA on GGT activity with prolonged exposure, emphasizing its role as an indicator of hepatotoxicity.

In general, analysis of the data obtained at the 4th month of the experiment confirms the earlier conclusions about the hepatotoxic effect of NDMA, manifested in changes in the activity of hepatic enzymes. The patterns found at month 4 are largely maintained, indicating that the liver effects of NDMA remain stable with prolonged exposure.

In order to assess the dynamic changes in these parameters and possible stabilization, a similar blood biochemical analysis was performed on the 5th month of the experimental period.

The median values and interquartile ranges (Me [Q25; Q75]) of AST, ALT, and GGT activities in rat blood serum at month 5 of NDMA exposure are presented in Table 3.10.

Table 3.10

**Median values (Me [Q25; Q75]) of biochemical parameters
in rat blood at the 5th month of experimental period
of exposure to NDMA**

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	284.9 [270.3; 296.5]	82.7 [64.6; 89.8]	7.0 [5.9; 7.5]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	385.1 [287.6; 411.6]	81.5 [78.5; 93.0]	2.7 [2.0; 3.9]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	324.9 [271.0; 388.4]	62.5 [58.2; 68.2]	3.4 [2.7; 11.3]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	265.5 [219.6; 341.4]	89.8 [74.6; 112.9]	2.9 [2.8; 4.1]
Group No. 5 (control)	232.5 [205.4; 246.0]	68.8 [55.5; 77.0]	3.2 [2.2; 4.8]

The results presented in Table 3.10 were also subjected to statistical analysis using the Mann-Whitney U-test to establish statistically significant inter-group differences in the activities of the liver enzymes studied.

Analysis of AST activity demonstrated that the group exposed to the maximum dose of NDMA (Group No. 1, 0.04 mg/kg) showed a sta-

tistically significant higher enzyme activity compared to Groups No. 3 (0.0004 mg/kg), No. 4 (0.00002 mg/kg) and Control Group No. 5. A similar trend was revealed in group No. 3, where AST activity was statistically significantly higher than in Groups No. 1, No. 4 and the control group. It should be noted that even a minimal dose of NDMA (Group No. 4) caused a statistically significant increase in AST activity compared to Groups No. 1, No. 3 and the control group. AST activity in Group No. 2 did not demonstrate statistically significant differences from the other groups. The findings suggest that NDMA has an impact on AST activity.

Regarding ALT activity, it was found that Group No. 1 (0.04 mg/kg) showed statistically significantly higher enzyme activity compared to Groups No. 4 and No. 5 (control group). At the same time, Group No. 4 shows statistically significantly lower ALT activity compared to Groups No. 1 and No. 5, but higher compared to Group No. 3. There were no statistically significant differences in ALT activity observed between Group No. 2 and the other groups. The results suggest that there is an effect of NDMA on ALT activity, but this effect appears to be less pronounced compared to AST.

Analysis of GGT activity revealed statistically significantly higher enzyme activity in Group No. 1 compared to Groups No. 3, No. 4 and the control group. A similar trend is observed in Group No. 3, where GGT activity is also statistically significantly higher than the values obtained for Groups No. 1, No. 4 and the control group. In contrast, Group No. 4 showed statistically significantly lower GGT activity compared to Groups No. 1, No. 3 and the control group. GGT activity in Group No. 2 was not statistically significantly different from the other groups. The differences observed indicate that NDMA has a significant effect on GGT activity, comparable in severity to its effect on AST activity.

Thus, statistical analysis of the data obtained by the 5th month of the experiment confirms the hypothesis of hepatotoxic effect of NDMA, manifested in changes in the activity of hepatic enzymes (AST, ALT, GGT). Pattern analysis at month 5 showed that the maximum dose of NDMA (Group No. 1) continued to have the most pronounced effect on

enzyme activity, but the group with the lowest dose (Group No. 4) also continued to show significant changes. Preservation of this trend during 5 months of NDMA exposure allows us to speak about the stable character of its hepatotoxic effect. The results emphasize the need to further investigate the mechanisms of NDMA effects on the liver, to assess the long-term effects of this exposure, and to determine benchmark doses that have minimal but statistically significant effects.

The results presented above allow us to evaluate the dynamics of hepatic enzyme activity under the influence of NDMA during the experimental period. To analyze the hepatotoxic effect of NDMA in more detail, the median values and interquartile ranges of AST, ALT, and GGT activities in rat serum at the 6th month of exposure were examined (Table 3.11).

Table 3.11

Median values (Me [Q25; Q75]) of biochemical parameters in rat blood at the 6th month of experimental period of NDMA exposure

Animal groups (NDMA dose)	Blood biochemical parameters (U/L)		
	AST	ALT	GGT
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	196.4 [186.6; 274.6]	60.3 [47.3; 78.6]	3.5 [3.0; 4.8]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	267.1 [243.7; 302.7]	70.4 [63.7; 74.8]	4.2 [2.8; 5.1]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	270.7 [204.1; 301.2]	60.8 [56.4; 67.7]	4.5 [4.0; 4.7]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	218.3 [195.0; 239.4]	83.3 [73.5; 89.2]	4.0 [3.4; 4.2]
Group No. 5 (control)	196.4 [186.6; 274.6]	60.3 [47.3; 78.6]	3.5 [3.0; 4.8]

The data obtained indicate the persistence of hepatotoxic effects of NDMA throughout the six-month experimental period. At the end of the experiment (month 6), statistical analysis revealed that the maximum dose of NDMA (group #1) still had the most pronounced effect on AST and GGT activity (Table 3.12).

Table 3.12

Results matrix of nonparametric Mann-Whitney test: comparison of distributions of these biomarkers of the effect of NDMA exposure between animal groups (6 months from the beginning of the experiment)*

Significance of differences in AST values between experimental groups after 6-month inoculation with different doses of NDMA					
Animal groups	Group No.1	Group No.2	Group No.3	Group No.4	Group No.5
Group No. 5	Uemp = 35, Ucrit = 42, $p \leq 0.05$	Uemp = 28, Ucrit = 37, $p > 0.05$	Uemp = 15, Ucrit = 29, $p \leq 0.05$	Uemp = 22, Ucrit = 33, $p \leq 0.05$	—
Group No. 4	Uemp = 18, Ucrit = 40, $p \leq 0.05$	Uemp = 32, Ucrit = 35, $p > 0.05$	Uemp = 21, Ucrit = 28, $p \leq 0.05$	—	Uemp = 25, Ucrit = 38, $p \leq 0.05$
Group No. 3	Uemp = 27, Ucrit = 45, $p \leq 0.05$	Uemp = 41, Ucrit = 50, $p > 0.05$	—	Uemp = 19, Ucrit = 31, $p \leq 0.05$	Uemp = 33, Ucrit = 44, $p \leq 0.05$
Group No. 2	Uemp = 52, Ucrit = 55, $p > 0.05$	—	Uemp = 48, Ucrit = 53, $p > 0.05$	Uemp = 37, Ucrit = 49, $p > 0.05$	Uemp = 29, Ucrit = 41, $p > 0.05$
Group No. 1	—	Uemp = 52, Ucrit = 55, $p > 0.05$	Uemp = 27, Ucrit = 45, $p \leq 0.05$	Uemp = 18, Ucrit = 40, $p \leq 0.05$	Uemp = 35, Ucrit = 42, $p \leq 0.05$
Significance of differences in ALT values between experimental groups after 6-month inoculation with various doses of NDMA					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 38, Ucrit = 45, $p \leq 0.05$	Uemp = 31, Ucrit = 40, $p > 0.05$	Uemp = 23, Ucrit = 35, $p > 0.05$	Uemp = 19, Ucrit = 30, $p \leq 0.05$	—
Group No. 4	Uemp = 20, Ucrit = 38, $p \leq 0.05$	Uemp = 34, Ucrit = 43, $p > 0.05$	Uemp = 26, Ucrit = 33, $p \leq 0.05$	—	Uemp = 28, Ucrit = 39, $p \leq 0.05$
Group No. 3	Uemp = 29, Ucrit = 47, $p > 0.05$	Uemp = 44, Ucrit = 52, $p > 0.05$	—	Uemp = 24, Ucrit = 37, $p \leq 0.05$	Uemp = 36, Ucrit = 48, $p > 0.05$
Group No. 2	Uemp = 51, Ucrit = 58, $p > 0.05$	—	Uemp = 47, Ucrit = 55, $p > 0.05$	Uemp = 39, Ucrit = 51, $p > 0.05$	Uemp = 33, Ucrit = 44, $p > 0.05$
Group No. 1	—	Uemp = 51, Ucrit = 58, $p > 0.05$	Uemp = 29, Ucrit = 47, $p > 0.05$	Uemp = 20, Ucrit = 38, $p \leq 0.05$	Uemp = 38, Ucrit = 45, $p \leq 0.05$
Significance of differences in GGT values between experimental groups after 6-month inoculation with various doses of NDMA					
Animal groups	Group No. 1	Group No. 2	Group No. 3	Group No. 4	Group No. 5
Group No. 5	Uemp = 40, Ucrit = 47, $p \leq 0.05$	Uemp = 53, Ucrit = 60, $p > 0.05$	Uemp = 31, Ucrit = 49, $p > 0.05$	Uemp = 22, Ucrit = 40, $p \leq 0.05$	—
Group No. 4	Uemp = 22, Ucrit = 40, $p \leq 0.05$	Uemp = 36, Ucrit = 45, $p > 0.05$	Uemp = 28, Ucrit = 35, $p \leq 0.05$	—	Uemp = 30, Ucrit = 41, $p \leq 0.05$
Group No. 3	Uemp = 31, Ucrit = 49, $p > 0.05$	Uemp = 46, Ucrit = 54, $p > 0.05$	—	Uemp = 26, Ucrit = 39, $p \leq 0.05$	Uemp = 38, Ucrit = 50, $p > 0.05$
Group No. 2	Uemp = 53, Ucrit = 60, $p > 0.05$	—	Uemp = 49, Ucrit = 57, $p > 0.05$	Uemp = 41, Ucrit = 53, $p > 0.05$	Uemp = 35, Ucrit = 46, $p > 0.05$
Group No. 1	—	Uemp = 33, Ucrit = 42, $p > 0.05$	Uemp = 25, Ucrit = 37, $p > 0.05$	Uemp = 21, Ucrit = 32, $p \leq 0.05$	Uemp = 40, Ucrit = 47, $p \leq 0.05$

*significant differences are highlighted in green, insignificant differences – in yellow

Meanwhile, the lowest dose of NDMA (Group No. 4) also continued to produce statistically significant changes, especially in AST, which may indicate increased sensitivity to NDMA at low concentrations. ALT activity shows less pronounced changes compared to other enzymes.

Importantly, despite the absence of a progressive increase in enzyme activity from month 5 to month 6, the persistence of statistically significant differences between groups indicates chronic hepatotoxic effects of NDMA. Thus, by the end of the experiment, the data obtained indicate the effect of NDMA on the activity of hepatic enzymes. The maximum dose of NDMA (Group No. 1) has the most pronounced effect on AST and GGT activity, while the minimum dose (Group No. 4) also causes statistically significant changes, especially with respect to AST. ALT activity demonstrates less pronounced changes. The absence of statistically significant differences in Group No. 2 may indicate the nonlinear nature of the dose-effect relationship. The results confirm the hepatotoxic effects of NDMA throughout the experimental period.

The results obtained from the study are represented in the graphs below. These graphical representations allow us to assess the extent to which different doses of NDMA affect the activity of the main hepatic enzymes. In particular, the graphs demonstrate the median values of AST, ALT and GGT activities for each experimental group (Groups No. 1-No. 5) throughout the observation period. Visualization of median values allows to level out the influence of possible outliers and to obtain a more representative picture of the state of liver parameters in each group (Figures 3.1-3.3).

Figure 3.1 shows the median values of alanine aminotransferase (ALT) activity at the end of a 6-month period of exposure to N-nitrosodimethylamine (NDMA) in the different experimental groups. Analysis of the obtained data indicates the absence of a pronounced linear dose-effect relationship. In particular, the maximum dose of NDMA (0.04 mg/kg) was not associated with maximal ALT activity. At the same

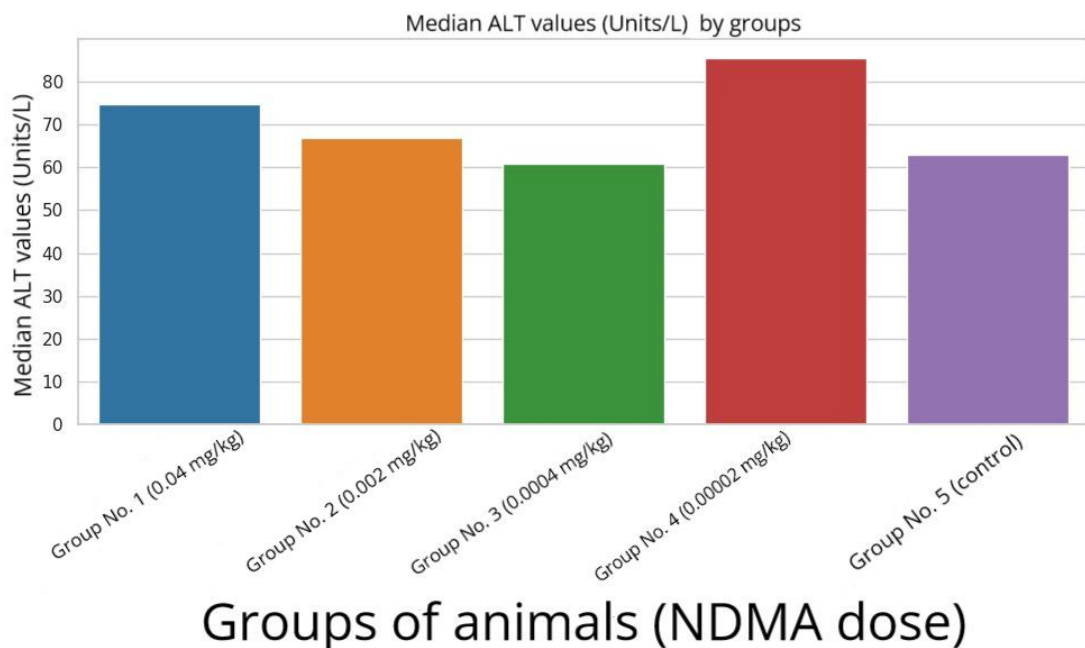


Fig. 3.1. Effect of different doses of NDMA on median values of ALT activity in animal groups during the study period.

time, relatively elevated ALT values were recorded in the group receiving the minimum dose of NDMA (0.00002 mg/kg), which may indicate the involvement of specific mechanisms of hepatotoxic action initiated by low concentrations of NDMA. Alternatively, the observed results may be explained by the phenomenon of hormesis [Calabrese & Baldwin, 2003a], where an intermediate dose of NDMA (0.0004 mg/kg) induces adaptive or protective processes leading to a decrease in ALT activity. Another possible explanation is the activation of a unique mechanism at the 0.00002 mg/kg dose level that promotes the release of ALT into the bloodstream; this mechanism may not function or may be inhibited by exposure to higher concentrations of NDMA. It should be noted that it was beyond the scope of this study to determine the specific mechanisms responsible for the observed deviations from the linear dose-effect relationship with respect to ALT activity. Nevertheless, the obtained results allow us to designate this direction as a promising one for further

scientific research, in particular, by means of *in vitro* experiments using cellular models of hepatocytes, as well as in-depth analysis of histomorphological changes in liver tissue using quantitative morphometry methods.

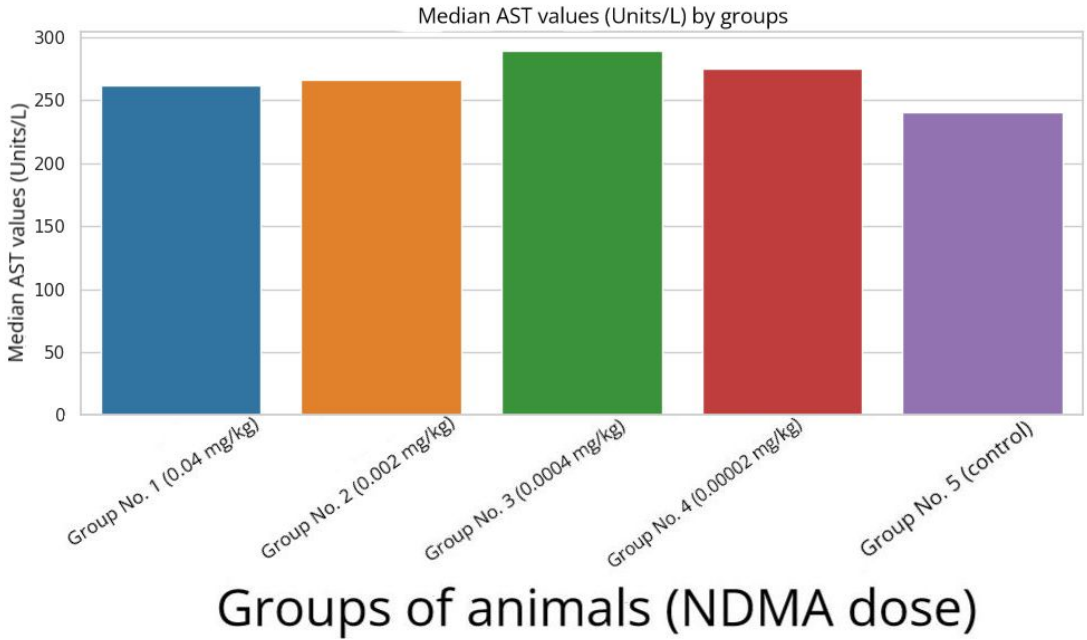


Fig. 3.2. Effect of different doses of NDMA on median values of AST activity in animal groups during the study period.

Figure 3.2 shows the median values of AST activity at the end of the 6-month period of exposure to N-nitrosodimethylamine in the different experimental groups. Analysis of the obtained data demonstrates a pattern similar to that observed for ALT activity (Fig. 3.1). In particular, no pronounced linear dose-effect relationship is observed for AST either. The maximum dose of NDMA (0.04 mg/kg) did not result in maximal enzyme activity, and relatively elevated AST values were recorded in the group that received doses of NDMA lower than the maximum.

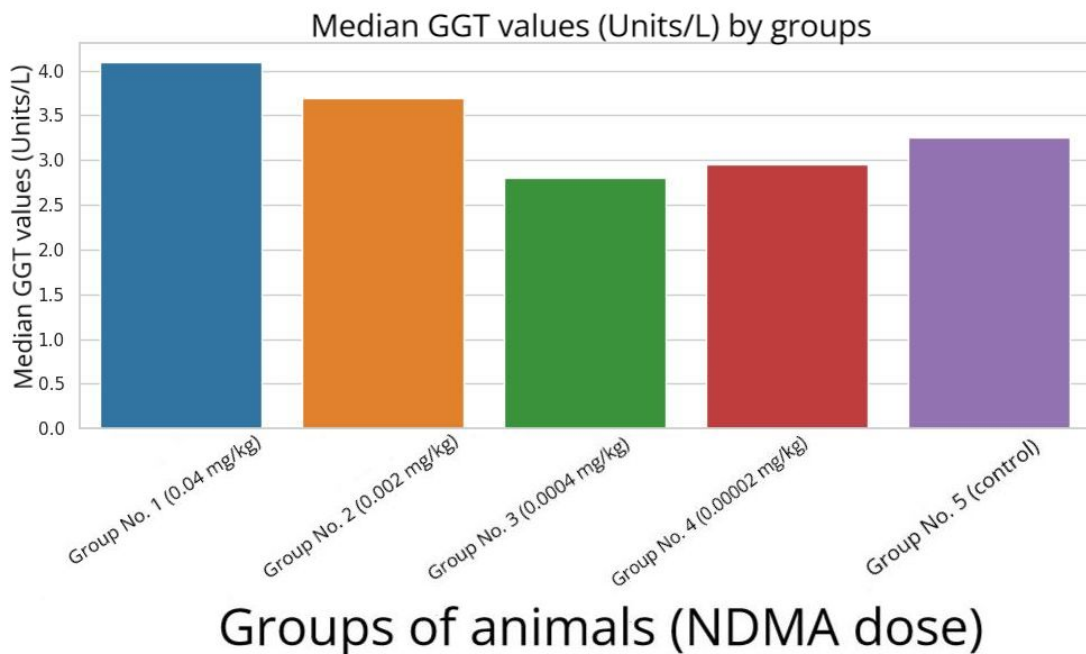


Fig. 3.3. Effect of different doses of NDMA on median values of GGT activity in groups of animals during the study period.

Figure 3.3. demonstrates the median values of GGT activity for different groups of animals. In contrast to AST and ALT, GGT activity appears to be more sensitive to NDMA exposure in Group No. 1 (0.04 mg/kg), where a significant increase was observed by month 5 (7.0 U/l), with a slight decrease by month 6 (5.3 U/l). At the same time, the lower-dose groups showed less pronounced changes in GGT activity.

This may support the hypothesis that high doses of NDMA have a more pronounced damaging effect on hepatocytes and bile duct epithelial cells, leading to increased release of GGT into the blood.

Despite the fact that the analysis of median values of ALT and AST activity did not reveal a strict linear relationship between dose and effect, this does not exclude the possibility of describing the relationship between NDMA concentration and activity of the above enzymes using nonlinear regression models. As noted earlier, complex biological

processes, such as hormesis or activation of specific mechanisms of hepatotoxicity at low doses, may lead to deviations from a linear relationship. Therefore, in order to better characterize the relationship between NDMA dose and liver enzyme activity, the following section will discuss the use of non-linear regression models that allow for complex, non-monotonic dependencies.

**Analysis of the dependence of hepatic enzyme activity
(biomarkers of effect) and blood NDMA concentration
(biomarker of exposure) on the level of NDMA
exposure by nonlinear paired regression method**

The primary objective was to identify the predictors of liver dysfunction. To achieve this goal, we analyzed the relationship between baseline levels of liver enzyme activities and the likelihood of their increase under NDMA exposure. In this study, a statistical approach was used to evaluate the effect of N-nitrosodimethylamine dose on the activity of hepatic enzymes (AST, ALT, GGT). For a more detailed analysis of the relationship between NDMA dose and the activity of liver enzymes (AST, ALT, GGT), it is reasonable to use the method of nonlinear pairwise regression. In this approach, the dependent variables are AST, ALT, and GGT activities, and the independent variable is the NDMA dose. Analysis of the parameters of nonlinear regression models will allow us to evaluate the nature of the effect of NDMA dose on the activity of each enzyme, as well as to determine the statistical significance of the revealed dependencies.

A series of logistic regression analyses were performed to assess whether GGT, AST and ALT activities could be used as indicators of enzyme activity exceeding the median value of the control group during months 1-6 of the study as a function of N-nitrosodimethylamine dose (Table 3.13). In each analysis, the dependent variable was the presence or absence of an excess of enzyme activity above the median value of the

control group between months 1 and 6 of the study, and the independent variable was the baseline blood concentration of the corresponding enzyme.

Table 3.13

Logistic regression results for predicting the excess of hepatic transaminase (ALT and AST) and gamma-glutamyltransferase (GGT) activities in serum under exposure to N-nitrosodimethylamine (NDMA)

Variable	GGT		ALT		AST	
	Evaluation	Odds ratio (units)	Evaluation	Odds ratio (units)	Evaluation	Odds ratio (units)
B0 (Constant)	0.397	0.345	0.065	1.067	-0.999	0.368
Initial concentration in blood	-1.065	1.487	-0.316	0.729	1.997	7.367
Model statistics						
Chi-squared (df = 1)	9.975		0.630		34.524	
p-value	0.002		0.427		< 0.001	
Total losses (Log-Likelihood)	103.144		107.816		90.869	

The analysis of initial concentrations of enzymes (GGT, AST and ALT) within the framework of the study of NDMA influence on their dynamics allowed to reveal significant patterns that can be used to predict changes in enzyme activity. The results of the study indicate that baseline levels of GGT and AST have a pronounced prognostic value with respect to the probability of their activity exceeding the median value of the control group during 6 months under NDMA exposure.

We applied a logistic regression model to identify the relationship between gamma-glutamyltransferase concentration and N-nitrosodimethylamine dose. A binary variable was used as the dependent variable denoting whether the GGT level exceeded (1) or did not exceed (0) the median value of the control group. The independent variable was the dose of N-nitrosodimethylamine. Model parameters were estimated by Maximum Likelihood Estimation (MLE) method. The final value of the loss function was 222.73, indicating an acceptable fit of the model to the empirical data. The statistical significance of the constructed model was evaluated using the chi-square criterion (χ^2). The results of the analysis showed high statistical significance of the model: $\chi^2(1) = 20.417$ at $p < 0.00001$ (critical significance level $\alpha = 0.05$) (Table 3.14).

Table 3.14

Logistic regression results for predicting NDMA dose based on GGT levels in rat blood

Parameter	Evaluation	Odds ratio (units)
B0 (Constant)	-1.22055	30.37359
GGT level in blood	0.29507	3.37010

Estimation of the model parameters revealed that the constant (B0) has a value of (-1.22), which corresponds to an odds ratio (OR) of 0.295. This fact indicates that at zero dose of NDMA, the probability of effect onset decreases by a factor of 0.295 relative to baseline, indicating a low probability of a positive effect in the absence of NDMA exposure. The coefficient estimate for the NDMA dose was 30.37, corresponding to OR = 3.37.

Based on the modeling performed, it can be concluded that the dose of NDMA has a significant effect on the probability of occurrence of the observed effect. High statistical significance of the model

($p < 0.00001$) confirms the presence of a pronounced dependence between the studied parameters.

A visual representation of the dependence of the probability of NDMA exposure on GGT levels is presented in Figure 3.4.

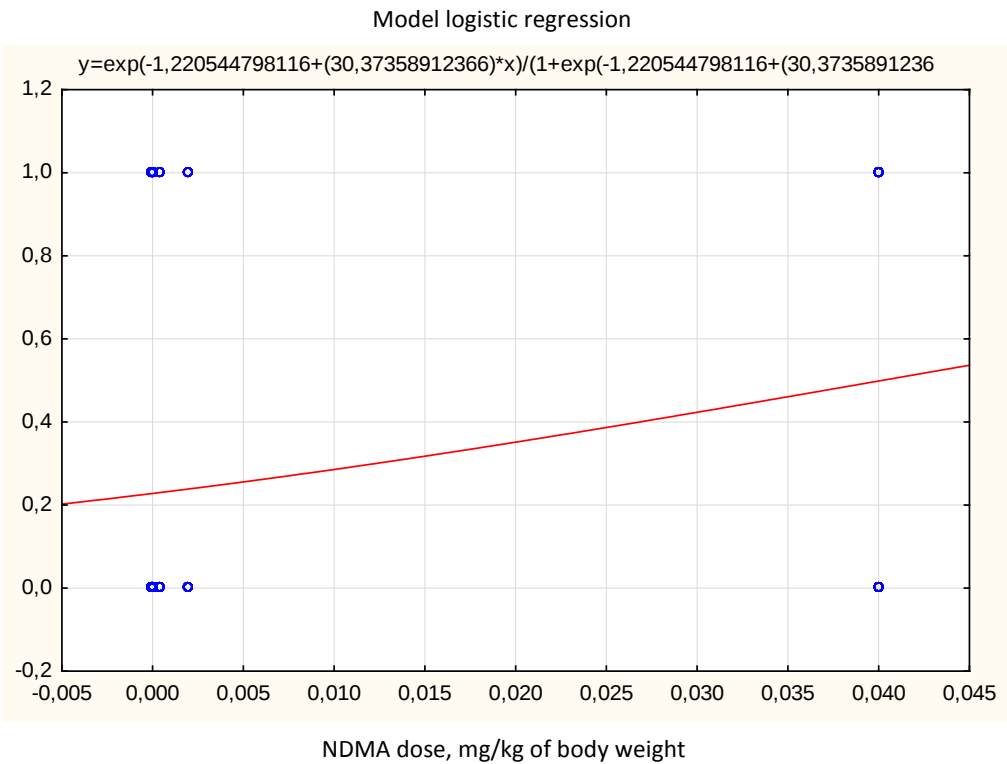


Fig. 3.4. Model (logistic regression) describing the effect of NDMA dose on the probability of GGT level increase in blood in rats.

The graph shows a sigmoidal shape of the curve, which is typical of logistic regression models. Visual analysis of the graph suggests that as GGT levels increase, the likelihood of an effect associated with NDMA exposure increases. This trend is consistent with a positive regression coefficient value and an odds ratio value exceeding 1.

The observed statistically significant relationship between GGT levels and NDMA dose suggests that GGT may serve as a marker of the effect of NDMA exposure on the liver.

The performed data analysis, including the application of regression modeling methods, did not reveal statistically reliable models describing the relationship, corresponding to biological plausibility, between the dose of N-nitrosodimethylamine and the activity of AST and ALT enzymes. This indicates that for these indicators it was not possible to establish a significant relationship that could be described using linear or non-linear regression models.

Thus, serum GGT is a statistically significant biomarker of the effect of probability of exposure to NDMA.

The findings indicate that an increase in GGT level by one unit results in a statistically significant 3.37-fold increase in the odds of an effect associated with NDMA exposure. This is supported by the statistical significance of the logistic regression model ($\chi^2(1) = 20.42$, $p < 0.00001$), which allows us to consider GGT as a promising indicator of the effects of NDMA on the liver.

In contrast to GGT, no statistically significant relationships between their activity and NDMA dose were found for the enzymes AST and ALT. This can be explained by the complexity of biological interactions, including individual metabolic peculiarities, adaptive reactions of the organism and activation of compensatory mechanisms capable of masking potential effects. In addition, the observed variability in AST and ALT levels may be due to individual biological variability [Calabrese and Baldwin, 2003b; Eaton and Gilbert, 2008; Andersen and Krewski, 2009; Hernández, Parrón and Alarcón, 2011].

Based on the empirical data obtained, it can be concluded that GGT level is the most informative biomarker to assess the hepatotoxic effects of NDMA. Therefore, it is recommended that it be used as a key parameter in establishing a reference NDMA exposure level (BMDL).

In order to assess the applicability of NDMA as a biomarker of exposure, the content of NDMA in the peripheral blood of laboratory animals after exposure to different doses of the substance

was analyzed. During the experiment, it was found that the control group (without NDMA administration) had the lowest concentration of NDMA in blood (0.00 ng/ml). In the groups receiving NDMA, an increase in blood levels of the substance was observed, with median concentration values varying according to the dose received (see Table 3.15).

Table 3.15

Concentration of NDMA in peripheral blood of experimental animals established during the chronic experiment, Me [Q25; Q75], ng/ml

Animal groups (NDMA dose)	Concentration of NDMA in blood in the experimental group
Group No. 5 (control)	0.00 [0.00; 0.00295]
Group No. 4 (0.00002 mg/kg of body weight)	0.00351 [0.00350; 0.00358]
Group No. 3 (0.0004 mg/kg body weight)	0.50525 [0.448; 0.5068]
Group No. 2 (0.002 mg/kg of body weight)	0.546 [0.0; 0.613]
Group No. 1 (0.04 mg/kg of body weight)	0.79 [0.47; 0.79]

The concentration of NDMA in the blood of laboratory animals ranged from 0.00351 [0.00350; 0.00358] to 0.79 [0.47; 0.79] ng/ml in the experimental groups.

A binary logistic regression method was used to establish the relationship between the incoming dose and the achieved blood concentration of NDMA as a biomarker of exposure. The incoming dose of NDMA served as the independent variable and its blood concentration measured at a certain time after administration served as the dependent variable.

This study analyzed the relationship between the dose of N-nitrosodimethylamine and the probability of a binary outcome coded as “0” and “1”. Here, “0” corresponds to a blood concentration of NDMA below the mean value, and “1” corresponds to a blood concentration of NDMA above the mean value.

The chi-squared test was used to assess the statistical significance of the model. The significant value of χ^2 for one degree of freedom is 3.84. The results of the chi-squared test ($\chi^2(1) = 4.37$; $p = 0.037$) indicate a statistically significant association between the incoming dose of NDMA and the probability of outcome at a significance level of $\alpha = 0.05$. The model parameters are presented in Table 3.16.

Table 3.16

Parameters of the logistic regression model of the dependence of the probability of change in the level of NDMA in the blood of experimental animals on the incoming NDMA dose

Parameter	Evaluation (B)	Odds ratio (OR)
Incoming dose of NDMA (B0)	0.085679	1.089457
Dependent variable (NDMA concentration in blood)	149.1888	6.7899

The B0 (intercept) factor corresponding to the conditions of no NDMA intake is 0.086. The odds ratio for this factor is 1.09. Consequently, this parameter has no significant effect on the dependent variable (the probability of an increase in the NDMA concentration in blood).

Similarly, the B coefficient for the independent variable (the magnitude of the incoming blood dose of NDMA) is 149.19 and the corresponding odds ratio is 6.79. This indicates a strong positive relationship between blood NDMA concentration and the odds of event “1” (the probability of an increase in blood NDMA concentration).

Graphical representation of the logistic regression obtained during the study is presented in Figure 3.5.

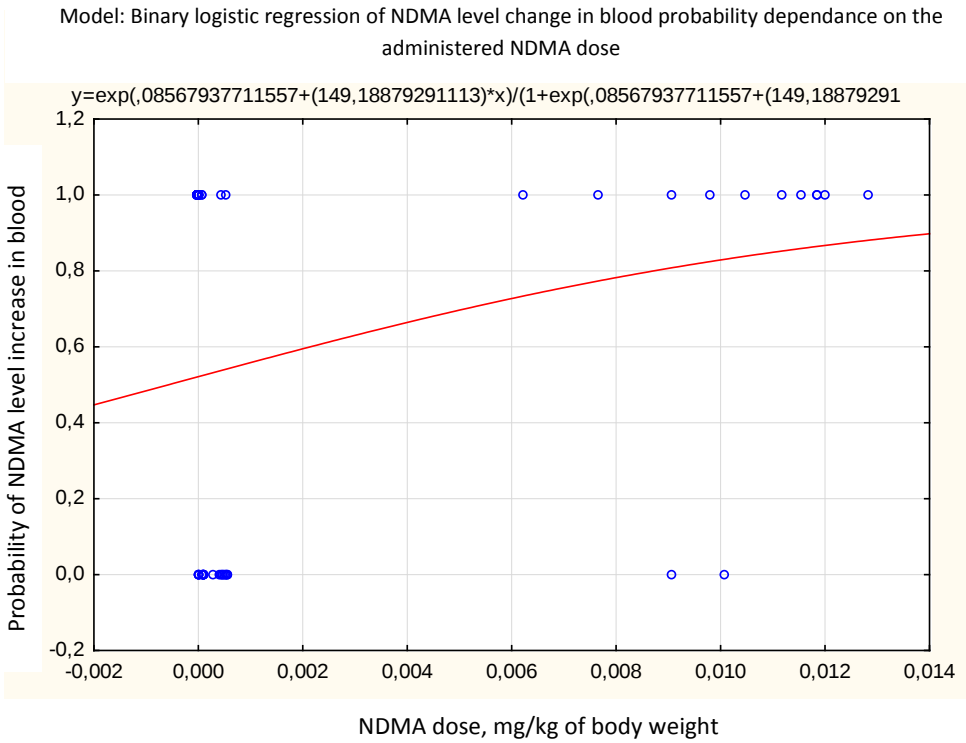


Fig. 3.5. Logistic regression plot of the dependence of the probability of change in the level of NDMA in blood on the incoming dose of NDMA.

The conducted study confirmed the presence of statistically significant dependence between the incoming dose of N-nitrosodimethylamine and the probability of change in its concentration in the blood of experimental animals. The results of the analysis demonstrate that an increasing dose of NDMA leads to an increased probability of exceeding the average level of its concentration in blood, which indicates a pronounced dose-dependent response of the organism to exposure to this substance.

Consequently, the concentration of NDMA in blood can be considered as a potential exposure marker, i.e. an indicator reflecting the degree of exposure to this substance.

Further in this monograph methodological approaches and practical aspects of establishing reference exposure levels for NDMA will be discussed, based on the data obtained on the informativeness of GGT as a biomarker of hepatotoxicity and NDMA concentration in blood as a marker of exposure.

Establishment of NDMA reference level on the basis of preliminary data of toxicological experiment on rats based on GGT level

The Benchmark Dose Lower Confidence Limit (BMDL) method, in particular the sliding window method, is widely used to determine safe levels of exposure to substances using toxicological studies in animal models. Within these studies, a key step is the calculation of OR to assess the relationship between exposure and the development of adverse effects for the full range of concentrations of the substance under study.

The sliding window method involves sequentially considering a number of hypotheses about the existence of an association between a particular level of exposure and the occurrence of health disorders. In this case, for each hypothesis under consideration, two groups are formed: a control group consisting of animals exposed to concentrations below the one under consideration, and an experimental group including animals exposed to concentrations above the one considered.

For each hypothesis, a statistical assessment of whether there is an association between exposure and effect is performed using the odds ratio as a measure of association. The resulting OR values are used to construct mathematical models describing the relationship between the dose of an ingested chemical and the odds ratio (dose-response). These models allow quantification of the risk of adverse effects at different exposure levels.

It is important to note that this methodology used in the context of quantitative assessment of non-carcinogenic risk, especially in the justification of hygienic standards, complies with the requirements established in the EAEU for the justification of hygienic standards

for the content of chemical substances and biological agents in food products based on health risk criteria. This ensures that the results of the studies meet regulatory requirements and are applicable in the practice of establishing safe levels of exposure [Peto, Gray and Branton, 1991].

To ensure the reliability of the obtained results, the adequacy of the constructed mathematical models is assessed. This evaluation is based on a one-factor analysis of variance using Fisher's F-criterion to assess the statistical significance of the model and its ability to adequately describe the observed data.

When constructing mathematical models, the uncertainty of the estimates must be taken into account. This is done by determining 95% confidence limits for point estimates of acceptable levels of exposure markers. These confidence intervals allow the range of likely safe exposure levels to be estimated and allow for data variability.

Establishment of NDMA reference level on the basis of preliminary data of toxicological experiment on rats

Using the sliding window method described above, a model of the probability of change in γ -glutamyltransferase activity (marker of effect) versus dose (NDMA) (marker of exposure) was constructed. Parameterization of the model was carried out based on the calculated OR values.

Determination of the parameters of the mathematical model (3.1) “exposure-response” (b_0 , b_1) is performed by the method of least squares with the use of statistical data analysis software packages (e.g., Statistica 10.0) [Health risk analysis in the strategy of state socio-economic development: Monograph].

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 x_1)}}, \text{ where} \quad (3.1)$$

p – probability of response;

X_1 – dose value, mg/kg body weight per day;

b_0 , b_1 – model parameters.

The results of the parameterization are presented in Fig. 3.6. The model parameters are presented in Tables 3.17-3.18.

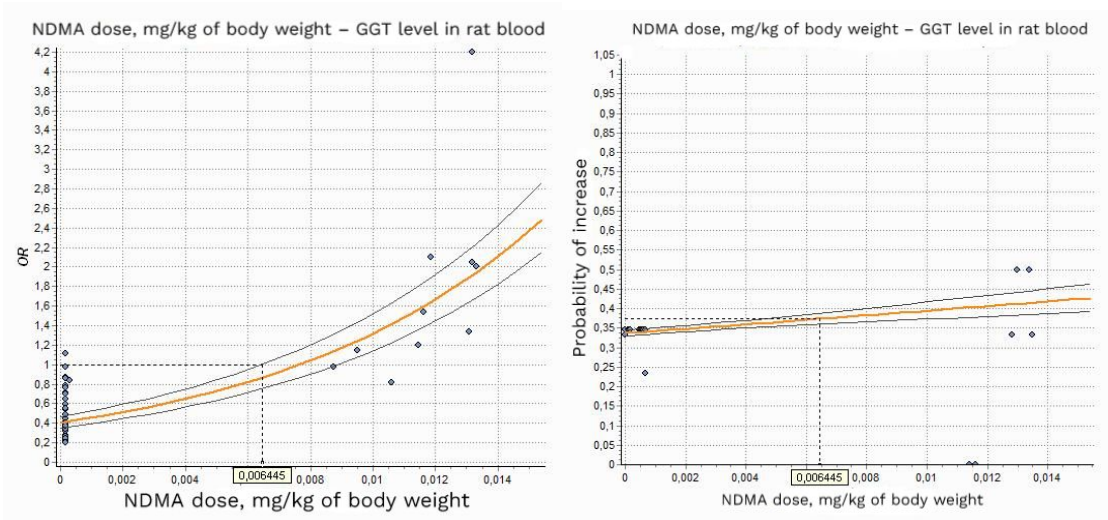


Fig. 3.6. Results of parameterization of dependence of blood GGT concentration (marker of effect) on NDMA dose (exposure value). Odds ratio graph (left), probability graph (right).

Table 3.17

Results of regression analysis of the effect of NDMA dose on blood GGT concentration (indicating the probability of biomarker increase)

Probability	Indicator	Indicator	b0	Error	b1	Error	F	p	R2	Reference level
Increase in biomarker of effect	NDMA dose, mg/kg of body weight	GGT level in the blood of rats	-0.6748	0.00029	24.75068	23.447	26.12657	0.00001	0.33	0.006445

Table 3.17 presents the results of regression analysis showing the effect of N-nitrosodimethylamine dose on gamma-glutamyltransferase concentration in rat blood. Based on the results of regression analysis, a statistically significant relationship was observed between NDMA dose and GGT concentration in rat blood ($p < 0.00001$). A positive b1 coefficient (24.75) indicates that an increase in NDMA dose is

associated with an increase in GGT levels. The R2 value (0.33) indicates that the model explains 33% of the variance in GGT levels by NDMA dose. Regression analysis established a reference level for the NDMA dose, which was 0.006445 mg/kg m.w., above which an increase in the biomarker of effect is expected.

Table 3.18

Calculated values of the odds ratio of the dependence of blood GGT concentration on the incoming dose of NDMA

OR	Indicator	Indicator	a0	a1	F	p	R2
Increase in biomarker of effect	NDMA dose, mg/kg of body weight	GGT level in the blood of rats	-0.89938	117.4716	61.81866	0.00	0.36

The results indicate a statistically significant relationship between NDMA dose and increased GGT levels in the blood of rats. The F-statistic value (F = 61.82) and the corresponding p-value (p < 0.001) indicate the significance of regression model. The determination coefficient (R2 = 0.36) demonstrates that 36% of the variation in the logarithm of the odds ratio of increased GGT levels is explained by variation in NDMA dose.

Logistic regression model revealed a statistically significant and positive relationship between NDMA dose and increased GGT levels in the blood of rats. This indicates that an increasing dose of NDMA is associated with an increased likelihood of elevated GGT levels, supporting its role as a biomarker of toxic effects of NDMA.

Analysis of data from a toxicological experiment on laboratory animals revealed a statistically significant correlation between NDMA dose and changes in GGT activity in blood serum (see Table 3.14). Additional modeling of the probability of GGT increase with increasing NDMA exposure, as well as sliding window analysis, confirmed the statistical significance of this correlation.

Based on the data obtained, the lower confidence limit of the exposure causing a minimally significant effect (BMDL) for NDMA was estimated to be 0.006445 mg/kg of body weight. In accordance with the methodological approaches to risk assessment adopted in the

EAEU countries [Methodological Guidelines for the Establishment and Justification of Hygienic Standards for the Content of Chemical Impurities and Biological Agents in Food Products by Human Health Risk Criteria], the following uncertainties were consistently applied to the BMDL value:

1. A cross-species extrapolation factor of 10: This factor accounts for differences in sensitivity to chemical exposure between experimental animals and humans. It reflects the variability in physiological, metabolic and pharmacokinetic characteristics between species. The use of factor 10 is due to the need to provide a sufficient margin of safety, taking into account the potential increased sensitivity of humans compared to experimental animals.

2. Extrapolation factor from controlled experimental conditions to real exposure conditions equals 6: This factor accounts for the difference between experimental conditions and real human exposure scenarios. Experimental studies tend to use fixed, relatively high doses, whereas in real life, exposure can be variable, depending on the concentration of a substance, such as in food, lifestyle and individual habits. Uncertainty related to the route of exposure is also taken into account: experiments often use a single route of exposure (in the present study, for example, oral), whereas in real life the substance may enter the body by different routes (inhalation, drinking, skin contact). Finally, the factor accounts for differences in exposure duration: experiments are often conducted chronically, but actual exposure may be intermittent or change over time. The choice of factor 6 is due to the need to take into account the complexity and variability of the conditions of real impact, which are not always fully reproduced in experimental conditions.

3. Factor for using the BMDL as a starting point for establishing an acceptable daily dose of 4: This factor refers to the uncertainty associated with using the lower confidence limit (BMDL) for the estimated dose causing a particular effect to determine the ADD. BMDL represents the lower limit of the confidence interval for BMD (Benchmark Dose), which reduces the risk of underestimating the hazard. The use of BMDL is a conservative approach that generally accounts for the uncertainties associated with estimating the dose that causes a particular effect,

including variability of response in the population and measurement error. The use of factor 4 reflects the effort to provide an additional safety margin when using statistical estimates based on limited data.

4. Factor to account for extrapolation of chronic exposure studies (factor accounting for exposures up to one year) of 4: This factor accounts for the uncertainty that arises when extrapolating the results of studies with exposures lasting less than one year to longer exposure periods (e.g., lifetime). Short-term experiments may not fully reflect long-term effects. Factor 4 takes into account potential changes in toxicity mechanisms, cumulative effects and adaptation processes that may develop during long-term exposure.

The resulting combined uncertainty factor of 960 justifies the setting of the ADD/RfD based on the resulting BMDL value. Considering this combined uncertainty, the ADD/RfD for NDMA was set at 6.7×10^{-6} mg/kg of body weight.

The resulting value, unlike that previously proposed by US EPA RfD [Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for N-Nitrosodimethylamine] (8×10^{-6} mg/kg of body weight), appears to be more valid and reliable. The advantages of the present RfD are attributable to a number of factors:

- Use of modern analytical methods: Modern analytical methods that provide increased accuracy and sensitivity in the determination of NDMA concentrations have been used in this work. This allowed a more adequate estimate of exposure and consequently reduced the uncertainty in the calculation of RfD.

- Reduced uncertainty: The RfD establishment process minimizes uncertainties associated with extrapolating data from animals to humans, accounting for individual sensitivity and other variables. This has been achieved through the use of more comprehensive data and the application of statistical methods that allow for more accurate population risk assessment.

- A more accurate assessment of the dose-effect relationship: A detailed analysis of the dose-effect relationship was performed, taking into account both benchmark and benchmark-free effects of NDMA. This al-

lowed for a more accurate determination of the exposure level at which there is no significant risk to human health.

Thus, the NDMA reference dose obtained in the present study (0.000067 mg/kg body weight) seems reasonable for priority use in public health risk assessment.

Analysis of the regression model presented earlier in this monograph showed that the presence of NDMA in the blood indicates the fact of its entry from outside, which is consistent with the experimental conditions. However, it should be taken into account that NDMA can be formed endogenously in the body [Zaitseva, Ulanova, Nurislamova, Maltseva, 2018; Bogovsky, Wettig, 1988; Nair et al., 1996]. Within the dose range investigated, it was not possible to construct a reliable model to determine a benchmark level of NDMA concentration in blood that could be considered an unambiguous biomarker of exposure, since endogenous formation of NDMA can affect the baseline level of its content in blood.

The study details the characteristics of the exposure-effect relationship in relation to the assessment of risk due to exposure to N-nitrosodimethylamine. It has been confirmed that NDMA can induce both effects that have no benchmark dose levels and effects that only appear when a certain level of exposure is reached. The liver has been found to be a major target organ in the development of non-carcinogenic effects.

Changes in serum enzyme activity were considered as potential biomarkers of adverse effects. A statistically significant relationship between NDMA exposure and GGT level was found, indicating the promising use of this enzyme as a biomarker of hepatotoxicity.

Meanwhile, for AST and ALT enzymes, no pronounced dependence with NDMA dose was revealed, which is probably due to the complexity of biological processes. The NDMA concentration in blood showed a dose-dependent response, which allows it to be considered as a potential marker of exposure; however, the possibility of endogenous NDMA formation must be considered.

Based on the analysis, a reference dose of NDMA (0.000067 mg/kg of body weight) has been proposed, which can be used to assess risks to public health.

CONCLUSION ON THE RESULTS OF JOINT RUSSIAN-VIETNAMESE ACTIVITIES IN 2023-2024

The implemented phases 2023 and 2024 included a successful training and professional development program for the National Institute of Food Control (NIFC) specialists in the field of assessing public health risks associated with chemical exposures and in the application of exposure and effect biomarkers for food safety.

NIFC hosted training workshops on risk assessment methodology, exposure and effect biomarkers in 2023 for eight specialists. In addition, practical seminars on bio media sampling from laboratory animals were organized on the basis of the Federal Scientific Center for Medical. As part of advanced training, four NIFC specialists mastered the techniques of blood collection from laboratory animals.

In 2024, the training program was continued: five NIFC specialists took part in the training on the technique of blood collection from laboratory animals, held on the basis of NIFC (Hanoi).

This training focused on practicing proper sampling techniques, adhering to aseptic and antiseptic standards, and minimizing stress to the animals. Improving these key skills directly impacted the accuracy and reproducibility of experimental data, providing more reliable research results.

A comprehensive study was conducted within the framework of the federal project "Sanitary Shield" on the development of parameters for quantitative assessment of non-carcinogenic risk formed by exposure to N-nitrosodimethylamine under conditions of chronic toxicological experiment. This study made a significant contribution to the understanding of the mechanisms of formation of public health risks associated with exposure to N-nitrosoamines, in particular NDMA, coming with food products.

The parameters of the exposure-effect relationship for NDMA have been established, and the benchmark level of NDMA in assessing its effect on the key target organ, the liver, has been identified. A statistically significant relationship between gamma-glutamyltransferase activity

and NDMA dose was identified, which allows us to consider GGT as a promising biomarker of hepatotoxicity. The study substantiated the possibility of using the concentration of NDMA in blood as a marker of its exogenous intake.

Based on dose-effect analysis, a reference dose of NDMA has been proposed that can be used for risk assessment in oral ingestion. The findings provide a scientific basis for updating current safety levels in food products, taking into account new data on exposure benchmark levels and biomarker specificity.

Successful international collaborations with Vietnamese scientists have brought together to develop global strategies to control N-nitrosamines in the food chain. The results of the study provide a solid basis for further research aimed at studying the mechanisms of endogenous NDMA formation, validation of biomarkers in different populations, and development of preventive technologies aimed at reducing the content of N-nitrosamines in food products.

An epidemiologic study is planned for 2025 based on the data obtained to refine and confirm the toxicological parameters established in this work.

The practical significance of the work lies in the possibility of introducing scientifically based standards aimed at minimizing risks to public health, as well as in the development of recommendations for the prevention of adverse effects of NDMA, in particular hepatotoxic effects associated with its dietary intake. The results of the research will be of interest to the authorities of Rospotrebnadzor, food producers, and international organizations involved in food safety, and may contribute to the improvement of the effectiveness of measures for the protection of public health.

LIST OF ABBREVIATIONS

EAEU – Eurasian Economic Union
NIFC – National Institute of Food Control
Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies – Federal Budgetary Institution of Science “Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies”
NDMA – N-Nitrosodimethylamine
NMEA – N-Nitrosomethylethylamine
NDEA – N-Nitrosodiethylamine
NDBA – N-Nitrosodibutylamine
NDPA – N-Nitrosodipropylamine
NPIP – N-Nitrosopiperidine
NPYR – N-Nitrosopyrrolidine
NMOR – N-Nitrosomorpholine
NDPHA – N-Nitrosodiphenylamine
LLOD – lower limit of detection
SRV – Socialist Republic of Vietnam
RfD – reference dose
IARC – International Agency for Research on Cancer
US EPA – U.S. Environmental Protection Agency
SFo – carcinogenic potential factor in oral intake
LOAEL – the lowest observed adverse effect level
NOAEL – the no observed adverse effect level
LD50 – the dose causing death of 50% of specimens in the study group
ADD – average daily dose
LADD – average daily doses, averaged over the average life expectancy of a person
CR – carcinogenic risk
HQ – hazard quotient
HI – hazard index
ADD – allowable daily dose
BMDL – benchmark dose level

DNA – deoxyribonucleic acid

RNA – ribonucleic acid

ALT – alanine aminotransferase

AST – aspartate aminotransferase

GGT – gamma-glutamyltransferase

MRL – minimum risk level

UF – uncertainty factor

GC-MS/MS – gas chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry

OR – odds ratio

REFERENCE LIST

Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023. Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA). USA, Atlanta, 231 p.

Andersen M.E., Krewski D., 2009. Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B.*, Vol. 12, No. 5-6., P. 334-361. DOI: 10.1080/10937400903305260.

Anderson L.M., Giner-Sorolla A., Ebeling D., Budinger J.M., 1978. Effects of imipramine, nitrite, and dimethylnitrosamine on reproduction in mice. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.*, No. 19, P. 311-327.

Barnes J.M., Magee P.N., 1954. Some toxic properties of dimethylnitrosamine. *British Journal of Industrial Medicine*, No. 11, P. 167-174.

Bogovsky P.A., Wettig K., 1988. Hygienic aspects of the study of carcinogenic N-nitroso compounds. *Hygiene and Sanitation*, No. 4, P. 58-63.

Boniol M., Koechlin A., Boyle P., 2017. Meta-analysis of occupational exposures in the rubber manufacturing industry and risk of cancer. *Int J Epidemiol.*, Vol. 46, No. 6, P. 1940-1947. <http://doi.org/10.1093/ije/dyx146>.

Calabrese E. J., Baldwin L. A., 2003a. Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, Vol. 22, No. 8, P. 377-378. DOI: 10.1191/0960327103ht357oa.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2003b. Hormesis: The Dose-Response Revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Vol. 43, No. 1, P. 175-197. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223.

Carroll E.E., 2016. Going GLP: Conducting Toxicology Studies in Compliance with Good Laboratory Practices. *US Army Med. Dep. J.*, P. 64-69.

Codex Alimentarius Commission, 2023. Risk Analysis. In: *Codex Alimentarius Commission. Procedure Guidelines. Edition twenty-eight.* Rome: FAO/WHO, 2023. – P. 100-172.

Council of Europe, 1986. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (date of access: 27.11.2024).

Cruz A., Gomes V., Landeira-Fernandez J., 2024. An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder. *Personality Neuroscience*, Vol. 7. DOI: 10.1017/pen.2023.6.

Chooi K.F., Rajendran D.B., Phang S.S., Toh H.H., 2016. The dimethylnitrosamine induced liver fibrosis model in the rat. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, No. 112, e54208.

Deveci G., Tek N.A., 2024. N-nitrosamines: a potential hazard in processed meat products. *J. Sci. Food Agric.*, Vol. 104, No. 5., P. 2551-2560. DOI: 10.1002/jsfa.13102.

Eaton D.L., Gilbert S.G., 2008. Principles of toxicology. In: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (7th ed.). Kansas city: McGraw-Hill, P. 11-49.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk assessment of N-nitrosamines in food: EFSA-Q-2020-00665 // *EFSA Journal*. – 2023. – Vol. 21, No. 3. – 278 p. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM Panel) et al., 2023. Risk assessment of N-nitrosamines in food. *EFSA Journal*, Vol. 28, No 3, P. e07884. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

Eurasian Economic Commission, 2017. Development of methodological guidelines for the establishment and justification of hygienic standards for the content of chemical impurities, biological agents in food products according to the health risk criteria. Research and development report. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/iblock/6a5/Otchet-o-NIR-1-etap.pdf>.

Eurasian Economic Commission, 2018. Methodical guidelines for establishing and substantiating hygienic standards for the content of chemical impurities and biological agents in food products according

to the criteria of risk to human health. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/3ae/MU-po-ustanovleniyu-i-obosnovaniyu-gigienicheskikh-normativov.pdf>.

Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 2024. Methodological aspects of risk assessment and its evolution under the impact on health of heterogeneous factors of habitat, conditions and lifestyle. In the book: Health Risk Analysis in the Strategy of State Socio-Economic Development: Monography. In 2 volumes. – 2nd edition, revised and supplemented. – Moscow – Perm – P. 63-227. – EDN UKGYGL.

Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2023. R.2.1.10.3968-23. Guidelines for the assessment of public health risk from exposure to chemicals polluting the environment. – Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 221 pp.

Gaidai E.A., Gaidai D.S., 2019. Genetic diversity of experimental mice and rats: history of origin, methods of obtaining and control. Laboratory Animals for Scientific Research, No. 4, P. 78-85.

Gao J. et al., 2017. High CYP2E1 activity correlates with hepatofibrogenesis induced by nitrosamines. Oncotarget, Vol. 8, No 68., P. 112199–112210. DOI:10.18632/oncotarget.22937.

Hernández A.F., Parrón T., Alarcón R., 2011. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. Toxicology, Vol. 280, No. 1-2, P. 1-11. DOI: 10.1016/j.tox.2010.11.008.

Hidajat M., McElvenny D.M., Ritchie P., Darnton A., Mueller W., van Tongeren M., Agius R.M., Cherrie J.W., de Voch F., 2019. Lifetime exposure to rubber dusts, fumes and N-nitrosamines and cancer mortality in a cohort of British rubber workers with 49 years follow-up. Occup. Environ. Med., Vol. 76, No. 4, P. 250-258. <http://doi.org/10.1136/oemed-2018-105181>.

Kogure K., Ishizaki M., Nemoto M., Kuwano H., Makuuchi M., 1999. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. J. Hepatobiliary Pancreat. Surg., No. 6., P. 171-175.

Khanna S.D., Puri D., 1966. The hepatotoxic effects of dimethylnitrosamine in the rat. *Journal of Pathology and Bacteriology*, No. 91, P. 605-608.

Lathouri M., Korre A., Dusinska M., Durucan S., 2022. Human Health hazard assessment strategy for amine emissions around PCC facilities. Deliverable D3.3. Trondheim, Norway: Sustainable OPERATION of post-combustion Capture plants (SCOPE), 67 p.

Le Thi Hong Hao, Dang Thu Nien, Cao-Son Tran et al., 2022. Heterocyclic amines detected in cooked meats and fishes from street markets and restaurants in the city of Hanoi, Vietnam: A Pilot local field investigation findings in 2020. *Toxicology Reports*, No. 9, P. 1523-1527. DOI: 10.1016/j.toxrep.2022.07.004.

Lebedeva-Nesevrya N.A., Le Thi Hong Hao, Barg A.O. et al., 2019. A comparative study of food consumption patterns among children younger than three years of age in Russia and Vietnam. *Health Risk Analysis*, No. 4, P. 77-83. DOI: 10.21668/health.risk/2019.4.08.eng.

Lee H., 2024. Dietary exposure assessment for volatile N-nitrosamines from food and beverages for the U.S. population. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, No. 41, P. 1-12. doi: 10.1080/19440049.2024.2398704.

Lijinsky W., Reuber M.D., 1984. Carcinogenesis in rats nitrosodimethylamine and other nitrosomethylalkylamines at low doses. *Cancer Lett.*, No. 22, P. 83-88.

Liteplo R.G., Meek M.E., 2001. N-nitrosodimethylamine: hazard characterization and exposure-response analysis. *Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, Vol. 19, No. 1, P. 281-304, DOI: 10.1081/GNC-100103588.

Maduagwu E.N., Bassir O., 1980. A comparative assessment of toxic effects of dimethylnitrosamine in six different species. *Toxicology and Applied Pharmacology*, No. 53, P. 211-219. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90421-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90421-4).

Moniuszko-Jakoniuk J., Roszczenko A., Dzieciol J., 1999. Influence of low concentrations of N-nitrosodimethylamine on the iron level and histopathological picture of rats liver, spleen and bone marrow. *Acta Pol Toxicol.*, Vol. 7, No. 2, P. 179-186.

Muzhikian A.A., Zaikin K.O., Gushchin Y.A., Makarova M.N., Makarov V.G., 2017. Comparative morphology of the liver and gallbladder of humans and laboratory animals. *International Veterinary Gazette*, No. 4, P. 117-127.

Nair J., Ohshima H., Nair U.J., Bartsch H., 1996. Endogenous formation of nitrosamines and oxidative DNA-damaging agents in tobacco users. *Crit. Rev. Toxicol.*, Vol. 26, No. 2, P. 149-161. DOI: 10.3109/10408449609017928.

OECD, 2018. Test No. 452: Chronic Toxicity Studies. In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, Section 4. DOI: 10.1787/9789264071209-en.

Özbay S., Şireli U., 2021. The effect of ascorbic acid, storage period and packaging material on the formation of volatile N-nitrosamine in sausages. *Journal of Food Science and Technology*, No. 59. doi: 10.1007/s13197-021-05194-2.

Park J.-E., Seo J.-E., Lee J.-Y., Kwon H., 2015. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicological research*, No. 31, P. 279-288. doi: 10.5487/TR.2015.31.3.279.

Patterson J., Boateng J., Walker L.T., Verghese M., 2012. Cytotoxic Effects of Multiple N-nitrosamines in Human Liver Cell Line Hep2G: Possible Mechanisms of Action. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2012, No. 7, P. 114-127.

Peto R., Gray R., Brantom P., Grasso P., 1991. Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study. *Cancer Res.*, No. 51, P. 6415-6451.

Reuber M.D., Lee C.W., 1968. Effect of age and sex on hepatic lesions in Buffalo strain rats ingesting diethylnitrosamine. *Journal of the National Cancer Institute*, No. 41, P. 1133-1140.

Roszczenko A., Jablonski J., Moniuszko-Jakoniuk J., 1996. Effect of N-nitrosodimethylamine (NDMA) on activity of selected enzymes in blood serum of the rat. *Medycyna Pracy*, 1996, No. 47, P. 49-53.

Semakova A.P., Germanchuk V.G., Shavina N.Yu., 2021. Modern approach to quality assessment of laboratory animals used for experimental purposes. *Public health and habitat. – ZniSO*, No. 2, P. 84-90. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-332-2-84-90>.

Shagidulin M., Volkova E., Metelsky S., Sevastyanov V., 2017. Experience in organizing and conducting experimental research at the Federal National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs named after Academician V.I. Shumakov. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs*, Vol. 19, No. 4, P. 104-112. DOI: <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-4-104-112>.

Sheweita S.A., Mostafa M.H., 1996. N-Nitrosamines and their effects on the level of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in the liver of male mice. *Cancer Lett.*, Vol. 99, No 1., P. 29–34. DOI:10.1016/0304-3835(95)04034-X.

Shur P. Z., Suvorov D. V., Zemlyanova M. A., Zelenkin S. E. Specifying the permissible daily exposure to N-nitrosamines by alimentary intake with food using experimental studies. 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference – SGEM 2020: Conference Proceedings, Vienna, Austria, December 08-11, 2020. Issue 6.2. – Vienna, Austria: Limited Liability Company STEF92 Technology, 2020. – P. 387-394. – DOI 10.5593/sgem2020V/6.2/s12.47. – EDN QXAQAM.

Shur P.Z. et al., 2022. Experience of Russian-Vietnamese cooperation in the field of development of chemical safety of food products: monography; ed. by A.Yu. Popova, ed. by N.V. Zaitseva, V.B. Alekseev, Le Thi Hong Hao. – Perm: Publishing house of Perm National Research Polytechnic University, 279 p.

Suvorov D.V. et al., 2023. Assessment of health risk associated with the content of priority potentially hazardous components identified in canned meat and canned meats intended for the nutrition of young

children. Nutrition Issues. Vol. 92, No. 4 (548), P. 38-48. – DOI 10.33029/0042-8833-2023-92-4-38-48. – EDN DQDUFJ.

Suvorov D.V., Shur P.Z., Zelenkin S.E., 2024. On the issue of determining the allowable daily dose of the total amount of N-nitrosamines for infants. Health Risk Analysis, No. 4, P. 72-80. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.07.

U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017. Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine. – 113 p.

U.S. Department of Health and Human Services, 2021. N-Nitrosamines: 15 listings. In: Report on carcinogens. 15th ed. National Toxicology Program. URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/nitrosamines.pdf>.

U.S. Environmental Protection Agency, 1987. N-Nitrosodimethylamine; CASRN 62-75-9. Chemical assessment summary. Integrated Risk Information. URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0045_summary.pdf (date of access: 26.11.2024).

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

Usunomena U., Ademuyiwa A.J., Tinuade O.O., Uduenevwo F.E., Martin O., Okolie N.P., 2012. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review. British Journal of Pharmacology and Toxicology, Vol. 3, No. 4, P. 165-176.

Wei W., Liu A., Liu M., Li M., Wu X., Qin C. et al., 2024. Development of an animal model of hypothyroxinemia during pregnancy in Wistar rats. Animal Models and Experimental Medicine. DOI: 10.1002/ame2.12459.

Wong H.L., Murphy S.E., Wang M., Hecht S.S., 2003. Comparative metabolism of N-nitrosopiperidine and N-nitrosopyrrolidine by rat liver and esophageal microsomes and cytochrome P450 2A3. Carcinogenesis, Vol. 24, No 2, P. 291–300. DOI: 10.1093/carcin/24.2.291.

Zaitseva N.V., Ulanova T.S., Nuryslamova T.V., Popova N.A., Maltseva O.A., 2018. Quantitative indicators of nitrate in urine and N-nitrosodimethylamine in blood as markers of oral exposure to nitrate from drinking water. Hygiene and Sanitation, Vol. 97, No. 11, P. 1087-1092. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1087-92>.

Zemlyanova M.A., Dolgikh O.V., 2010. Biomarkers of effect as indicators and criteria of the impact of anthropogenic chemical factors of environmental and industrial environment on health. Public Health and Habitat – ZnSO, No. 11, P. 31-33.

Cơ quan giám sát Liên bang bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng và phúc lợi con người

Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor

Bộ Y tế nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam

Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia, Bộ Y tế nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam

Kinh nghiệm hợp tác Nga - Việt trong lĩnh vực phát triển đảm bảo an toàn hóa học cho sản phẩm thực phẩm giai đoạn 2023-2024

Chuyên khảo

Biên tập bởi

Popova A.Yu.,

Tổng Biên tập Zaitseva N.V., Alekseev V.B., Shur P.Z.,

Lê Thị Hồng Hảo, Trần Cao Sơn

Perm
Hà Nội
2025

Tổng Biên tập:

Zaitseva N.V., Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng
Alekseev V.B., đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor

Shur P.Z.

Lê Thị Hồng Hảo Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia Bộ Y tế
nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam

Đội ngũ của các tác giả:

Cơ quan Liên Bang giám sát bảo vệ quyền của người tiêu dùng và phúc lợi con người:
Tiến sĩ Y khoa, Giáo sư Popova A.Yu.

Nhóm tác giả của Cục An toàn Thực phẩm, Bộ Y tế nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam: Nguyễn Hùng Long, Lâm Quốc Hùng.

Tập thể tác giả của Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor: Zaitseva N.V., Alekseev V.B., Shur P.Z., Suvorov D.V., Zemlyanova M.A., Nurislamova T.V., Zelenkin S.E., Lir D.N., Redko S.V., Fokin V.A., Subbotina D.Yu., Stepankov M.S.

Nhóm tác giả của Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia, Bộ Y tế nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam: Lê Thị Hồng Hảo, Trần Cao Sơn, Nguyễn Thị Hồng Ngọc, Bùi Cao Tiến, Phùng Công Lý, Trần Trung Thành, Nguyễn Thành Trung, Phạm Văn Quân, Thiều Quang Thắng, Nguyễn Văn Cường, Trần Hùng, Lê Thành Long, Trần Quang Huy, Tạ Thị Yến, Nghiêm Thị Ngọc Huyền, Vũ Ngọc Tú.

Người phản biện:

Khotimchenko S.A. , thành viên thông tấn của Viện Hàn lâm Khoa học Nga, tiến sĩ khoa học y khoa, giáo sư, trưởng phòng thí nghiệm độc học thực phẩm và đánh giá an toàn công nghệ nano của Trung tâm Nghiên cứu Liên bang về Dinh dưỡng, Công nghệ Sinh học và An toàn Thực phẩm;

Meltser A.V. , tiến sĩ y khoa, giáo sư, phó hiệu trưởng phụ trách việc phát triển y tế khu vực và hướng dẫn y tế dự phòng, trưởng khoa y học dự phòng và bảo vệ sức khỏe của trường Đại học Y khoa Nhà nước vùng Tây Bắc mang tên I.I. Mechnikov, Bộ Y tế Nga.

NỘI DUNG

GIỚI THIỆU	221
CHƯƠNG 1. HỢP TÁC GIỮA FBSI VÀ NIFC: PHÁT TRIỂN NGHIÊN CỨU TRONG LĨNH VỰC AN TOÀN HÓA HỌC THỰC PHẨM	225
CHƯƠNG 2. ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ SỨC KHỎE LIÊN QUAN ĐẾN HÀM LƯỢNG N-NITROSAMINE TRONG THỊT VÀ CÁC SẢN PHẨM THỊT ĐƯỢC TIÊU THỤ BỞI NGƯỜI DÂN VIỆT NAM	235
Xác định mối nguy của N-nitrosamine để đánh giá định lượng nguy cơ tiếp theo.....	237
Xác định các thông số chính của mối quan hệ "phơi nhiễm - phản ứng"	241
Đánh giá tác động gây ung thư	242
Đánh giá các tác động không gây ung thư	242
Đánh giá tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt được tiêu thụ trên lãnh thổ nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam.....	243
Tính toán liều lượng trung bình hàng ngày	246
Mô tả nguy cơ	250
Đánh giá các bất định.....	257
Kết quả nghiên cứu vệ sinh về đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe dân cư khi tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt tại Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam	258
CHƯƠNG 3. THIẾT LẬP CÁC THÔNG SỐ PHỤ THUỘC "PHƠI NHIỄM-ĐÁP ỨNG" ĐỂ ĐÁNH GIÁ RỦI RO DỰA TRÊN THÍ NGHIỆM ĐỘC HỌC SỬ DỤNG CÁC DẤU ẤN SINH HỌC CỦA PHƠI NHIỄM VÀ TÁC ĐỘNG	263
Thiết kế thí nghiệm trên mô hình động vật để xác định các thông số đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư do phơi nhiễm N-nitrosodimethylamine.	265
Đánh giá sự phụ thuộc của các hiệu ứng (phản ứng) vào liều lượng dựa trên kết quả thí nghiệm độc học trên mô hình động vật.....	272
Phân tích sự phụ thuộc của hoạt động của enzym gan (dấu ấn sinh học của tác động) và nồng độ NDMA trong máu (dấu ấn sinh học của phơi nhiễm) vào mức độ phơi nhiễm NDMA bằng hồi quy cặp phi tuyến tính.....	293

Thiết lập mức tham chiếu cho NDMA dựa trên dữ liệu sơ bộ từ một thí nghiệm độc tính trên chuột dựa trên mức GGT.....	300
Thiết lập mức tham chiếu cho NDMA dựa trên dữ liệu sơ bộ từ một thí nghiệm độc tính trên chuột	301
KẾT LUẬN VỀ KẾT QUẢ HỢP TÁC CHUNG NGA-VIỆT NAM NĂM 2023-2024	308
DANH MỤC VIẾT TẮT.....	310
TÀI LIỆU THAM KHẢO	312

GIỚI THIỆU

Trong bối cảnh hoạt động hợp tác quốc tế được triển khai mạnh mẽ trên toàn cầu trong lĩnh vực đảm bảo an toàn vệ sinh và dịch tễ, vào ngày 12 tháng 11 năm 2013 tại thành phố Hà Nội (nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam), Bản ghi nhớ hợp tác giữa Cơ quan Liên bang giám sát bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng và phúc lợi con người (Rospotrebnadzor) của Liên bang Nga và Bộ Y tế Việt Nam đã được ký kết. Bản ghi nhớ là nền tảng cho việc tăng cường hợp tác khoa học giữa hai đơn vị và là tiền đề để đưa các dự án nghiên cứu chung vào dự án liên bang do Rospotrebnadzor đề xuất "Lá chắn vệ sinh" vào năm 2022. Dự án "Lá chắn vệ sinh" được thực hiện nhằm phát triển hợp tác quốc tế trong lĩnh vực an toàn vệ sinh dịch tễ, bao gồm trao đổi kinh nghiệm và thông tin với các đối tác nước ngoài. Ngoài ra, dự án còn dự kiến hướng tới nâng cao năng lực thông qua việc đào tạo và nâng cao trình độ chuyên môn cho các chuyên gia trong các lĩnh vực giám sát vệ sinh dịch tễ, thử nghiệm và ứng phó với tình huống khẩn cấp. Một khía cạnh quan trọng của dự án là cải thiện hệ thống cung cấp thông tin thông qua việc xây dựng và phát triển các mạng lưới thông tin, đảm bảo trao đổi dữ liệu kịp thời giữa các cơ quan và khu vực khác nhau, cũng như thông báo cho người dân về các nguy cơ và biện pháp phòng ngừa. Mục đích cuối cùng của dự án "Lá chắn vệ sinh" là dự kiến cải thiện cơ sở pháp lý nhằm điều chỉnh các vấn đề liên quan đến phúc lợi vệ sinh dịch tễ của dân cư, điều này phản ánh cách tiếp cận toàn diện để đảm bảo sức khỏe cộng đồng.

Trong khuôn khổ dự án "Lá chắn vệ sinh", hoạt động đánh giá nguy cơ sức khỏe và đảm bảo an toàn hóa học trong các sản phẩm thực phẩm sẽ được ưu tiên thực hiện bởi Viện Ngân sách Liên Bang về Khoa học "Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe" của Rospotrebnadzor (FBSI) (thuộc Thành phố Perm) và Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC). Cơ sở cho sự hợp tác này là Bản ghi nhớ (Memorandum of Understanding) được ký kết giữa hai bên vào năm 2018.

FBSI đã hình thành một trường phái khoa học phân tích nguy cơ về sức khỏe, tập hợp kinh nghiệm của các nhà khoa học trẻ được công nhận và triển vọng trong lĩnh vực y học dự phòng, vệ sinh, dịch tễ học các bệnh không lây nhiễm, di truyền tế bào, miễn dịch học, hóa học phân tích và mô hình hóa toán học các quá trình sinh học. FBSI cũng đã phát triển các phương pháp hiện đại để đánh giá nguy cơ của sức khỏe do tác động của các yếu tố môi trường và ghi nhận bằng chứng về tác hại đối với sức khỏe cộng đồng do ảnh hưởng tiêu cực của môi trường sống. Các công nghệ y tế dự phòng đang được phát triển nhằm giảm thiểu nguy cơ dựa trên phân tích sâu dữ liệu giám sát tình trạng môi trường và sức khỏe dân cư của Nga, kết quả của các nghiên cứu lâm sàng, phòng thí nghiệm, hóa học, phân tích và dịch tễ học. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong các phương pháp và báo cáo phân tích, được sử dụng trong hoạt động thực tiễn của Rosпотребнадзор.

Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC) là đơn vị trực thuộc Bộ Y tế nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam, được thành lập theo Quyết định số 376/QĐ-TTg ngày 23 tháng 3 năm 2009 của Thủ tướng Chính phủ. Quy chế tổ chức và Hoạt động của NIFC được quy định tại Quyết định số 6065/QĐ-BYT ngày 30 tháng 12 năm 2019 và Quyết định số 5455/QĐ-BYT ngày 28 tháng 12 năm 2020 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.

Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia là đơn vị kiểm nghiệm thực phẩm tuyến cao nhất của ngành Y tế Việt Nam, hỗ trợ cho quản lý nhà nước trong hoạt động chuyên môn của Bộ Y tế và các cơ quan có thẩm quyền khác trong các lĩnh vực liên quan, phù hợp với pháp luật hiện hành.

NIFC có cơ sở hạ tầng hiện đại, được trang bị các thiết bị công nghệ cao, cũng như đội ngũ nhân viên có trình độ chuyên môn sâu, là những yếu tố góp phần tạo nên sự vượt trội, vững mạnh của NIFC trong lĩnh vực kiểm nghiệm các sản phẩm thực phẩm nhập khẩu, xuất khẩu và đang lưu thông trên thị trường. NIFC cung cấp các dịch vụ, đảm bảo chất lượng và hiệu quả cao, bao gồm: hoạt động kiểm nghiệm thực phẩm, hiệu chuẩn thiết bị, chứng nhận sản phẩm, thử nghiệm thành thạo, cũng như tư vấn và đào tạo về phương pháp lấy mẫu thực phẩm và

chuyển giao kỹ thuật. Ngoài ra, NIFC là phòng thí nghiệm kiểm chứng, được các cơ quan có thẩm quyền chỉ định là cơ sở kiểm nghiệm thực phẩm phục vụ quản lý nhà nước về an toàn thực phẩm thuộc quản lý của Bộ Y tế, Bộ Nông nghiệp và Môi trường, Bộ công thương quản lý.

Đứng trước thực trạng sự gia tăng xuất hiện của các bệnh không lây nhiễm, liên quan đến tác động của các yếu tố môi trường khác nhau, bao gồm các chất ô nhiễm hóa học trong thực phẩm, sự hợp tác giữa FBSI và NIFC là khởi đầu và cần thiết để thúc đẩy các hoạt động nghiên cứu nguy cơ tới sức khỏe con người. Nghiên cứu thực phẩm từ góc độ nguy cơ không lây nhiễm là một khía cạnh quan trọng trong việc đảm bảo sức khỏe cộng đồng, bởi vì tiếp xúc lâu dài với nồng độ thấp của các hóa chất có thể dẫn đến sự phát triển của các tình trạng bệnh lý, bao gồm các bệnh tim mạch, quá trình ung thư, rối loạn chuyển hóa, tác động độc thần kinh và các tác động tiêu cực khác đối với sức khỏe con người. Trong bối cảnh này, việc đánh giá toàn diện về an toàn thực phẩm, bao gồm phân tích các chất gây ô nhiễm hóa học, phát triển các phương pháp tiếp cận phương pháp luận để xác định mức độ cho phép của các mối nguy và đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe người tiêu dùng, trở nên vô cùng quan trọng. Các nghiên cứu chung trong khuôn khổ hợp tác này nhằm giải quyết những vấn đề cấp bách và phát triển các phương pháp tiếp cận có cơ sở khoa học để giảm thiểu nguy cơ liên quan đến các yếu tố hóa học có nguồn gốc thực phẩm, nhằm đảm bảo an toàn vệ sinh cho người dân.

Ấn phẩm này tổng hợp kết quả của các công trình nghiên cứu khoa học chung, được thực hiện bởi "Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe " thuộc Cơ quan Liên Bang Giám sát Bảo vệ Quyền lợi Người tiêu dùng và Phúc lợi Con người, Liên bang Nga và Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia, thuộc Bộ Y tế, Việt Nam trong giai đoạn từ năm 2023 đến năm 2024.

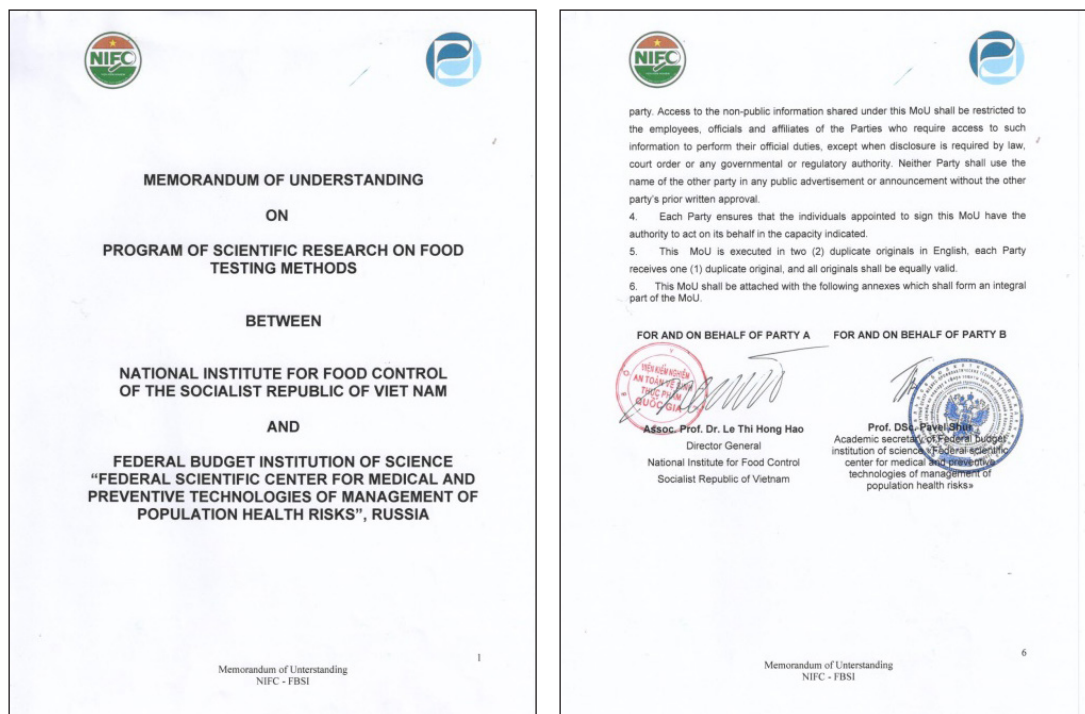
Để thực hiện thành công công tác nghiên cứu chung, Kế hoạch thực hiện chương trình nghiên cứu chung trong lĩnh vực kiểm soát chất lượng thực phẩm của FBSI và NIFC trong giai đoạn 2023-2025 đã được xây dựng và thống nhất thực hiện công việc nghiên cứu khoa học chung

về chủ đề "Đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng, hình thành từ việc tiêu thụ các hợp chất N-nitrosamine qua thực phẩm của người dân Việt Nam và Liên bang Nga, có tính đến các thông số phụ thuộc "phơi nhiễm - đáp ứng". Do đó, mục tiêu chính của hoạt động từ năm 2023 đến năm 2024, là thu thập và phân tích các thông số, bao gồm các dấu ấn sinh học của phơi nhiễm và tác động, để đánh giá rủi ro đối với sức khỏe cộng đồng. Trong khuôn khổ nhiệm vụ này, vào năm 2023 FBSI và NIFC đã thực hiện giai đoạn nghiên cứu khoa học chung mang tên "Đánh giá nguy cơ sức khỏe liên quan đến hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt được tiêu thụ bởi người dân Việt Nam". Nghiên cứu này đã được tiếp tục và mở rộng vào năm 2024, khi dựa trên kết quả thu được vào năm 2023, giai đoạn "Thiết lập các thông số phụ thuộc 'phơi nhiễm - đáp ứng' để đánh giá nguy cơ dựa trên thí nghiệm độc học sử dụng các dấu ấn sinh học về phơi nhiễm và đáp ứng" đã được thực hiện. Kết quả của giai đoạn năm 2024 sẽ là cơ sở cho nghiên cứu trong năm 2025, nhằm làm rõ và xác nhận các thông số phụ thuộc đã được thiết lập.

CHƯƠNG 1. HỢP TÁC GIỮA FBSI VÀ NIFC PHÁT TRIỂN NGHIÊN CỨU TRONG LĨNH VỰC AN TOÀN HÓA HỌC THỰC PHẨM

Trong khuôn khổ phát triển quan hệ đối tác và nhằm mục đích tăng cường hợp tác quốc tế, Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe từ năm 2015 đã tích cực tham gia vào chương trình hợp tác giữa Cơ quan giám sát Liên bang bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng và phúc lợi con người và Bộ Y tế Việt Nam. Sự hợp tác này, nhằm hỗ trợ Việt Nam trong việc đảm bảo an toàn vệ sinh dịch tễ cho người dân, đã trở thành điểm khởi đầu cho sự phát triển nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực an toàn hóa học thực phẩm, thông qua sự hợp tác với Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia

Tăng cường hợp tác với NIFC đã được thể hiện bằng Quyết định số 1536-r của Chính phủ Liên bang Nga ngày 13 tháng 7 năm 2019, đánh dấu một giai đoạn mới trong các nghiên cứu chung. Nội dung chính của Giai đoạn này được nhấn mạnh bởi sự trao đổi kinh nghiệm và kiến thức tích cực giữa các chuyên gia và các nhà khoa học trẻ, điều này trở nên khả thi nhờ vào việc củng cố mối quan hệ đối tác giữa hai tổ chức. Sự kiện quan trọng, đóng vai trò là điểm khởi đầu cho sự hợp tác tiếp theo, là cuộc gặp gỡ đầu tiên diễn ra trực tiếp tại NIFC ở nước Cộng hòa Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam. Tại thời điểm cuộc họp, tham gia sự kiện từ phía Việt Nam có: PGS.TS. Phạm Xuân Đà (Viện trưởng), PGS.TS. Lê Thị Hồng Hào (Phó Viện trưởng, hiện nay là Viện trưởng), TS. Lê Thị Phương Thảo (Trưởng phòng quản lý chất lượng, hiện nay là Phó Viện trưởng), Nguyễn Thị Giang (Giám đốc Trung tâm dịch vụ khoa học kỹ thuật), và Nghiêm Thị Ngọc Huyền (chuyên viên hợp tác quốc tế). Cơ sở pháp lý cho sự hợp tác giữa Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe và Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia là Bản ghi nhớ được ký kết vào năm 2018. Bản ghi nhớ này đã xác định các khuôn khổ và nguyên tắc hợp tác trong lĩnh vực đảm bảo an toàn thực phẩm (Hình 1.1).



Hình 1.1. Bản ghi nhớ (Memorandum of Understanding).

Theo Bản ghi nhớ và kế hoạch kèm theo, một loạt các hoạt động đã được thực hiện liên tục nhằm nâng cao trình độ chuyên môn cho các chuyên gia Việt Nam. Chương trình này bao gồm một loạt các hội thảo được tổ chức trực tiếp tại NIFC, cũng như các khóa đào tạo tại FBSI. Vào năm 2018, nhằm mục đích hoàn thiện quy trình chuẩn bị mẫu cho phân tích sắc ký khối phổ, một hội thảo đã được tổ chức tại NIFC với chủ đề "Phương pháp chuẩn bị mẫu sản phẩm thực phẩm cho phân tích hóa học bằng cách sử dụng hệ thống chiết pha rắn tự động Sepaths, sau đó là phân tích sắc ký khối phổ" (Hà Nội, tháng 5 năm 2018). Tiếp theo, vào tháng 12 năm 2018, các chuyên gia Việt Nam đã có cơ hội tìm hiểu về ứng dụng thực tiễn của phương pháp chuẩn bị mẫu sản phẩm thực phẩm cho phân tích hóa học bằng cách sử dụng hệ thống chiết pha rắn tự động Sepaths trực tiếp tại FBSI.

Tiếp tục thực hiện các kế hoạch đã đề ra, vào tháng 7 năm 2019, các chuyên gia Nga đã tổ chức các hội thảo đào tạo về đánh giá nguy

cơ ô nhiễm hóa học trong sản phẩm thực phẩm theo phương pháp của Ủy ban Codex [Codex Alimentarius Commission, 2023] và EAEU [Eurasian Economic Commission, 2018]. Tại hội thảo, các khía cạnh phương pháp luận của đánh giá nguy cơ đã được xem xét, bao gồm việc nhận diện mối nguy của các chất ô nhiễm thực phẩm hiện tại cho cả hai quốc gia, thiết lập mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng", và áp dụng mô hình hóa tiến hóa trong đánh giá nguy cơ của các chất hóa học trong thực phẩm (Hình 1.2).



Hình 1.2. Hội thảo tập huấn về đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe do các chuyên gia Nga tổ chức tại NIFC (thành phố Hà Nội).

Trong suốt quá trình hợp tác, trong khuôn khổ Bản ghi nhớ từ khi ký kết cho đến nay, hơn 30 cán bộ của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã được đào tạo và nâng cao trình độ về phương pháp đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe. Các sự kiện này chứng tỏ những nỗ lực đáng kể được thực hiện trong khuôn khổ quan hệ đối tác và đóng góp quan trọng vào sự phát triển năng lực chuyên môn của các chuyên gia NIFC, được thực hiện theo các điều khoản của Bản ghi nhớ.

Song song cùng với việc đào tạo các cán bộ Việt Nam về phương pháp đánh giá nguy cơ, FBSI và NIFC đã tiến hành thực hiện nghiên cứu khoa học chung "Đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe người dân do hàm lượng các chất có hại trong sản phẩm thực phẩm". Nghiên cứu này, bao gồm giai đoạn năm năm, nhằm mục đích hiểu biết sâu rộng và phát triển các phương pháp tiếp cận phương pháp luận trong lĩnh vực đánh giá nguy cơ.

Trong suốt 05 năm, các chuyên gia Nga và Việt Nam đã tiến hành các hoạt động hợp tác quốc tế chung, nhằm phân tích và đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe do hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine trong các sản phẩm thực phẩm chuyên dụng cho trẻ nhỏ gây ra. Các phương pháp tiếp cận phương pháp luận cũng đã được phát triển để lựa chọn các sản phẩm thực phẩm nhằm đánh giá nguy cơ và kiểm soát hàm lượng các chất hóa học có mặt không chủ ý trong sản phẩm thực phẩm, dựa trên các tiêu chí lựa chọn. Kết quả của các nghiên cứu đã được công bố trên các Ấn phẩm khoa học do Tiến sĩ Khoa học Y khoa, viện sĩ Viện Hàn lâm Khoa học Nga, giáo sư A.Yu. Popovaia, tiến sĩ Khoa học Y khoa, viện sĩ Viện Hàn lâm Khoa học Nga, giáo sư G.G. Onishenko và, tiến sĩ Khoa học Y khoa, viện sĩ Viện Hàn lâm Khoa học Nga, giáo sư N.V. Zaitsevaia (Hình 1.3) [Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 2024; Shur P.Z. et al., 2022].



Hình 1.3. Các sách/ tài liệu chuyên khảo chung của Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe và Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (giai đoạn 2022-2024).

Trải qua nhiều năm hợp tác thành công giữa các viện nghiên cứu của Liên bang Nga, được đại diện bởi FBSI của Rospotrebnadzor, và Việt Nam, được đại diện bởi NIFC, dựa trên các nguyên tắc tin cậy lẫn nhau, cởi mở và tôn trọng, đã đặt nền móng vững chắc cho sự phát triển tiếp theo của quan hệ đối tác trong lĩnh vực đảm bảo an ninh lương thực. Mục tiêu chính của giai đoạn hợp tác này nhằm tạo ra các hệ thống kiểm soát chất lượng thực phẩm đáng tin cậy và hiệu quả cũng như đánh giá rủi ro, đã đóng vai trò then chốt trong việc đảm bảo sức khỏe và phúc lợi của người dân ở cả hai quốc gia.

Dựa trên những thành công đã đạt được và nhận thức được tầm quan trọng của việc phát triển hơn nữa các nỗ lực chung, Nga và Việt Nam đã xác định các hướng hợp tác chiến lược mới. Bắt đầu từ năm 2023, Cơ quan giám sát Liên bang bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng và phúc lợi con người đã đưa Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor tham gia vào Dự án Liên bang "Lá chắn Vệ sinh". Điều này đã mở ra những triển vọng mới cho sự hợp tác Nga - Việt trong lĩnh vực an ninh lương thực. Dự án nhằm tạo ra một hệ thống thống nhất để bảo vệ dân số khỏi các mối đe dọa sinh học, hóa học và phóng xạ, bao gồm đảm bảo an toàn thực phẩm.

Trong khuôn khổ giai đoạn hợp tác mới, phạm vi nghiên cứu chung đã được mở rộng, trong đó hướng chính là phát triển các phương pháp tiếp cận phương pháp luận để định lượng nguy cơ không gây ung thư nhằm đảm bảo an ninh lương thực. Các phương pháp tiếp cận này được đúc kết dựa trên các kinh nghiệm tốt nhất của Liên bang Nga, được trình bày trong chuyên khảo tập thể "Phân tích nguy cơ sức khỏe trong Chiến lược phát triển kinh tế - xã hội của Nhà nước" [Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 2024; Shur P.Z. et al., 2022]. Đây là công trình cơ bản trong lĩnh vực đánh giá nguy cơ sức khỏe cộng đồng và là cơ sở cho các chương trình đào tạo chuyên gia NIFC trong lĩnh vực đánh giá và quản lý nguy cơ sức khỏe. Hướng nghiên cứu này bao gồm việc tạo ra các thông số và tiêu chí để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư, cũng như phát triển các phương pháp phân tích có cơ sở khoa học, cho

phép xác định chính xác mức độ nguy cơ liên quan đến sự hiện diện của các chất không gây ung thư trong sản phẩm thực phẩm.

Do đó, việc đưa FBSI của Rospotrebnadzor vào Dự án Liên bang "Lá chắn vệ sinh" đã trở thành một bước quan trọng trong việc củng cố quan hệ đối tác Nga - Việt trong lĩnh vực an ninh lương thực. Giai đoạn hợp tác mới này đã mở ra những triển vọng rộng lớn cho sự phát triển tiếp theo của các nghiên cứu khoa học, trao đổi kinh nghiệm và thực hiện thực tiễn các kết quả đạt được, nhằm đảm bảo sức khỏe và phúc lợi của người dân ở cả hai quốc gia. NIFC đã trở thành một phần không thể thiếu của quá trình này, đóng góp đáng kể vào hợp tác hai bên.

Trong khuôn khổ thực hiện Dự án Liên bang "Lá chắn vệ sinh" và giai đoạn mới của quan hệ đối tác Nga - Việt, các chuyên gia của NIFC đã được tham gia các hội thảo đào tạo do các chuyên gia của FBSI tổ chức, với sự tham gia của cả các nhà khoa học giàu kinh nghiệm và trẻ tuổi (Hình 1.4).



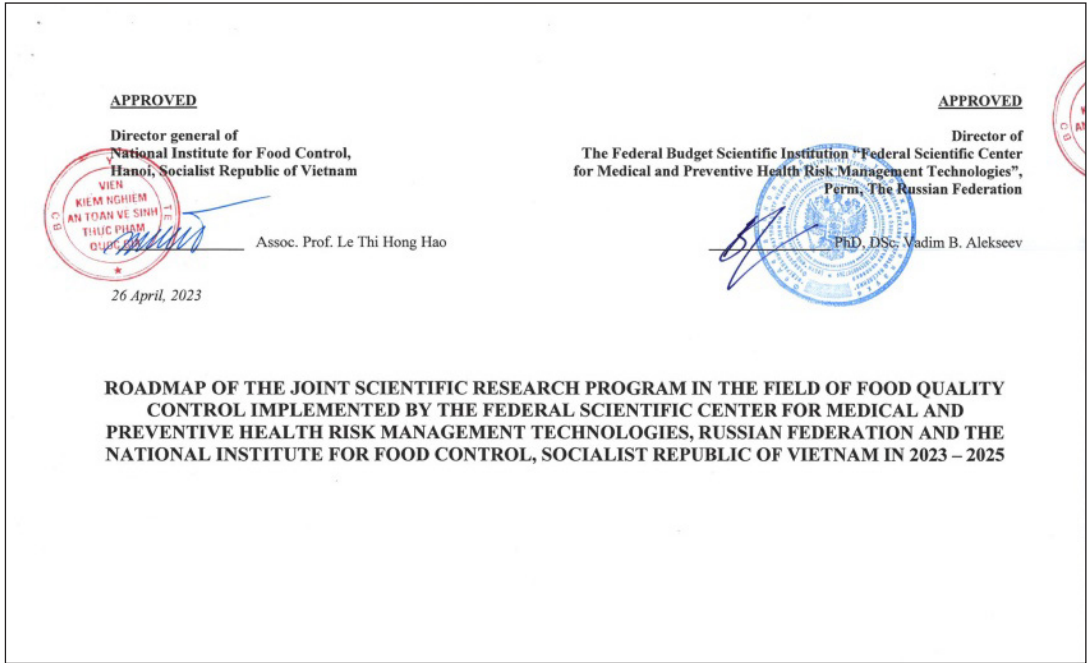
Hình 1.4. Hội thảo chuyên đề do FBSI tổ chức về chủ đề "Đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng do hấp thụ hóa chất trong sản phẩm thực phẩm bằng phương pháp EEC" tại NIFC, 2023.

Vào năm 2023, các nhân viên của FBSI đã tổ chức các hội thảo đào tạo về đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng, được hình thành từ việc tiếp nhận các chất hóa học qua thực phẩm, sử dụng phương pháp luận của Ủy ban Kinh tế Á-Âu (EEC). Các hội thảo đã xem xét các khía cạnh chính của phương pháp đánh giá nguy cơ sức khỏe, cũng như việc

áp dụng các dấu ấn sinh học của phôi nhiễm và phản ứng để đảm bảo an toàn thực phẩm dựa trên nguy cơ. Những người tham gia hội thảo đã được đào tạo về kỹ năng thực hành trong việc áp dụng các phương pháp phân tích và phân tích dữ liệu hiện đại, điều này đã góp phần nâng cao năng lực chuyên môn của họ.

Các sự kiện đã tổ chức nhấn mạnh tầm quan trọng của hợp tác quốc tế và trao đổi kinh nghiệm trong lĩnh vực đánh giá nguy cơ sức khỏe, đồng thời thể hiện sự tích hợp thành công giữa kiến thức lý thuyết và kỹ năng thực hành trong các chương trình giáo dục cho các chuyên gia NIFC.

Ngoài ra, kết quả của các hội thảo đã đề ra một kế hoạch hành động rõ ràng cho tương lai, bao gồm cả các khía cạnh khoa học, phương pháp và ý nghĩa thực tiễn của công việc chung nhằm bảo vệ sức khỏe của người dân ở cả hai quốc gia. NIFC đã tích cực tham gia vào việc lập kế hoạch công việc và xác định các ưu tiên hợp tác, điều này được thể hiện trong Bản Kế hoạch hoạt động chung đã được hai bên ký kết (Hình 1.5).



Hình 1.5. Bản Kế hoạch hoạt động chung giữa FBSI và NIFC.

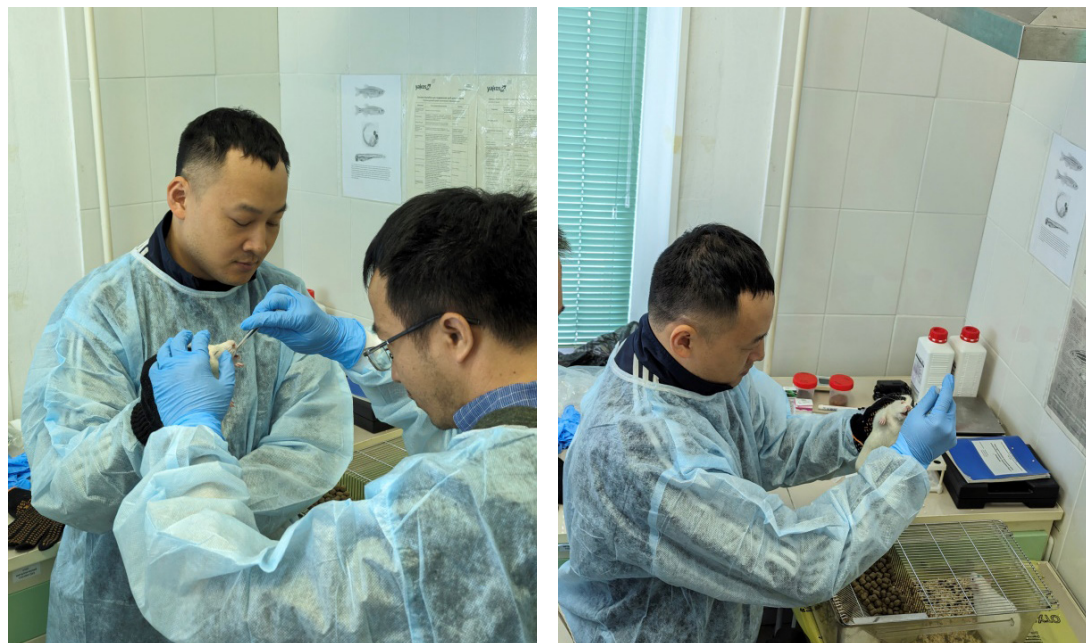
Kết quả của cuộc thảo luận về kế hoạch công việc đã dẫn đến việc xác định các hướng nghiên cứu chính, nhằm đảm bảo an ninh lương thực. Vì vậy, trong quá trình thảo luận, các chuyên gia của FBSI và NIFC đã xác định ưu tiên nghiên cứu chung trong năm 2023 là đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe liên quan đến các hợp chất N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt được tiêu thụ tại Việt Nam. Lựa chọn này được đưa ra vì các sản phẩm thịt, đặc biệt là sau khi chế biến nhiệt, có thể gây nguy hiểm lớn nhất do có thể chứa các hợp chất N-nitrosamine - các chất có khả năng gây ung thư. Ngoài ra, tính cấp thiết của vấn đề này trên quy mô toàn cầu đã được công bố trong báo cáo của EFSA năm 2023 [EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2023; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023] đã thúc đẩy sự phát triển của chủ đề này trong hợp tác với các đối tác Việt Nam. Giai đoạn tiếp theo (2024) của việc hợp tác chung là xác định các thông số để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư của nitrosamine, vì một số nghiên cứu chỉ ra rằng nguy cơ không gây ung thư (đặc biệt là nguy cơ hình thành liên quan đến gan) có thể xảy ra sớm hơn nguy cơ gây ung thư [Deveci, Tek, 2024; Suvorov, Zaitseva, Shur và cộng sự, 2023].

Để thực hiện các mục tiêu đặt ra trong năm 2023, một chương trình đào tạo và nâng cao trình độ chuyên môn toàn diện đã được triển khai. Trọng tâm chính của chương trình là nâng cao kỹ năng đánh giá nguy cơ sức khỏe cộng đồng liên quan đến tác động của các yếu tố hóa học, cũng như áp dụng các phương pháp hiện đại sử dụng các dấu ấn sinh học về phơi nhiễm và hiệu ứng trong thực tiễn giám sát và kiểm soát an toàn thực phẩm. Các khóa đào tạo được tổ chức tại NIFC và FBSI đảm bảo cách tiếp cận toàn diện và kiến thức thu được phù hợp, hữu ích, cần thiết với các nhiệm vụ của NIFC.

Phần lý thuyết của các khóa đào tạo là các hội thảo chuyên đề về phương pháp đánh giá nguy cơ. Những người tham gia đã nghiên cứu sâu về các vấn đề nhận diện nguy cơ, phân tích mối quan hệ "liều lượng - đáp ứng", đánh giá phơi nhiễm và mô tả nguy cơ. Đặc biệt chú ý đến việc xây dựng kịch bản, phân tích các yếu tố không chắc chắn và diễn giải kết quả. Nhiều hội thảo riêng biệt đã được tổ chức về chủ đề các dấu ấn sinh học: phân loại, xác nhận, phương pháp xác định của chúng, cũng như việc áp dụng để đánh giá sự phơi nhiễm của dân số và phát

hiện sớm các tác động tiêu cực. Trong các buổi học lý thuyết, có sự tham gia của 8 cán bộ từ NIFC, điều này cho phép bao quát các hướng hoạt động chính của Viện.

Các buổi thực hành đã tập trung vào việc nắm vững các phương pháp làm việc với vật liệu sinh học. Tại FBSI, các chuyên gia của NIFC đã rèn luyện kỹ năng lấy mẫu từ động vật thí nghiệm, tuân thủ các tiêu chuẩn đạo đức và yêu cầu an toàn. Trong khuôn khổ đào tạo, 4 cán bộ của NIFC đã nắm vững các phương pháp chọn lọc, bảo quản và vận chuyển mẫu, cũng như học cách lựa chọn vật liệu sinh học phù hợp tùy thuộc vào mục tiêu nghiên cứu (Hình 1.6).



Hình 1.6. Hoàn thiện các kỹ năng của các cán bộ NIFC trong việc lấy mẫu sinh học từ động vật thí nghiệm tại FBSI, năm 2023.

Việc thực hiện chương trình đã cho phép tăng cường đáng kể năng lực của cán bộ NIFC trong lĩnh vực đánh giá nguy cơ sức khỏe và áp dụng các phương pháp tiếp cận đổi mới, chẳng hạn như sử dụng các dấu ấn sinh học. Các kỹ năng đã đạt được góp phần nâng cao độ chính xác trong kiểm soát chất lượng sản phẩm thực phẩm, tính hợp lý của các quyết định giảm thiểu rủi ro và củng cố hệ thống an toàn thực phẩm tại Nga. Sự phát triển tiếp theo của hướng này sẽ góp phần hoàn thiện cơ

sở khoa học, phương pháp của NIFC và tăng cường vai trò của NIFC trong việc bảo vệ sức khỏe của người dân.

Ngoài ra, để thực hiện các kế hoạch đã đề ra, FBSI đã cử chuyên gia sang NIFC và tổ chức khóa đào tạo thực hành cho 5 cán bộ của NIFC về "Kỹ thuật lấy máu từ động vật thí nghiệm" (Hình 1.7). Sự kiện này đã cho phép các cán bộ nắm vững các phương pháp và công nghệ hiện đại trong việc lấy mẫu sinh học, đây là một giai đoạn quan trọng trong việc thực hiện các nghiên cứu thực nghiệm. Quá trình thực tập đặc biệt chú trọng đến việc tuân thủ các tiêu chuẩn đạo đức và quy tắc làm việc với động vật thí nghiệm, cũng như giảm thiểu căng thẳng cho động vật khi tiến hành các thí nghiệm.

Các kỹ năng thu được có ý nghĩa then chốt cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực đánh giá tác động độc học của các chất hóa học, bao gồm các hợp chất N-nitrosamine, và ảnh hưởng của chúng đến cơ thể. Những cán bộ tham gia thực tập cũng đã tìm hiểu về các phương pháp xử lý, bảo quản và lưu trữ mẫu sinh học để đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy cao của kết quả phân tích.

Việc tổ chức khóa đào tạo này đã góp phần củng cố năng lực chuyên môn của các cán bộ NIFC và đảm bảo sự kế thừa kinh nghiệm tiên tiến trong lĩnh vực nghiên cứu phòng thí nghiệm. Điều này tạo cơ sở cho việc triển khai giai đoạn công việc theo kế hoạch cho năm 2024.



Hình 1.7. Thực tập của các chuyên gia NIFC tại nơi làm việc với chủ đề "Kỹ thuật lấy máu ở động vật thí nghiệm", năm 2024.

CHƯƠNG 2. ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ SỨC KHỎE LIÊN QUAN ĐẾN HÀM LƯỢNG N-NITROSAMINE TRONG THỊT VÀ CÁC SẢN PHẨM THỊT ĐƯỢC TIÊU THỤ BỞI NGƯỜI DÂN VIỆT NAM

Theo "Lộ trình" hợp tác nghiên cứu khoa học năm 2023, được phát triển trong khuôn khổ thực hiện chương trình "Lá chắn vệ sinh", các nghiên cứu đã được tiến hành để đánh giá nguy cơ sức khỏe liên quan đến hàm lượng N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt mà người dân Việt Nam tiêu thụ.

Như đã biết, tiêu chí chính về an toàn của sản phẩm là mức độ nguy cơ liên quan đến việc gây hại cho cuộc sống hoặc sức khỏe. Trong đó, đánh giá nguy cơ cho phép thiết lập mối liên hệ giữa nồng độ chất gây ô nhiễm trong thực phẩm, thời gian tiếp xúc với mối nguy và khả năng gây nguy hại đối với sức khỏe con người. Những hậu quả này bao gồm sự phát triển của các hiệu ứng gây ung thư và không gây ung thư, cũng như các trường hợp tử vong do bệnh tật. Tiêu chí an toàn, được hiểu là đạt được mức "nguy cơ chấp nhận được (nguy cơ cho phép)". Điều này được hiểu là mức độ nguy cơ không đòi hỏi phải thực hiện các biện pháp bổ sung để giảm thiểu và được đánh giá là không đáng kể và chấp nhận được so với các nguy cơ tồn tại trong cuộc sống hàng ngày của người dân.

Đánh giá nguy cơ sức khỏe người dân được thực hiện theo các quy định của "Hướng dẫn đánh giá nguy cơ sức khỏe cộng đồng dân cư khi tiếp xúc với các chất hóa học gây ô nhiễm môi trường sống R.2.1.10.3968-23" (sau đây gọi là Hướng dẫn) [Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2023], cũng như theo phương pháp đánh giá nguy cơ được chấp nhận trên lãnh thổ các quốc gia thuộc Liên minh Kinh tế Á - Âu [Eurasian Economic Commission, 2017].

Theo phương pháp đánh giá nguy cơ và các quy định của Hướng dẫn, thực hiện đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe người dân bao gồm bốn giai đoạn chính:

- Xác định mối nguy, bao gồm việc phát hiện các yếu tố có thể gây hại, đánh giá mối liên hệ giữa yếu tố được nghiên cứu và các rối loạn sức khỏe, cũng như phân tích mức độ đầy đủ và độ tin cậy của dữ liệu hiện có về mức độ ô nhiễm thực phẩm bởi các chất được nghiên cứu.

- Đánh giá sự phụ thuộc "phơi nhiễm - đáp ứng": xác định mối quan hệ định lượng giữa các chỉ số tình trạng sức khỏe và mức độ phơi nhiễm;

- Đánh giá sự phơi nhiễm của con người với các chất hóa học, bao gồm xác định liều lượng tác động phơi nhiễm;

- Mô tả nguy cơ bao gồm tính toán nguy cơ và đánh giá so sánh nguy cơ.

Vì đối tượng đánh giá nguy cơ là ảnh hưởng của hàm lượng N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt đến sức khỏe của người dân Việt Nam, các nhiệm vụ chính của công việc này được xác định như sau:

1. Tiến hành xác định mối nguy các hợp chất N-nitrosamine; lựa chọn các yếu tố hóa học ưu tiên theo mức độ nguy hại đối với sức khỏe nhằm đánh giá định lượng nguy cơ tiếp theo;

2. Tổng quan dữ liệu về các thông số và tiêu chí để đánh giá sự phụ thuộc "liều lượng - đáp ứng";

3. Thực hiện đánh giá mức độ phơi nhiễm với các hợp chất N-nitrosamine từ việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt được bán tại Việt Nam;

4. Để xác định nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng từ việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt được bán tại Việt Nam dựa trên hệ số nguy cơ và mức độ nguy cơ gây ung thư, đồng thời xác định các N-nitrosamine ưu tiên cần xây dựng các thông số để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư.

Đánh giá nguy cơ dựa trên nỗ lực chung, bao gồm việc sử dụng dữ liệu thu được trong quá trình nghiên cứu của NIFC, về hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine và khối lượng tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt ở trẻ em và người lớn.

Xác định mối nguy của N-nitrosamine để đánh giá định lượng nguy cơ tiếp theo

Trong giai đoạn xác định mối nguy, nghiên cứu hàm lượng N-nitrosamine trong các mẫu thịt và sản phẩm thịt tiêu thụ tại Việt Nam [Le Thi Hong Hao và cộng sự, 2022.] đã được tiến hành. Trong đó, nghiên cứu đã khởi đầu bằng việc định lượng 9 loại N-nitrosamine (NDMA, NMEA, NDEA, NDBA, NDPA, NPIP, NPYR, NMOR, NDPHA) dựa trên phương pháp sắc ký khí khối phổ hai lần (GM-MS/MS). Tổng cộng đã phân tích 131 mẫu, đại diện cho 98 tên gọi khác nhau của sản phẩm thịt.

Kết quả cho thấy hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt được bán trên thị trường Việt Nam dao động từ 0,0002 mg/kg đến 0,012 mg/kg. Nồng độ trung bình của các hợp chất N-nitrosamine trong các nhóm sản phẩm khác nhau được trình bày trong Bảng 2.1.

Bảng 2.1

Giá trị trung bình của nồng độ các hợp chất N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt được bán trên thị trường Việt Nam (mg/kg)

TT	Tên chất	Thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ.	Thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên.	Thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò.	Thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói
1	NDMA	0,0048	0,0027	0,0038	0,0042
2	NMEA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
3	NDEA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
4	NDPA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
5	NDBA	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
6	NPIP	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
7	NPYR	<LLOD*	<NGO*	<LLOD*	<LLOD*
8	NMOR	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*
9	NDPHA	0,0005	<LLOD*	<LLOD*	<LLOD*

LLOD – giới hạn phát hiện thấp nhất (lower limit of detection) (0,0002 mg/kg sản phẩm)

Theo đó, N-nitrosamine được phát hiện thường xuyên nhất là NDMA, có mặt trong tất cả các nhóm sản phẩm được nghiên cứu, với nồng độ trung bình cao nhất của NDMA được tìm thấy trong thịt và các sản phẩm từ thịt nướng (0,0048 mg/kg), và thấp nhất trong thịt chiên rán (0,0027 mg/kg). NDPHA chỉ được phát hiện trong thịt và các sản phẩm từ thịt nướng, với giá trị trung bình là 0,0005 mg/kg. Các N-nitrosamine còn lại (NMEA, NDEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR và NMOR) trong tất cả các mẫu nghiên cứu không vượt quá giới hạn định lượng thấp nhất (LLOQ) của phương pháp là 0,0002 mg/kg. Điều này có thể được giải thích bởi hàm lượng thấp của các N-nitrosamine thấp hơn LLOQ hoặc sự không xuất hiện của N-nitrosamine trong các mẫu đã được nghiên cứu.

Kết quả phân tích hàm lượng N-nitrosamine trong các mẫu thịt và sản phẩm thịt được chọn cho thấy rằng nồng độ của hầu hết các hợp chất được nghiên cứu, ngoại trừ NDMA và NDPHA, đều thấp hơn mức LLOD trong hơn 95% mẫu. Dựa trên các nguyên tắc phương pháp luận đánh giá nguy cơ, hàm lượng NMEA, NDEA, NDBA, NDPA, NPIP, NPYR và NMOR trong các mẫu này được coi là bằng 0, do đó không cần thiết phải đánh giá định lượng nguy cơ tiếp theo của chúng.

Đồng thời, nồng độ NDPHA trong các mẫu được lấy không vượt quá giới hạn định lượng trong ít hơn 95% mẫu. Liên quan đến điều này, khi đánh giá định lượng nguy cơ, đối với các mẫu có hàm lượng NDPHA thấp hơn LLOD, giá trị nồng độ của nó được coi là bằng một nửa giới hạn dưới của định lượng, tức là 0,0001 mg/kg. Cách tiếp cận này phù hợp với các nguyên tắc phương pháp luận đánh giá nguy cơ được chấp nhận trong nghiên cứu hiện tại, áp dụng trong các trường hợp hàm lượng chất dưới ngưỡng phát hiện.

Để đánh giá các tác động không gây ung thư trong giai đoạn xác định mối nguy, đã tiến hành phân tích dữ liệu có sẵn về liều tham chiếu (RfD) của các hóa chất được nghiên cứu. Đồng thời, đối với mỗi chất, các cơ quan, hệ thống và tác động quan trọng được xác định tương ứng với liều tham chiếu đã thiết lập. RfD là giá trị ước tính của mức độ tiếp xúc hàng ngày với một hóa chất trong suốt cuộc đời, mà theo dữ liệu

khoa học hiện tại, có khả năng không gây ra rủi ro không chấp nhận được đối với sức khỏe, bao gồm cả các nhóm người nhạy cảm.

Để đánh giá khả năng gây ung thư của các N-nitrosamine được phát hiện, mức độ nguy cơ của chúng đã tiến hành xác định theo các phân loại của Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC) và Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (US EPA). Kết quả phân loại và các giá trị của yếu tố tiềm ẩn gây ung thư (SFo) được trình bày trong Bảng 2.2.

Bảng 2.2

Phân loại tiềm năng gây ung thư và các yếu tố tiềm năng gây ung thư của N-nitrosamine

TT	Tên chất	Phân loại IARC	Phân loại của US EPA	SFo, mg/(kg × ngày) ⁻¹
1	NDMA	2A	B2	51,0
2	NDEA	2A	B2	150,0
3	NMEA	2B	B2	22,0
4	NDPA	2B	B2	7,0
5	NDBA	2B	B2	5,4
6	NPIP	2B	B2	9,4
7	NPYR	2B	B2	2,1
8	NMOR	2B	-	6,7
9	NDPHA	3	B2	0,0049

Phân tích dữ liệu được trình bày trong bảng 2.2 cho thấy, trong số 9 hợp chất N-nitrosamine được phát hiện trong thịt và các sản phẩm từ thịt, theo phân loại của IARC, 2 hợp chất (NDMA và NDEA) được xếp vào nhóm 2A, tức là có khả năng gây ung thư cho con người. 6 hợp chất N-nitrosamine (NMEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR và NMOR) được xếp vào nhóm 2B, như là các chất có thể gây ung thư cho con người. NDPHA được xếp vào loại 3, là chất không có khả năng gây ung thư cho con người. Theo phân loại của US EPA, 8 hợp chất N-nitrosamine thuộc vào nhóm B2, tương ứng với các chất có khả năng gây ung thư cho con người, và chỉ có N-morpholinnitrosamine là không có dữ liệu

về khả năng gây ung thư. Điều quan trọng cần lưu ý là đối với tất cả các N-nitrosamine được phát hiện, có các yếu tố tiềm năng gây ung thư cần thiết cho việc đánh giá định lượng nguy cơ.

Do đó, giai đoạn xác định các nguy cơ tiềm ẩn liên quan đến hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine trong thịt và các sản phẩm từ thịt được tiêu thụ tại Việt Nam, đã xác định rằng NDMA và NDPHA là ưu tiên hàng đầu cho mục đích đánh giá định lượng nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng. Các hợp chất này đã được chọn do sự hiện diện của chúng trong hơn 5% mẫu, có liều tham chiếu để đánh giá nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư, và dữ liệu về các yếu tố tiềm năng gây ung thư.

Giai đoạn cuối cùng của việc xác định mối nguy là xem xét các đặc điểm độc học và cơ quan đích (cơ quan, tế bào, hệ thống trong cơ thể) của N-nitrosodimethylamine và N-nitrosodiphenylamine, được chọn để đánh giá nguy cơ tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu trên chuột dòng F344, được cho uống NDMA qua nước uống, đã phát hiện mối tương quan rõ rệt giữa liều lượng và sự phát triển của các biến đổi bệnh lý ở gan [Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023]. Sự gia tăng đáng kể các trường hợp u gan của tất cả các kết quả bất lợi đã quan sát thấy, bao gồm cả ung thư biểu mô tế bào gan và u mạch máu, cũng như các nốt tăng sản, tế bào khổng lồ, u nang, giảm số lượng tế bào gan ở con đực và bất thường của các tế bào chứa glycogen ở con cái. Liều tối thiểu mà các đáp ứng được ghi nhận là 0,022 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày. Tác động gây ung thư được ghi nhận ở liều trung bình hàng ngày là 0,05 mg/kg (LOAEL, 96 tuần). Giá trị LD50 cho NDMA là 40 mg/kg trọng lượng cơ thể. Liều tham chiếu khi uống là 0,000008 mg/kg; các cơ quan và hệ thống quan trọng trong các quá trình phát triển. Giá trị NOAEL cho các tác động không gây ung thư là 0,5 mg/kg với thời gian tiếp xúc 54 tuần và 2,5 mg/kg với thời gian 110 ngày.

Các nghiên cứu trên chuột B6C3F1 [Patterson, Boateng, Walker, Verghese, 2012] và chuột F344 [Lijinsky, Reuber, 1984] đã chỉ ra rằng NDPHA khi được đưa vào cơ thể qua đường miệng có thể gây ra tăng

sản bàng quang ở chuột và tăng đột tử ở chuột cái, cũng như ung thư tế bào chuyển tiếp bàng quang ở cả hai giới. Đã quan sát thấy sự phụ thuộc trực tiếp của tần suất các đáp ứng này vào liều lượng. Sự khác biệt đáng kể về tần suất của các khối u trong quần thể chung của chuột khi tiếp nhận NDPHA qua đường miệng không được quan sát thấy. Tuy nhiên, nghiên cứu kéo dài 8 tuần đã phát hiện sự sắc tố hóa của các tế bào Kupffer trong gan của chuột đực, được cho dùng liều 5980 mg/kg/ngày [Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023]. Cơ quan đích cho đánh giá nguy cơ của NDPHA là bàng quang; phơi nhiễm với mức 183 mg/kg/2 tuần và 123 mg/kg/13 tuần gây ra thâm nhiễm tế bào hỗn hợp và tăng sản biểu mô chuyển tiếp. Hiệu ứng gây ung thư (LOAEL) được quan sát thấy ở mức 0,0005 mg/kg/ngày (100 tuần). RfD khi uống vào cơ thể – 0,02 mg/kg; các cơ quan/hệ thống quan trọng – mắt, các tác động hệ thống (thay đổi khối lượng cơ thể). Không có bằng chứng về tác dụng không gây ung thư (NOAEL), LD50 là 3000 mg/kg.

Phân tích các đặc điểm độc học và cơ quan đích của NDMA và NDPHA đã cho thấy rằng cả hai hợp chất đều có tiềm năng độc hại rõ rệt, thể hiện qua các hiệu ứng gây ung thư và không gây ung thư. NDMA chủ yếu gây tác động tiêu cực đến gan, trong khi NDEA là chất độc hại cho bàng quang. Các dữ liệu được trình bày xác nhận sự cần thiết phải đánh giá định lượng thêm về nguy cơ đối với sức khỏe của dân số tiếp xúc với các hợp chất này.

Sau khi hoàn thành giai đoạn đánh giá phơi nhiễm, trong đó đã xác định được mức độ tác động của các N-nitrosamine ưu tiên, cần chuyển sang giai đoạn lựa chọn mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng". Giai đoạn này bao gồm việc thiết lập mối quan hệ định lượng giữa liều lượng chất đi vào cơ thể và khả năng phát triển các tác động bất lợi đối với sức khỏe.

Xác định các thông số chính của mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng"

Tham số quan trọng nhất xác định tác động của chất hóa học lên cơ thể là liều lượng, được tính toán dựa trên thời gian tiêu thụ các sản

phẩm dành cho dinh dưỡng trẻ em và đặc điểm của cơ thể trẻ em. Liều lượng, trong nghiên cứu này, là một lượng chất gây ô nhiễm, có khả năng gây ra một hiệu ứng nhất định đối với cơ quan đích.

Đánh giá sự phụ thuộc "phơi nhiễm - đáp ứng" (liều lượng - đáp ứng) là quá trình phân tích định lượng thông tin độc học nhằm thiết lập mối quan hệ giữa mức độ phơi nhiễm (liều hoặc nồng độ) của một chất hóa học và xác suất xuất hiện các tác động bất lợi trong quần thể bị phơi nhiễm. Phân tích mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng" bao gồm: xác định mối quan hệ nhân quả giữa tác động của chất và sự phát triển của hiệu ứng bất lợi, xác định liều tối thiểu có khả năng gây ra hiệu ứng quan sát được (ngưỡng), và xác định cường độ gia tăng của hiệu ứng khi mức độ phơi nhiễm tăng lên.

Khi đánh giá nguy cơ phát triển các tác động bất lợi do tiếp xúc lâu dài với các chất hóa học, hai loại tác động chính được xem xét: tác động gây ung thư và tác động không gây ung thư.

Đánh giá tác động gây ung thư

Để đánh giá nguy cơ tác động của các tác nhân gây ung thư có cơ chế hoạt động không ngưỡng, người ta sử dụng tham số - yếu tố tiềm năng gây ung thư, còn được biết đến như hệ số độ độc (SF). Tham số này đặc trưng cho mức độ gia tăng nguy cơ gây ung thư khi tăng liều tác động lên một đơn vị ($\text{mg}/(\text{kg} \times \text{ngày})$). Hệ số độ độc là một ước tính về nguy cơ gây ung thư trong suốt thời gian sống dự kiến của con người (70 năm).

Các yếu tố tiềm năng gây ung thư (CPF), được áp dụng trong việc đánh giá tác động của các chất gây ung thư, được trình bày trong Bảng 2.2.

Đánh giá các tác động không gây ung thư

Các thông số nguy cơ đối với sự phát triển các tác động không gây ung thư của các hợp chất N-nitrosamine có trong thịt và các sản phẩm từ thịt được đưa vào đánh giá nguy cơ tiếp theo, mô tả trong Bảng 2.3.

Thông tin về các thông số nguy cơ đối với sự phát triển các hiệu ứng không gây ung thư

TT	Chất	RfD, mg/kg	Các cơ quan và hệ thống quan trọng
1	N-dimetylnitrozamin	0,000008	Quá trình phát triển
2	N-diphenylnitrosoamin	0,02	Mắt (mờ giác mạc), tác động hệ thống (khối lượng cơ thể)

Do đó, đối với tất cả các hợp chất N-nitrosamine được đưa vào đánh giá nguy cơ tiếp theo, các thông số cần thiết để thiết lập mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng" đã được xác định. Các thông số này, phản ánh mối quan hệ giữa mức độ tác động và các hiệu ứng gây ra, là cơ sở để đánh giá định lượng nguy cơ liên quan đến tác động tiềm tàng của các chất này lên cơ thể.

Đánh giá tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt tại Việt Nam

Phơi nhiễm (tác động) được định nghĩa là sự tiếp xúc của cơ thể (thụ thể) với tác nhân hóa học, vật lý hoặc sinh học. Đánh giá định lượng phơi nhiễm là lượng chất tác nhân trong thực phẩm được đo lường hoặc tính toán, tiếp xúc với các cơ quan của con người (chủ yếu là đường tiêu hóa) trong một khoảng thời gian nhất định. Phơi nhiễm có thể được biểu thị bằng các đơn vị đo lường khác nhau: tổng lượng chất trong sản phẩm (mg), liều hàng ngày (mg/ngày) hoặc liều tính theo khối lượng cơ thể (mg/(kg × ngày)). Trong nghiên cứu này, con đường phơi nhiễm chính được xem xét là việc hấp thụ các hợp chất N-nitrosamine qua đường ăn uống từ thịt và các sản phẩm từ thịt, đây là con đường tiếp nhận các chất gây ô nhiễm quan trọng nhất đối với dân cư. Để đánh giá sự phơi nhiễm với các hợp chất N-nitrosamine có trong các sản phẩm thịt, một phân tích toàn diện đã được thực hiện, bao gồm các giai đoạn sau: đầu tiên, đánh giá tiêu thụ thực tế thịt và các sản phẩm thịt của người dân Việt Nam được thực hiện dựa trên kết quả khảo sát trước đó do các đồng nghiệp Việt Nam thực hiện. Cách tiếp cận này đã

cho phép thu thập dữ liệu đại diện về cấu trúc dinh dưỡng và tiêu thụ các sản phẩm mục tiêu trong các nhóm tuổi khác nhau, được chia thành trẻ em dưới 6 tuổi, trẻ em từ 7 đến 17 tuổi, người lớn từ 18 đến 50 tuổi và người lớn trên 50 tuổi. Sự hợp tác này giữa các chuyên gia Liên Bang Nga và Việt Nam đã trở thành một giai đoạn quan trọng trong việc đảm bảo độ tin cậy và tính hợp lệ của dữ liệu. Thứ hai, dựa trên dữ liệu về hàm lượng N-nitrosamine ưu tiên trong các nhóm sản phẩm thịt khác nhau được bán trên thị trường Việt Nam, thu được thông qua việc thực hiện nghiên cứu sàng lọc các sản phẩm thực phẩm thịt về hàm lượng N-nitrosamine, đã được tính toán liều trung bình hàng ngày cho từng nhóm tuổi. Để đánh giá nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư, tính toán được thực hiện riêng biệt, có tính đến sự khác biệt trong cách tiếp cận đánh giá nguy cơ cho các loại tác động này, theo Hướng dẫn R.2.1.10.3968-23. Cách tiếp cận này đã đảm bảo việc sử dụng các phương pháp tính toán thống nhất, được áp dụng trong thực tiễn đánh giá nguy cơ của Nga.

Như đã được đề cập trước đó, trong khuôn khổ nghiên cứu này, mục tiêu chính được tập trung vào con đường hấp thụ các hợp chất N-nitrosamine qua đường miệng thông qua việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt. Để đánh giá chính xác mức độ phơi nhiễm, cần phải xem xét việc tiêu thụ thực tế các sản phẩm này bởi các nhóm dân cư khác nhau. Dựa trên kết quả của các nghiên cứu xã hội học đã tiến hành trước đó [Lebedeva-Nesevrya N.A., Lê Thị Hồng Hảo, Barg A.O. et al., 2019], người ta thấy rằng cả trẻ em và người lớn ở Việt Nam (bao gồm cả trẻ em dưới 3 tuổi) đều tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt, bao gồm cả thịt nướng. Quan sát này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc đưa trẻ em vào quá trình đánh giá phơi nhiễm và đánh giá nguy cơ sâu hơn, vì trẻ em là nhóm đặc biệt dễ bị tổn thương do tiếp xúc với hóa chất. Do đó, để tiếp tục nghiên cứu, NIFC đã tiến hành một cuộc khảo sát tiêu thụ nhằm mục đích mô tả mức tiêu thụ thực tế các nhóm thực phẩm khác nhau của người dân Việt Nam. Dữ liệu thu được về mức tiêu thụ trung bình hàng ngày của thịt và các sản phẩm từ thịt bởi các nhóm tuổi khác nhau được trình bày trong bảng 2.4.

**Khối lượng tiêu thụ thực tế thịt và sản phẩm từ thịt hàng ngày
theo các nhóm tuổi khác nhau của người dân Việt Nam**

TT	Nhóm sản phẩm	Nhóm tuổi	Khối lượng tiêu thụ hàng ngày, kg
1	Thịt nướng vỉ	Trẻ em dưới 6 tuổi	0,037
2		Trẻ em từ 7-17 tuổi	0,059
3		Người lớn từ 18-50 tuổi	0,14
4		Người lớn trên 50 tuổi	0,043
5	Thịt nướng lò và thịt chiên	Trẻ em dưới 6 tuổi	0,032
6		Trẻ em từ 7-17 tuổi	0,048
7		Người lớn từ 18-50 tuổi	0,08
8		Người lớn trên 50 tuổi	0,023
9	Thịt xông khói	Trẻ em dưới 6 tuổi	0,012
10		Trẻ em từ 7-17 tuổi	0,023
11		Người lớn từ 18-50 tuổi	0,051
12		Người lớn trên 50 tuổi	0,014

Theo dữ liệu được trình bày, nhóm dân cư có mức tiêu thụ lớn nhất trong các nhóm được nghiên cứu ở Việt Nam là thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ. Quan sát này nhấn mạnh nhu cầu phải đặc biệt chú ý đến nhóm sản phẩm này khi đánh giá nguy cơ liên quan đến N-nitrosamine. Do tiêu thụ thịt chiên và nướng lò cũng như các sản phẩm từ thịt chiên và thịt nướng lò đã được các chuyên gia NIFC gộp vào một nhóm, việc đánh giá nguy cơ tiếp theo được thực hiện với sự cân nhắc đến khối lượng tiêu thụ hàng ngày giống nhau cho các loại sản phẩm này. Do đó, việc đánh giá tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt, được thực hiện với sự hợp tác của các đồng nghiệp Việt Nam, đã cho phép thu thập dữ liệu đại diện cần thiết cho việc đánh giá tiếp xúc với các hợp chất N-nitrosamine sau này. Những dữ liệu này sẽ được sử dụng để tính toán liều lượng hàng ngày và đánh giá nguy cơ cho các nhóm dân cư khác nhau của Việt Nam.

Tính toán liều lượng trung bình hàng ngày

Để đánh giá mức độ phơi nhiễm với các hợp chất N-nitrosamine, các liều trung bình hàng ngày (ADD) đã được tính toán cho các nhóm tuổi khác nhau của dân cư tại Việt Nam. Việc tính liều lượng được thực hiện theo Hướng dẫn R.2.1.10.3968-23 nhằm đánh giá các tác động gây ung thư và không gây ung thư. Đối với các hợp chất N-nitrosamine, những chất đã được thiết lập liều tham chiếu (RfD), ADD để đánh giá tác động không gây ung thư được tính theo công thức 2.1 sau đây:

$$ADD = (C_{\text{prod}} \times V_{\text{cons}}) / mb, \quad (2.1)$$

ADD – liều trung bình hàng ngày, mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày;

C_{prod} – nồng độ chất trong sản phẩm, mg/kg;

V_{cons} – khối lượng tiêu thụ sản phẩm, kg/ngày;

mb – khối lượng cơ thể, kg.

Kết quả liều trung bình hàng ngày ước tính của các hợp chất N-nitrosamine từ các loại thịt và sản phẩm thịt khác nhau được trình bày trong các bảng 2.5 – 2.8.

Bảng 2.5

Liều trung bình hàng ngày của các hợp chất N-nitrosamine từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ, mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày

TT	Tên chất	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	$8,27 \times 10^{-6}$	$7,03 \times 10^{-6}$	$1,39 \times 10^{-5}$	$4,00 \times 10^{-6}$
2	NDPHA	$7,29 \times 10^{-7}$	$6,20 \times 10^{-7}$	$1,23 \times 10^{-6}$	$3,52 \times 10^{-7}$

Bảng 2.6

Liều lượng trung bình hàng ngày của N-nitrosamine từ thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên, mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày

TT	Tên chất	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	$3,15 \times 10^{-6}$	$2,52 \times 10^{-6}$	$3,51 \times 10^{-6}$	$9,43 \times 10^{-7}$

Bảng 2.7

Liều lượng trung bình hàng ngày của N-nitrosamine từ thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò, mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày

TT	Tên chất	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	$5,81 \times 10^{-6}$	$4,94 \times 10^{-6}$	$9,79 \times 10^{-6}$	$2,81 \times 10^{-6}$

Bảng 2.8

Liều trung bình hàng ngày của N-nitrosamine từ thịt xông khói và các sản phẩm thịt xông khói, mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày

TT	Tên chất	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	$2,11 \times 10^{-6}$	$2,15 \times 10^{-6}$	$3,99 \times 10^{-6}$	$1,02 \times 10^{-6}$

Do đó, liều trung bình NDMA vào cơ thể hằng ngày của người dân Việt Nam là:

- Đối với trẻ em dưới 6 tuổi: $8,27 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ; $3,15 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên; $5,81 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò; $2,11 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói;

- Đối với trẻ em từ 7-17 tuổi: $7,03 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ; $2,52 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên; $4,94 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò; $2,15 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói;

- Đối với người lớn từ 18-50 tuổi: $1,39 \times 10^{-5}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ; $3,51 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên;

phẩm từ thịt chiên; $9,79 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò; $3,99 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói;

Đối với người lớn trên 50 tuổi: $4,00 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ; $9,43 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên; $2,81 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò; $1,02 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày với thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói.

Đồng thời, liều trung bình hàng ngày khi tiếp xúc với NDPHA từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ: đối với trẻ em dưới 6 tuổi – $7,29 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi – $6,20 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi – $1,23 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi – $3,52 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Để đánh giá các nguy cơ gây ung thư liên quan đến tác động của các hợp chất N-nitrosamine, các liều trung bình hàng ngày đã được tính toán, dựa trên tuổi thọ trung bình dự kiến của con người (70 năm). Những liều lượng như vậy được gọi là LADD. Phương trình để tính LADD (công thức 2.2) có dạng như sau:

$$\text{LADD}_{\text{carc}} = (C \times \text{CR} \times \text{ED} \times \text{EF}) / (\text{BW} \times \text{AT} \times 365), \quad (2.2)$$

Trong đó:

$\text{LADD}_{\text{carc}}$ – liều trung bình hàng ngày cho các tác động gây ung thư, mg/(kg × ngày);

C – nồng độ chất gây ung thư trong sản phẩm, mg/kg;

CR – khối lượng tiêu thụ thực phẩm hàng ngày, kg/ngày;

ED – thời gian tác động, năm;

EF – tần suất tác động, ngày/năm;

BW – khối lượng cơ thể, kg;

AT – thời gian trung bình phơi nhiễm (đối với các tác động gây ung thư – 70 năm);

365 – số ngày trong năm.

Để tính toán LADD, các giá trị tiêu chuẩn đã được sử dụng: ED – 6 năm cho trẻ em, 30 năm cho người lớn; EF – 350 ngày; AT – 70 năm.

Xem xét các thông số đã nêu ở trên, cũng như dữ liệu về tiêu thụ các sản phẩm được nghiên cứu và các giá trị liều hàng ngày thu được, liều N-nitrosodimethylamine đã được tính toán, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư khi tiếp xúc thông qua tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt được bán tại Việt Nam.

Như vậy, các giá trị liều NDMA, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư, cho các nhóm tuổi khác nhau của dân cư tại Việt Nam. Các giá trị nhận được được trình bày dưới đây.

- Đối với trẻ em dưới 6 tuổi, liều $LADD_{carc}$ là: $6,80 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng vỉ); $2,59 \times 10^{-7}$ mg/kg thể trọng/ngày (thịt chiên); $4,78 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng lò); $1,73 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt xông khói);

- Đối với trẻ em từ 7-17 tuổi, $LADD_{carc}$ đã xác định: $5,78 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng vỉ); $2,07 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt chiên); $4,06 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng lò); $1,77 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt xông khói);

- Đối với người lớn từ 18-50 tuổi, $LADD_{carc}$ là: $5,73 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng vỉ); $1,44 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt chiên); $4,02 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng lò); $1,64 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt xông khói);

- Đối với người lớn trên 50 tuổi, $LADD_{carc}$ là: $1,64 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng vỉ); $3,88 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt chiên); $1,15 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt nướng lò); $4,20 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (thịt xông khói).

Các giá trị liều lượng NDPHA tính toán được, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư, từ thịt và các sản phẩm thịt được chế biến trên vỉ nướng, được trình bày dưới đây.

- Đối với trẻ em dưới 6 tuổi, $LADD_{\text{carc}}$ là $5,99 \times 10^{-8}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày;
- Đối với trẻ em từ 7-17 tuổi, $LADD_{\text{carc}}$ là $5,09 \times 10^{-8}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày;
- Đối với người lớn từ 18-50 tuổi, $LADD_{\text{carc}}$ là $5,05 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày;
- Đối với người lớn trên 50 tuổi, $LADD_{\text{carc}}$ là $1,45 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Kết quả của đánh giá phơi nhiễm, bao gồm tính toán ADD cho các tác động không gây ung thư và LADD cho các tác động gây ung thư, đã thu được các đặc điểm định lượng về tác động của N-nitrosodimethylamine và N-nitrosodiphenylamine lên các nhóm tuổi khác nhau của dân cư tại Việt Nam.

Kết quả của việc đánh giá phơi nhiễm đã thu được các đặc điểm định lượng về tác động của N-nitrosodimethylamine và N-nitrosodiphenylamine lên các nhóm tuổi khác nhau của dân cư tại Việt Nam.

Các giá trị ADD và LADD được trình bày, đặc trưng cho sự phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine và N-nitrosodiphenylamine, sẽ được sử dụng để tiến hành đánh giá định lượng nguy cơ, được trình bày ở giai đoạn "Mô tả nguy cơ".

Mô tả nguy cơ

Mô tả nguy cơ bao gồm đánh giá nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư dựa trên liều lượng được xác định trong giai đoạn đánh giá phơi nhiễm. Đánh giá nguy cơ không gây ung thư được thực hiện bằng cách sử dụng các hệ số nguy cơ. Phương pháp luận của EAEU về đánh giá nguy cơ dự kiến sử dụng các mô hình tiến hóa [Eurasian Economic Commission, 2017], tuy nhiên do thiếu các thông số cần thiết để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư, việc xây dựng các mô hình như vậy trong nghiên cứu hiện tại là không hợp lý. Đánh giá bán định lượng nguy cơ không gây ung thư sẽ cho phép xác định các N-nitrosamine ưu tiên để thiết lập các thông số cho đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư trong tương lai.

Độ lớn của nguy cơ ung thư (CR) được tính bằng cách nhân liều trung bình hàng ngày suốt đời với hệ số tiềm năng gây ung thư khi hấp thụ qua đường miệng và với hệ số mức độ nghiêm trọng của khối u ác tính (g) theo công thức (2.3):

$$CR = LADD_{\text{carc}} \times SF_o \times g \quad (2.3)$$

Trong đó:

$LADD_{\text{carc}}$ – liều trung bình hàng ngày suốt đời cho các tác động gây ung thư;

SF_o – yếu tố tiềm năng gây ung thư khi hấp thụ qua đường miệng;

g – hệ số mức độ nghiêm trọng của khối u ác tính (ung thư).

Giá trị hệ số mức độ nghiêm trọng của khối u ác tính (g) được chấp nhận là 0,495, tương ứng với hệ số mức độ nghiêm trọng cho các khối u ác tính của các cơ quan tiêu hóa.

Do đó, giá trị CR thu được biểu thị giới hạn trên của nguy cơ gây ung thư trong suốt tuổi thọ trung bình.

Đồng thời, đặc điểm của nguy cơ phát triển các hiệu ứng không gây ung thư được thực hiện bằng cách so sánh các mức độ phơi nhiễm thực tế với các mức độ phơi nhiễm an toàn (hệ số/chỉ số nguy cơ).

Để đánh giá nguy cơ của các hiệu ứng không gây ung thư trong nghiên cứu này, chỉ số hệ số nguy cơ HQ (công thức 2.4) được áp dụng, được xác định là tỷ lệ giữa mức phơi nhiễm xác định ($LADD_{\text{non-carc}}$) và mức tham chiếu (RfD):

$$HQ = (LADD_{\text{non-carc}}) / RfD \quad (2.4)$$

Đối với điều kiện tác động một chiều, đặc điểm của nguy cơ không gây ung thư tổng thể là chỉ số nguy cơ (HI) (công thức 2.5):

$$HI = \sum [HQ_i], \text{ trong đó} \quad (2.5)$$

HQ_i – hệ số nguy cơ cho các chất hóa học.

Theo các khuyến nghị quốc tế, đối với các chất hóa học không gây ung thư, tác động một chiều của các chất hóa học được hiểu là ảnh hưởng của các chất lên cùng một cơ quan hoặc cùng hệ thống.

Trong quá trình Mô tả nguy cơ, người ta sử dụng khái niệm nguy cơ chấp nhận được (cho phép) - xác suất xảy ra tác động với hậu quả không đáng kể đối với sức khỏe ($HQ \leq 1,0$; $HI \leq 1,0$).

Đánh giá nguy cơ được thực hiện cho các nhóm sản phẩm thịt riêng lẻ, được phân loại theo phương pháp chế biến (nướng vỉ, nướng lò, chiên, xông khói), có tính đến mức tiêu thụ hàng ngày các sản phẩm trên, cũng như liều lượng trung bình của các hợp chất N-nitrosoamine có trong từng nhóm thực phẩm.

Kết quả tính toán nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do NDMA và NDPHA có trong thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ được trình bày trong các bảng 2.9-2.10.

Bảng 2.9

Mức độ nguy cơ ung thư do phơi nhiễm với NDMA và NDPHA khi người dân Việt Nam tiêu thụ thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ

TT	Chất	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	$1,72 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-5}$	$1,45 \times 10^{-4}$	$4,15 \times 10^{-5}$
2	NDPHA	$1,45 \times 10^{-10}$	$1,24 \times 10^{-10}$	$1,22 \times 10^{-9}$	$3,51 \times 10^{-10}$
3	Tổng nguy cơ gây ung thư	$1,72 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-5}$	$1,45 \times 10^{-4}$	$4,15 \times 10^{-5}$

Lưu ý: mức độ nguy cơ gây ung thư cao hơn mức chấp nhận được được in đậm.

Trong bảng 2.9 trình bày kết quả đánh giá nguy cơ gây ung thư do tiếp xúc với NDMA và NDPHA khi người dân Việt Nam tiêu thụ thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt được nướng vỉ. Phân tích dữ liệu đã phát hiện rằng tổng nguy cơ gây ung thư liên quan đến tác động của NDMA và NDPHA cho thấy sự biến đổi đáng kể tùy thuộc vào nhóm tuổi.

Đồng thời, Nghiên cứu đã xác định đối với nhóm người trưởng thành trong độ tuổi từ 18 đến 50, nguy cơ gây ung thư đạt đến mức không chấp nhận được ($1,45 \times 10^{-4}$). Giá trị này vượt quá ngưỡng nguy cơ được thiết lập là $1,0 \times 10^{-4}$. Ngược lại, ở các nhóm tuổi khác, bao gồm trẻ em dưới 6 tuổi, trẻ em từ 7-17 tuổi và người lớn trên 50 tuổi, mức nguy cơ gây ung thư quan sát được vẫn nằm trong giới hạn chấp

nhận được. Phân tích định lượng mức đóng góp của từng hợp chất vào tổng nguy cơ gây ung thư cho thấy NDMA là tác nhân chính quyết định mức nguy cơ, trong khi ảnh hưởng của NDPHA là không đáng kể ở tất cả các nhóm tuổi. Điều này nhấn mạnh sự cần thiết của việc tăng cường kiểm soát hàm lượng NDMA trong thịt và các sản phẩm từ thịt chế biến bằng phương pháp nướng vỉ.

Bảng 2.10

Mức độ nguy cơ không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA và NDPHA thông qua tiêu thụ thịt nướng vỉ và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ tại Việt Nam

TT	Chất	Các cơ quan và hệ thống quan trọng	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	NDMA	Quá trình phát triển	1,03	0,88	1,74	0,50
2	NDPHA	Mắt (mờ giác mạc), tác động hệ thống (khối lượng cơ thể)	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01

Lưu ý: hệ số nguy cơ vượt quá mức chấp nhận được (cho phép) được in đậm.

Bảng 2.10 trình bày kết quả đánh giá nguy cơ không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA và NDPHA thông qua việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ tại Việt Nam. Phân tích dữ liệu cho thấy rằng hệ số nguy cơ đối với NDMA vượt quá một đơn vị đối với trẻ em dưới 6 tuổi (1,03) và người trưởng thành trong độ tuổi từ 18-50 tuổi (1,74), điều này cho thấy nguy cơ tiềm ẩn đối với các cơ quan và chức năng sinh lý quan trọng, đặc biệt là các quá trình phát triển. Đối với trẻ em từ 7-17 tuổi và người lớn trên 50 tuổi, Hệ số nguy cơ lần lượt là 0,88 và 0,50, nằm trong giới hạn chấp nhận được .

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe của người dân do phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine (NDMA) và N-nitrosodiphenylamine (NDPHA) thông qua việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt chế biến bằng phương pháp nướng vỉ: Các kết quả chính thu được như sau:

Tổng nguy cơ ung thư cá thể do phơi nhiễm với NDMA và NDPHA ở nhóm người trưởng thành từ 18–50 tuổi được xác định ở mức đáng quan ngại, vượt ngưỡng nguy cơ chấp nhận được.

Trong quá trình đánh giá nguy cơ không gây ung thư, Hệ số nguy cơ đã được xác định đối với trẻ em dưới 6 tuổi (HQ=1,03) và người trưởng thành trong độ tuổi từ 18-50 tuổi (HQ=1,74).

Đối với nguy cơ không gây ung thư phát sinh từ việc tiêu thụ N-nitrosophenylamine (NDPHA) có trong thịt và các sản phẩm thịt chế biến bằng phương pháp nướng vỉ, Hệ số nguy cơ (HQ) được xác định là ở mức chấp nhận được đối với tất cả các nhóm đối tượng nghiên cứu ($HQ < 0,01$).

Do các cơ quan đích và hệ thống sinh lý chịu ảnh hưởng của NDMA và NDPHA được quy định khác nhau theo các hướng dẫn chuyên ngành, việc tích hợp chỉ số nguy cơ tổng hợp không được thực hiện trong đánh giá này.

Sau khi hoàn tất phân tích nguy cơ liên quan đến việc tiêu thụ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ, việc chuyển hướng sang đánh giá nguy cơ từ hấp thụ các hợp chất N-nitrosamine từ các sản phẩm này là hợp lý. Do chỉ có N-nitrosodimethylamin được xác định trong nhóm sản phẩm này, nên quá trình đánh giá nguy cơ chỉ được thực hiện ở hợp chất NDMA. Kết quả đánh giá định lượng nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA từ thịt nướng lò và các sản phẩm thịt nướng lò được trình bày trong bảng 2.11.

Bảng 2.11

Mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA khi tiêu thụ thịt nướng lò và các sản phẩm thịt của người dân Việt Nam

TT	Tính chất nguy cơ	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	Chất gây ung thư (CR)	$1,21 \times 10^{-5}$	$1,03 \times 10^{-5}$	$1,02 \times 10^{-4}$	$2,91 \times 10^{-5}$
2	Không gây ung thư (HQ)	0,73	0,62	1,22	0,35

Lưu ý: mức độ nguy cơ cao hơn mức chấp nhận được được in đậm. ý nghĩa

Phân tích kết quả đánh giá nguy cơ liên quan đến việc tiêu thụ thịt nướng lò và các sản phẩm thịt nướng lò chứa N-nitrosamine ưu tiên cho đánh giá nguy cơ, được trình bày trong bảng 2.11, cho phép xác định rằng nguy cơ ung thư cá thể do phơi nhiễm NDMA đối với dân số trong độ tuổi 18-50 tương ứng với mức độ đáng lo ngại ($CR = 1,02 \times 10^{-4}$). Đánh giá nguy cơ không gây ung thư đã phát hiện mức độ nguy cơ không chấp nhận được cũng trong nhóm dân số từ 18-50 tuổi ($HQ = 1,22$), điều này cho thấy các tác động tiêu cực tiềm tàng lên các hệ thống quan trọng của cơ thể do tiếp xúc với nitrosamine.

Do đó, đánh giá nguy cơ liên quan đến việc tiêu thụ thịt nướng và các sản phẩm thịt chứa N-nitrosamine đã bị giới hạn trong phân tích NDMA do thiếu các N-nitrosamine quan trọng khác. Kết quả cho thấy NDMA là yếu tố chính quyết định cả nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư cho người trưởng thành trong độ tuổi từ 18 đến 50.

Sau khi phân tích nguy cơ liên quan đến thịt nướng lò và các sản phẩm từ thịt nướng lò, chúng ta sẽ chuyển sang phân tích nguy cơ do sự xuất hiện của các hợp chất N-nitrosamine trong thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên. Kết quả tính toán nguy cơ ung thư và không ung thư trên cá thể do tiêu thụ thịt chiên và các sản phẩm thịt chiên được trình bày trong bảng 2.12. Tương tự như các sản phẩm thịt nướng lò, trong các mẫu thịt chiên và các sản phẩm thịt đã được nghiên cứu cũng không phát hiện sự hiện diện của NDPHA.

Bảng 2.12

Mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA khi tiêu thụ thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên của người dân Việt Nam

TT	Tính chất nguy cơ (giá trị tính toán)	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	Chất gây ung thư (CR)	$6,55 \times 10^{-6}$	$5,24 \times 10^{-6}$	$3,64 \times 10^{-5}$	$9,78 \times 10^{-5}$
2	Không gây ung thư (HQ)	0,39	0,32	0,44	0,12

Phân tích dữ liệu có trong bảng cho thấy rằng các mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do tiếp xúc với NDMA không vượt quá các giá trị chấp nhận được đối với tất cả các nhóm tuổi được nghiên cứu.

Sau khi phân tích nguy cơ liên quan đến thịt chiên và các sản phẩm từ thịt, chúng ta sẽ chuyển sang phân tích nguy cơ do sự hiện diện của các hợp chất N-nitrosamine trong thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói. Kết quả tính toán nguy cơ ung thư và không ung thư cá thể do tiêu thụ thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói được trình bày trong bảng 2.13. Tương tự như các sản phẩm thịt nướng lò và chiên, trong các mẫu thịt xông khói và các sản phẩm thịt đã được nghiên cứu cũng không phát hiện sự hiện diện của NDPHA.

Bảng 2.13

Mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do phơi nhiễm với NDMA khi tiêu thụ thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt xông khói của người dân Việt Nam

Số	Tính chất nguy cơ (giá trị tính toán)	Trẻ em dưới 6 tuổi	Trẻ em từ 7-17 tuổi	Người lớn từ 18-50 tuổi	Người lớn trên 50 tuổi
1	Chất gây ung thư (CR)	$4,37 \times 10^{-6}$	$4,47 \times 10^{-6}$	$4,14 \times 10^{-5}$	$1,06 \times 10^{-5}$
2	Không gây ung thư (HQ)	0,26	0,27	0,50	0,13

Phân tích dữ liệu có trong bảng cho thấy rằng các mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do tiếp xúc với NDMA không vượt quá các giá trị chấp nhận được đối với tất cả các nhóm tuổi được nghiên cứu.

Phân tích toàn diện về nguy cơ liên quan đến việc tiêu thụ các sản phẩm thịt chứa N-nitrosamine đã cho phép xác định một số quy luật quan trọng. Đánh giá nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư đối với các loại sản phẩm thịt khác nhau, bao gồm thịt nướng vỉ, thịt nướng lò, thịt chiên và thịt xông khói, đã phát hiện ra sự khác biệt đáng kể về mức độ nguy cơ tùy thuộc vào loại chế biến sản phẩm và nhóm tuổi của dân số.

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư đáng kể nhất hình thành khi tiêu thụ thịt nướng vỉ và thịt nướng lò, đặc biệt là đối với dân cư trưởng thành của Việt Nam trong độ tuổi từ 18-50. Các loại sản phẩm này đã trở thành nguồn chính gây phơi nhiễm N-nitrosodimethylamine (NDMA), dẫn đến hình thành mức độ nguy cơ không chấp nhận được. Đồng thời, phân tích nguy cơ liên quan đến việc tiêu thụ thịt xông khói và các sản phẩm từ thịt cho thấy rằng mức độ nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư do tiếp xúc với NDMA không đạt đến giá trị không chấp nhận được đối với bất kỳ nhóm tuổi nào được nghiên cứu.

Đánh giá sự không chắc chắn

Ở giai đoạn xác định mối nguy, đã phát hiện ra những điểm không chắc chắn liên quan đến:

1. Sự khác biệt trong phân loại chất gây ung thư: có sự khác biệt trong phân loại tính gây ung thư của các hợp chất N-nitrosamine được sử dụng bởi các tổ chức quốc tế khác nhau, như IARC và US EPA.

2. Sự khác biệt trong các hướng đi và kết quả của các nghiên cứu khoa học: phần lớn các nghiên cứu được trình bày trong tài liệu khoa học tập trung vào việc nghiên cứu tác động gây ung thư của các hợp chất N-nitrosamine. Các nghiên cứu về tác động không gây ung thư của các hợp chất này được trình bày với số lượng ít hơn đáng kể. Điều này có thể dẫn đến sự hiểu biết không đầy đủ về các tác động mang tính tiêu cực tiềm ẩn đối với sức khỏe con người.

Ở giai đoạn lựa chọn sự phụ thuộc "**liều lượng - đáp ứng**", đã xác định được những sự không chắc chắn sau đây do hạn chế về đánh giá tác động không gây ung thư: đánh giá chi tiết về tác động có hại không gây ung thư chỉ có sẵn cho một số lượng hạn chế các chất. Điều này tạo ra sự không chắc chắn trong việc đánh giá nguy cơ không gây ung thư cho tất cả các N-nitrosamine.

Trong giai đoạn đánh giá phơi nhiễm, những điểm không chắc chắn sau đây đã được xác định, liên quan đến:

1. Số lượng mẫu hạn chế: Đánh giá hàm lượng các hợp chất N-nitrosamine trong các sản phẩm thịt được thực hiện dựa trên phân tích số lượng mẫu hạn chế, điều này có thể dẫn đến việc không đầy đủ trong việc thể hiện sự phân bố của các chất này trong các sản phẩm được nghiên cứu và sự không chính xác trong đánh giá phơi nhiễm.

2. Hạn chế thông tin về tiêu thụ: đánh giá tiêu thụ thực phẩm chỉ tiến hành trên nhóm nhỏ dân cư, điều này có thể gây ra sự không chắc chắn trong việc xác định mức độ phơi nhiễm thực tế của các hợp chất N-nitrosamine đối với các nhóm dân cư khác nhau.

Kết quả của phân tích các yếu tố không chắc chắn cho thấy rằng mức độ không chắc chắn tổng thể trong đánh giá nguy cơ của nghiên cứu tại thời điểm hiện tại là cao; Do đó cần tiến hành các nghiên cứu bổ sung nhằm làm rõ dữ liệu và giảm bớt sự không chắc chắn, để phát triển các biện pháp hiệu quả trong quản lý rủi ro và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Kết quả nghiên cứu đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe dân cư khi tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt tại Việt Nam

Kết quả nghiên cứu đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe dân cư khi tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt lưu thông trên thị trường Việt Nam cho thấy:

1. Tại giai đoạn xác định mối nguy, đã xác định trong số chín N-nitrosamine được phát hiện trong thịt và các sản phẩm từ thịt, N-nitrosodimethylamin và N-nitrosodiphenylamin được đưa vào đánh giá nguy cơ tiếp theo, vì chúng đáp ứng các tiêu chí bao gồm có mặt ở nồng độ cao hơn ngưỡng xác định trong hơn 5% mẫu sản phẩm; có các thông số để đánh giá nguy cơ gây ung thư; có các thông số để đánh giá nguy cơ không gây ung thư.

2. Giai đoạn lựa chọn sự phụ thuộc "phơi nhiễm - đáp ứng", đã xác định rằng để đánh giá nguy cơ gây ung thư, nên sử dụng các giá trị sau của các yếu tố tiềm năng gây ung thư: N-dimethylnitrosamine là - $51 \text{ (mg/(kg} \times \text{ngày))}^{-1}$, N-diphenylnitrosamine là - $0,0049 \text{ (mg/(kg} \times \text{ngày))}^{-1}$. Là tiêu chí đánh giá nguy cơ không gây ung thư, các liều

tham chiếu đã được sử dụng: đối với N-nitrosodimethylamine là - 0,000008 mg/kg trọng lượng cơ thể (các cơ quan và hệ thống quan trọng – các quá trình phát triển); N-nitrosodiphenylamine là - 0,02 mg/kg trọng lượng cơ thể (các cơ quan và hệ thống quan trọng - mắt (mờ giác mạc), tác động hệ thống (thay đổi trọng lượng cơ thể)).

3. Tại giai đoạn đánh giá phơi nhiễm, các liều trung bình hàng ngày của các hợp chất N-nitrosamine được thiết lập để đánh giá nguy cơ gây ung thư và không gây ung thư.

Liều trung bình hàng ngày khi phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine từ thịt và các sản phẩm thịt nướng vỉ của dân cư Việt Nam là từ $4,00 \times 10^{-6}$ đến $1,39 \times 10^{-5}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày khi phơi nhiễm với N-nitrosodiphenylamine từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ là từ $3,52 \times 10^{-7}$ đến $1,23 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày của N-nitrosodimethylamine, đặc trưng cho nguy cơ gây ung thư ($LADD_{\text{carc}}$), hấp thụ từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ: đối với trẻ em dưới 6 tuổi là $6,80 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi là $5,78 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi là $5,73 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi là $1,64 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều lượng N-nitrosodiphenylamine, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư, đối với thịt và các sản phẩm từ thịt nướng vỉ: đối với trẻ em dưới 6 tuổi là - $5,99 \times 10^{-8}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi là - $5,09 \times 10^{-8}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi là - $5,05 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi là - $1,45 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày khi phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine từ thịt chiên và các sản phẩm thịt chiên, đối với dân cư tại Việt Nam là từ $9,43 \times 10^{-7}$ đến $3,51 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày của N-nitrosodimethylamine, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư ($LADD_{\text{carc}}$), hấp thụ từ thịt chiên và các sản phẩm từ thịt chiên: đối với trẻ em dưới 6 tuổi là $2,59 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi là $5,78 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi là $1,44 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi là $3,88 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày khi phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine từ thịt nướng lò và các sản phẩm thịt nướng lò của dân cư Việt Nam là từ $2,81 \times 10^{-6}$ đến $9,79 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày của N-nitrosodimethylamine, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư ($LADD_{\text{carc}}$), từ thịt nướng lò và các sản phẩm thịt nướng lò: đối với trẻ em dưới 6 tuổi là $4,78 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi là $4,06 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi là $4,02 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi là $1,15 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày khi phơi nhiễm với N-nitrosodimethylamine từ thịt xông khói và các sản phẩm thịt xông khói đối với người dân Việt Nam là từ $1,02 \times 10^{-6}$ đến $3,99 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Liều trung bình hàng ngày của N-nitrosodimethylamine, đặc trưng cho hiệu ứng gây ung thư ($LADD_{\text{carc}}$), được hấp thụ từ thịt xông khói và các sản phẩm thịt xông khói: đối với trẻ em dưới 6 tuổi là - $1,73 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với trẻ em từ 7-17 tuổi là - $1,77 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn từ 18-50 tuổi là - $1,64 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày; đối với người lớn trên 50 tuổi là - $4,20 \times 10^{-7}$ mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

4. Giai đoạn Mô tả nguy cơ, đã xác định được sự hình thành mức độ nguy cơ gây ung thư đáng lo ngại trong dân số trưởng thành từ 18-50 tuổi, do tiếp xúc với NDMA từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt nướng vỉ (CR lên đến $1,45 \times 10^{-4}$) và thịt nướng lò và các sản phẩm thịt nướng lò (CR lên đến $1,02 \times 10^{-4}$).

Đồng thời, trong số dân cư thuộc nhóm tuổi này, đã xác định được sự hình thành mức độ nguy cơ không gây ung thư không chấp nhận được, do sự hấp thụ NDMA từ thịt và các sản phẩm từ thịt được nướng vỉ (HQ lên đến 1,74) và thịt và các sản phẩm từ thịt được nướng lò (HQ lên đến 1,22).

Trong số trẻ em dưới 6 tuổi, đã ghi nhận sự hình thành mức độ nguy cơ không gây ung thư không chấp nhận được, do tiếp xúc với NDMA từ thịt nướng vỉ và các sản phẩm thịt được nướng vỉ (HQ lên đến 1,03).

Kết quả đánh giá nguy cơ đã thực hiện cho thấy sự cần thiết phải phát triển các thông số phụ thuộc "phơi nhiễm - đáp ứng" để đánh giá định lượng tiếp theo về nguy cơ không gây ung thư, được hình thành bởi sự phơi nhiễm N-nitrosodimethylamine, điều này xác định nhiệm vụ ưu tiên trong việc thiết lập các điểm khởi đầu có cơ sở khoa học. Do đó cần lưu ý rằng, mặc dù đã áp dụng liều tham chiếu NDMA trong nghiên cứu này theo Hướng dẫn R.2.1.10.3968-23, dựa trên các quá trình phát triển, dữ liệu khoa học hiện có chỉ ra một phổ rộng hơn của các tác động độc hại do các hợp chất N-nitrosamine gây ra, bao gồm cả NDMA [Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023; Sheweita, Mostafa, 1996].

Đặc biệt, trong tài liệu khoa học có các ấn phẩm cho thấy rằng các hợp chất N-nitrosamine, bao gồm NDMA, có thể gây tác động tiêu cực không chỉ đến quá trình phát triển mà còn đến chức năng gan [Shur, Suvorov, Zemlyanova, Zelenkin, 2020; Suvorov, Shur, Zelenkin, 2024; Gao et al., 2017; Wong, Murphy, Wang, Hecht, 2003]. Một số nghiên cứu cho thấy tác động gây độc gan của các hợp chất N-nitrosamine. Do đó, cần lưu ý rằng các giá trị liều lượng hàng ngày cho phép (ADD) đối với nitrosamine, được thiết lập dựa trên BMDL (giá trị của liều tiêu chuẩn) trong các nghiên cứu này, nghiêm ngặt hơn so với liều tham chiếu (RfD) cho NDMA liên quan đến các quá trình phát triển, được sử dụng trong nghiên cứu hiện tại. Tuy nhiên, các mức BMDL được thiết lập cho các hợp chất N-nitrosamine trong dữ liệu nghiên cứu, do đặc thù của thiết kế thí nghiệm của chúng, không thể được sử dụng như một

tiêu chí phổ quát khi đánh giá nguy cơ không gây ung thư liên quan đến việc tiêu thụ thực phẩm chứa các hợp chất nitrosamine.

Do đó, phát sinh nhu cầu tiến hành thí nghiệm độc học chuyên biệt trên động vật thí nghiệm. Một thí nghiệm như vậy, được thực hiện theo các tiêu chuẩn quốc tế và sử dụng các phương pháp đã được xác thực, sẽ cho phép thu được dữ liệu chính xác hơn về các thông số phụ thuộc "liều lượng – đáp ứng" đối với tác động gây độc gan của các hợp chất N-nitrosoamine. Dữ liệu thu được từ thí nghiệm như vậy sẽ cho phép làm rõ các tham số để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư do tiếp xúc với nitrosamine, và thiết lập các điểm khởi đầu có cơ sở khoa học, áp dụng cho các loại thực phẩm và các nhóm dân số khác nhau.

Do đó, có nhu cầu làm rõ các thông số đánh giá nguy cơ liên quan đến gan. Điều này đòi hỏi phải tiến hành các nghiên cứu bổ sung nhằm xác định các dấu ấn sinh học về phơi nhiễm và đáp ứng còn được gọi là dấu ấn sinh học về phản ứng sinh học [Zemlyanova, Dolgikh, 2010], cho phép mô tả và đánh giá định lượng chính xác hơn về hiệu ứng gây độc gan của NDMA và các N-nitrosamine khác.

CHƯƠNG 3. THIẾT LẬP CÁC THÔNG SỐ PHỤ THUỘC "PHƠI NHIỄM-ĐÁP ỨNG" ĐỂ ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ DỰA TRÊN THÍ NGHIỆM ĐỘC HỌC SỬ DỤNG CÁC DẤU ẤN SINH HỌC VỀ PHƠI NHIỄM VÀ ĐÁP ỨNG

Làm rõ các thông số của mối quan hệ "phơi nhiễm - đáp ứng" để đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng liên quan đến tác động của các hợp chất N-nitrosamine đã được thực hiện trong khuôn khổ công trình nghiên cứu chung giữa FBSI của Rospotrebnadzor, thành phố Perm, Liên bang Nga và NIFC, thành phố Hà Nội, Việt Nam.

Như đã được xác định ở giai đoạn trước, đánh giá nguy cơ bán định lượng đối với sức khỏe dân cư của Việt Nam, hình thành từ việc tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt có chứa N-nitrosamine, đã phát hiện ra mức độ đáng lo ngại của rủi ro không gây ung thư đối với người lớn khi N-nitrosodimethylamine được hấp thụ do ăn thịt, các sản phẩm từ thịt nướng và hun khói. Các sản phẩm thực phẩm này đã được xác định là nguồn chính chứa các hợp chất N-nitrosamine [Özbay, Şireli, 2021; EFSA CONTAM Panel, Schrenk, Bignami et al., 2023; Park, Seo, Lee, Kwon, 2015; Lee, 2024].

Cần lưu ý rằng, mặc dù kết quả thu được rất quan trọng, các nguyên tắc quốc tế về phân tích nguy cơ sức khỏe theo Ủy ban Codex không bao gồm việc thực hiện đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư.

Đồng thời, một số nghiên cứu được dành để đánh giá tác động gây ung thư của các hợp chất N-nitrosamine, trước hết là NDMA, thường được xem là không có ngưỡng, có bản chất gây độc gen [U.S. Department of Health and Human Services, 2021; U.S. Environmental Protection Agency, 1987; Hidajat et al., 2019; Boniol, Koechlin, Boyle, 2017]. Tuy nhiên, tổng quan kết quả nghiên cứu về các thí nghiệm độc học trên động vật (chuột) đã phát hiện ra rằng các hợp chất N-nitrosamine, đặc biệt là NDMA, có thể gây ra các hiệu ứng mà tác động của chúng được đặc trưng bởi các mức ngưỡng. Quan sát này dựa nhiều hơn vào việc nghiên cứu sâu về cơ chế của những tác động này.

Trong bài đánh giá về sự phát triển của các tác động độc hại khi các hợp chất N-nitrosamine xâm nhập qua đường ăn uống, Liteplo và Meek đã lưu ý rằng các tác động độc học của NDMA phát triển thông qua cơ chế alkyl hóa các đại phân tử sinh học (ví dụ, DNA, RNA, protein) bởi ion methyldiazonium, được hình thành trong quá trình chuyển hóa [Liteplo và Meek, 2001]. Ngoài ra, khi NDMA được hấp thụ qua đường uống, nó có tác động đến các cơ quan và hệ thống khác nhau, bao gồm gan (sự tạo không bào của tế bào gan, bệnh tĩnh mạch cửa và hoại tử/chảy máu), thận (ví dụ, giãn cầu thận và dày nhẹ vỏ Bowman's), lá lách (ứ máu trong lá lách), và cũng có thể gây chảy máu đường tiêu hóa [Barnes và Magee, 1954; Khanna và Puri, 1966; Reuber và Lee, 1968; Maduagwu và Bassir, 1980; Roszczenko, Jablonski và Moniuszko-Jakoniuk, 1996; Chooi, Rajendran, Phang, và Toh, 2016; Lathouri, Korre, Dusinska, và Durucan, 2022]. Hàm lượng các chỉ số chức năng gan trong máu được xem là các dấu ấn sinh học tiềm năng về đáp ứng khi phơi nhiễm với NDMA [Usunomena et al., 2012].

Trong nghiên cứu của Moniuszko-Jakoniuk và cộng sự, đã chỉ ra rằng khi tiếp xúc qua đường miệng với NDMA ở liều 0,002 và 0,003 mg/kg/ngày, chuột đã xuất hiện những thay đổi mô bệnh học ở gan. Những thay đổi này bao gồm thoái hóa tế bào gan, hình thành các sợi argyrophil và collagen, cũng như các thâm nhiễm viêm ở khu vực đường mật cổng sau 30 ngày. Đồng thời, sau 90 ngày, hiệu ứng tăng cường và biểu hiện dưới dạng gan nhiễm mỡ và tổn thương nhu mô gan [Moniuszko-Jakoniuk, Roszczenko, và Dzieciol, 1999]. Tương tự, nghiên cứu của Roszczenko và cộng sự trên chuột cho thấy rằng việc hấp thụ NDMA qua đường miệng lâu dài dẫn đến giảm khả năng liên kết sắt tổng thể tăng hàm lượng các enzyme gan trong máu (alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) và γ -glutamyltransferase (GGT)) với liều lượng đơn lẻ là 20 μ g/kg trọng lượng cơ thể [Roszczenko, Jablonski và Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Do đó, cơ quan đích chính trong việc hình thành các tác động không gây ung thư khi NDMA được hấp thụ qua đường miệng là gan.

Các chỉ số hoạt động của ALT, AST và GGT trong máu được xem là các dấu ấn sinh học để đánh giá phản ứng đối với tác động gây độc gan của các hợp chất N-nitrosamine, [Lathouri, Korre, Dusinska, và Durucan, 2022].

Gamma-glutamyltransferase (GGT) là một enzyme dấu hiệu đặc hiệu cho tổn thương gan và đường mật. Cần lưu ý rằng hoạt động của GGT có thể tăng lên ngay cả khi chỉ xuất hiện rối loạn chức năng gan nhẹ, điều này khiến chỉ số này trở thành dấu ấn sinh học nhạy cảm nhất phản ánh tổn thương gan [Roszczenko, Jablonski và Moniuszko-Jakoniuk, 1996].

Aspartate aminotransferase (AST), còn được gọi là Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT), là một loại enzyme có nhiều trong các tế bào gan và thận, và một lượng nhỏ hơn ở tim, cơ, và não; Khi các tế bào này bị tổn thương, AST sẽ được giải phóng vào máu, do đó AST tăng lên khi tổn thương gan cấp tính. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng AST cũng có mặt trong hồng cầu, cơ tim và cơ xương, do đó không phải là dấu hiệu đặc hiệu cho gan. Tăng mức AST có thể xảy ra khi có tổn thương tim hoặc cơ xương, cũng như khi có tổn thương nhu mô gan. Trong thực hành lâm sàng, sự hiện diện của các giá trị ALT và AST tăng cao cho thấy khả năng tổn thương gan.

Đổi lại, alanine aminotransferase (ALT), còn được gọi là glutamic pyruvic transaminase (SGPT) huyết thanh, là một enzyme chủ yếu có mặt trong tế bào gan. Khi tế bào bị tổn thương, sẽ giải phóng enzyme này vào máu, nơi mà nó được đo lường. ALT tăng mạnh khi gan bị tổn thương cấp tính. Đồng thời, theo dữ liệu được trình bày bởi Usunomena và cộng sự, alanin-aminotransferaza là một dấu hiệu đáng tin cậy hơn về tính toàn vẹn của gan so với alanine aminotransferase [Usunomena et al., 2012]. Cần lưu ý rằng các enzyme gan thường có mặt trong tuần hoàn với số lượng nhỏ do quá trình phát triển và phục hồi của gan. Là một enzyme đặc trưng cho gan, ALT tăng đáng kể chỉ khi có các bệnh lý gan mật. Tăng mức AST, như đã đề cập trước đó, có thể xảy ra khi có tổn thương cơ tim hoặc cơ xương, cũng như nhu mô gan.

Do đó, các báo cáo tổng quan chung về các thí nghiệm độc học trên động vật (chuột), đã xác định rằng các hợp chất N-nitrosamine, đặc biệt là NDMA, ngoài tác động không ngưỡng, còn có các hiệu ứng mà tác động của chúng được đặc trưng bởi các mức ngưỡng. Trong đó, gan là cơ quan đích khi các hợp chất N-nitrosamine có tác động không gây ung thư, và các dấu ấn sinh học của sự phát triển các tác động tiêu cực là sự thay đổi nồng độ GGT, AST, ALT trong máu.

Đồng thời, mặc dù đã tiến hành các nghiên cứu về tác động của NDMA lên cơ thể, phát hiện ra tính chất ngưỡng của sự phát triển một số hiệu ứng, Tham khảo và phân tích các tài liệu đã công bố cho thấy mức độ nguy cơ tối thiểu (MRL) được thiết lập là 0,00001 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày [Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023.]. MRL này được xác định dựa trên $BMDL_{1SD}$ 0,0014 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (trong đó hiệu ứng quan trọng được xác định là giảm khả năng liên kết sắt của huyết thanh) với việc áp dụng hệ số không chắc chắn UF là 100 (10 – ngoại suy kết quả từ động vật sang người, 10 – tính đến nhóm nhạy cảm: trẻ sơ sinh, trẻ em, người già, phụ nữ mang thai). Cần lưu ý rằng giá trị $BMDL$ thu được đã được thiết lập dựa trên thí nghiệm cấp tính sử dụng một nhóm thử nghiệm, nhận liều hàng ngày NDMA 0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể trong 10 ngày.

EPA Hoa Kỳ đề xuất sử dụng kết quả nghiên cứu của Anderson và cộng sự [Anderson et al., 1978] làm liều tham chiếu mãn tính để đánh giá nguy cơ do NDMA gây ra. Trong quá trình thí nghiệm kéo dài 10 tuần trên 10 con chuột với việc sử dụng một liều nghiên cứu (100 mg/kg trọng lượng cơ thể) và phát hiện các tác động tiêu cực khi NDMA được đưa vào qua đường miệng, mức LOAEL (Mức tác động có hại thấp nhất được quan sát thấy) đã được xác định là 0,025 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày, dựa trên đó đã thiết lập liều tham chiếu ở mức 8×10^{-6} mg/kg trọng lượng cơ thể [U.S. Environmental Protection Agency, 2007]. Đồng thời, như một hiệu ứng quan trọng, đã ghi nhận các bệnh lý phát triển, bao gồm thai chết lưu, giảm thời gian mang thai, tăng tỷ lệ tử vong sơ sinh và tăng tỷ lệ con đẻ trong lứa.

Cần nhấn mạnh rằng việc tính toán RfD bao gồm những sự không chắc chắn liên quan đến việc ngoại suy dữ liệu động vật sang con người (bảng 10), xem xét các quần thể nhạy cảm (bảng 10), sử dụng LOAEL làm điểm khởi đầu (bảng 10) và sự không chắc chắn trong dữ liệu, bao gồm việc thiếu độc tính thần kinh và các nghiên cứu sinh sản qua nhiều thế hệ (bảng 3). Do đó, hệ số điều chỉnh tổng cộng là 3000.

Ngoài ra, khi phân tích các kết quả thu được và các yếu tố không chắc chắn được đề xuất, các chuyên gia của US EPA đã xem xét vấn đề về sự đầy đủ của dữ liệu và độ lớn của các yếu tố không chắc chắn. Trong đó, nguyên nhân của tỷ lệ tử vong chu sinh (tử vong thai nhi và trẻ sơ sinh trong tuần đầu tiên sau khi chào đời) cao không rõ ràng, và cơ chế tiềm năng của sự thay đổi mạnh mẽ tỷ lệ giới tính của trẻ sinh non chưa được biết đến. Tuy nhiên, vì tỷ lệ tử vong chu sinh có thể là kết quả của việc tiếp xúc với NDMA, và vì US EPA đã có kết quả từ các thí nghiệm độc học khác trên chuột, và vì nghiên cứu quan trọng của Anderson và cộng sự là nghiên cứu về các bệnh lý phát triển, dựa trên phương pháp tiêu chuẩn của US EPA, các giá trị của các yếu tố không chắc chắn đã được công nhận là đủ [U.S. Environmental Protection Agency, 2007].

Các chuyên gia của EPA cũng lưu ý rằng mặc dù số lượng chuột được sử dụng là đủ, nghiên cứu chỉ bao gồm một mức độ tác động và kết quả không được trình bày đầy đủ. Ngoài ra, không có nghiên cứu nào khác về NDMA xác nhận tỷ lệ tử vong chu sinh hoặc thay đổi tỷ lệ giới tính ở động vật cai sữa [U.S. Environmental Protection Agency, 2007].

Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của Anderson và cộng sự [Anderson et al., 1978] đã được sử dụng để thiết lập RfD, vì chúng được củng cố bởi kết quả thí nghiệm của Peto và cộng sự [Peto et al., 1991]. Trong đó, các tác giả đã nghiên cứu sự phát triển của các tác động tiêu cực đối với gan ở chuột khi tiêu thụ NDMA với nước (ở nồng độ từ 0,033 đến 16,896 ppm). Trong số tất cả các tác động không gây ung thư được ghi nhận, sự hình thành của triệu chứng tăng sinh tế bào gan có ý nghĩa thống kê đáng kể. Dựa trên sự tăng sinh của tế bào gan (bệnh gan to),

đã xác định được LOAEL ở mức 0,043 mg/kg trọng lượng cơ thể và NOAEL ở mức 0,022 mg/kg trọng lượng cơ thể. Đồng thời, giá trị NOAEL thu được tương đương với LOAEL được tìm thấy trong nghiên cứu của Anderson và cộng sự [Anderson et al., 1978], điều này cho thấy rằng các hiệu ứng liên quan đến các bệnh lý phát triển sẽ xảy ra sớm hơn, do đó, việc sử dụng chúng để thiết lập RfD là hợp lý hơn.

Do đó, thông qua việc tổng quan các tài liệu đã công bố, tương ứng với giai đoạn xác định mối nguy, cho thấy rằng trong các nghiên cứu thực nghiệm về độc tính của NDMA, bên cạnh các tác động gây ung thư, còn xác định được tác động không gây ung thư lên gan. Là các dấu ấn sinh học cho sự phát triển của các tác động tiêu cực, có thể xem xét sự thay đổi nồng độ AST, ALT, GGT trong huyết thanh.

Vì vậy, do những sự không chắc chắn đã được xác định, cũng như do việc biện minh cho các thông số đã phát triển trong tác động cấp tính, việc sử dụng liều tham chiếu để đánh giá nguy cơ khi NDMA xâm nhập qua đường miệng là chưa phù hợp.

Theo đó, để làm rõ các thông số để đánh giá định lượng nguy cơ do NDMA trong thực phẩm gây ra, việc tiến hành thí nghiệm độc học mãn tính là hợp lý.

Về vấn đề này, để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư do tiếp xúc với N-nitrosodimethylamine, Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe và Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã phát triển một thiết kế thử nghiệm tương ứng.

Thiết kế thí nghiệm trên mô hình động vật để xác định các thông số đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư do phơi nhiễm N-nitrosodimethylamine

Thí nghiệm được thực hiện tại NIFC (thành phố Hà Nội, Việt Nam) theo thỏa thuận giữa FBSI và NIFC. Thiết kế thí nghiệm đã được phê duyệt bởi biên bản cuộc họp chung, và việc thực hiện đã được Hội đồng

đạo đức của FBSI chấp thuận, đảm bảo tuân thủ tất cả các tiêu chuẩn đạo đức cần thiết.

Theo kết quả xác định môi nguy, tác động không gây ung thư của NDMA khi hấp thụ qua đường miệng được xem xét là tác động gây độc cho gan. Sự thay đổi các chỉ số huyết thanh về chức năng gan (AST, ALT và GGT) được xem xét như là các dấu ấn sinh học của hiệu ứng. Nghiên cứu về cơ sở các tham số để đánh giá rủi ro đã được thực hiện trên động vật cận huyết dòng Wistar. Việc chăm sóc và nuôi dưỡng động vật được thực hiện theo Công ước Châu Âu về bảo vệ động vật có xương sống được sử dụng trong các thí nghiệm và các mục đích khoa học khác ETS N 123 [Council of Europe, 1986] và Hướng dẫn OECD về thực hiện các nghiên cứu độc tính mãn tính [OECD, 2018].

Để tiến hành nghiên cứu độc học mãn tính, cần thiết lựa chọn mô hình động vật phù hợp với cơ chế sinh học của cơ thể con người [Cruz, Gomes, Landeira-Fernandez, 2024; Wei et al., 2024]. Việc lựa chọn mô hình động vật cho nghiên cứu được dựa trên các nguyên tắc lựa chọn các sinh vật mô hình cho nghiên cứu trong phòng thí nghiệm theo quy tắc GLP [Carroll, 2016] và phù hợp với các tiêu chí sau:

1. Sự liên quan của mô hình: việc sử dụng chuột làm mô hình được quyết định bởi sự tương đồng về cấu trúc và chức năng của gan của chúng với gan người, đặc biệt trong bối cảnh chuyển hóa thuốc và các chất độc hại. Điều này đảm bảo tính hợp lý sinh học của các kết quả thu được [Kogure et al., 1999; Muzhikian và cộng sự, 2017].

2. Tính đồng nhất về kiểu gen: để đảm bảo khả năng dự đoán kết quả cao hơn, đã sử dụng các động vật cận huyết. Các dòng cận huyết được đặc trưng bởi mức độ đồng nhất di truyền cao, điều này giảm thiểu ảnh hưởng của các đặc điểm lặn tiềm ẩn và tạo ra một quần thể đồng nhất hơn để nghiên cứu. Điều này cho phép loại trừ ảnh hưởng của các tổ hợp di truyền khác nhau đến kết quả nghiên cứu, từ đó tăng độ chính xác và độ tin cậy của dữ liệu thu được [Gaidai, 2019].

3. Tần suất sử dụng chuột cống như một mô hình động vật trong nghiên cứu: chuột cống được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu độc tính của các chất hóa học, điều này làm cho chúng trở thành một mô hình

tuyệt vời với cơ sở dữ liệu phong phú và các quy trình đã được phát triển [Semakova, Germanchuk, Shavina, 2021; Shagidulin và cộng sự, 2017].

4. Khả năng tiếp cận và chi phí: chuột dễ dàng tiếp cận và chi phí nuôi tương đối rẻ.

5. Đặc điểm kỹ thuật: chuột đủ lớn để thực hiện một loạt các thủ tục, bao gồm thu thập mẫu máu và tiêm các chất nghiên cứu.

Động vật được mua từ một trại nuôi chuyên biệt tại Hà Nội, Việt Nam.

Những con chuột được đưa vào khu thí nghiệm của NIFC đã trải qua thời gian cách ly 5 ngày dưới sự giám sát chung, trong một phòng cách ly khỏi các loài động vật khác.

Trước khi bắt đầu thí nghiệm, tuổi của động vật là 6 tuần, trọng lượng ($SD \pm m$): con đực là $196,7 \pm 16,1$ gram; con cái là $178,6 \pm 15,0$ gram.

Động vật được nuôi giữ từ 2-3 con trong mỗi chuồng. Mỗi ô có nhãn ghi rõ nhóm mà động vật được phân loại, khối lượng cơ thể, tuổi, giới tính, số lượng động vật trong ô và thời gian thí nghiệm.

Tùy thuộc vào liều lượng dung dịch NDMA được cho uống bằng dụng cụ chuyên dụng đưa thẳng dung dịch vào dạ dày, các động vật được chia ngẫu nhiên thành 5 nhóm, mỗi nhóm gồm 13 con với số lượng con đực và con cái bằng nhau:

Nhóm số 1 được cho uống dung dịch NDMA với liều lượng bằng liều 0,001 giá trị LD_{50} (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể) - liều lượng không gây tử vong cho động vật và cho phép xây dựng các mô hình về mối quan hệ giữa "phơi nhiễm - dấu ấn sinh học về đáp ứng";

Nhóm số 2 được cho uống dung dịch NDMA với liều lượng bằng LOAEL (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể) [Lathouri, Korre, Dusinska, và Durucan, 2022];

Nhóm số 3 được cho uống dung dịch NDMA với liều lượng ở mức 0,00001 giá trị LD_{50} (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể) - liều lượng đảm bảo để xây dựng mô hình về mối quan hệ "phơi nhiễm - dấu ấn sinh học về đáp ứng";

Nhóm số 4 được cho uống dung dịch NDMA ở mức liều tối đa được quy định trong chương 1 của chuyên khảo này, như là yếu tố gây ra tác động tiêu cực đối với người trưởng thành khi tiêu thụ thịt và các sản phẩm từ thịt (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể);

Nhóm số 5 - nhóm đối chứng, được cho uống nước cất (1 ml).

Để đánh giá tác động không gây ung thư của NDMA lên cơ thể động vật, một thí nghiệm độc học mãn tính đã được phát triển, kéo dài 180 ngày. Hàng ngày vào buổi sáng, khi đói, sau khi cân, động vật thí nghiệm được cho uống dung dịch NDMA theo nhóm thí nghiệm của chúng. Việc đưa vào được thực hiện qua đường miệng bằng cách sử dụng dụng cụ cho uống, có tính đến khối lượng cơ thể của từng động vật. Liều trên từng cá thể của NDMA (mg/kg trọng lượng cơ thể), được cho uống cho động vật thí nghiệm tùy thuộc vào các nhóm thí nghiệm và thời gian thí nghiệm, dao động từ $6,16 \times 10^{-3}$ đến $1,54 \times 10^{-2}$ cho nhóm số 1; từ $3,20 \times 10^{-4}$ đến $7,16 \times 10^{-4}$ cho nhóm số 2; từ $7,03 \times 10^{-5}$ đến $1,54 \times 10^{-4}$ cho nhóm số 3; từ $3,43 \times 10^{-6}$ đến $7,25 \times 10^{-6}$ cho nhóm số 4.

Lấy mẫu máu để phân tích các dấu ấn sinh học của sự phơi nhiễm và hiệu ứng được thực hiện một lần mỗi tháng trong suốt quá trình thí nghiệm. Xét nghiệm máu để tìm các dấu ấn sinh học về đáp ứng (AST, ALT và GGT) được thực hiện bởi bệnh viện Medlatec, đơn vị đã được công nhận trên các phương pháp đo màu. Phân tích mẫu máu để tìm các dấu ấn sinh học phơi nhiễm được thực hiện tại khoa Độc học và Di nguyên của NIFCùng bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ hai lần (GC-MS/MS).

Việc Xử lý thống kê dữ liệu và thiết lập điểm khởi đầu BMDL, đã áp dụng tiêu chuẩn U của Mann-Whitney. Phương pháp phi tham số này đã được sử dụng để so sánh phân phối dữ liệu giữa các nhóm (ví dụ, nhóm kiểm soát và nhóm thí nghiệm) nhằm phát hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong các chỉ số, đặc trưng cho tác động của yếu tố nghiên cứu ($p < 0,05$). Thử nghiệm này thường được sử dụng hơn các phương pháp tham số do có khả năng vi phạm các giả định về tính chuẩn của phân phối dữ liệu.

Phương pháp hồi quy phi tuyến tính đã được áp dụng để đánh giá sự phụ thuộc giữa liều lượng NDMA và nồng độ của nó trong máu động vật thí nghiệm. Phân tích được thực hiện riêng cho từng nhóm thí nghiệm, cũng như cho tất cả các nhóm cùng nhau. Biến phụ thuộc là nồng độ NDMA trong máu (mg/mL), còn biến độc lập là liều lượng NDMA trên từng cá thể (mg/kg trọng lượng cơ thể).

Ý nghĩa thống kê của các kết quả thu được được đánh giá bằng phương pháp Khi-bình phương (χ^2). Hệ số xác định (R^2) được sử dụng để đánh giá chất lượng của sự phù hợp của mô hình. Tất cả các tính toán thống kê đã được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm Statistica 13.0.

Phương pháp cửa sổ trượt (The sliding window method) được sử dụng để thiết lập mức tham chiếu (BMDL) theo phương pháp được phê duyệt bởi EEC, về việc thiết lập và chứng minh các tiêu chuẩn vệ sinh về hàm lượng tạp chất hóa học trong sản phẩm thực phẩm theo tiêu chí nguy cơ đối với sức khỏe con người [Hướng dẫn phương pháp về việc thiết lập và chứng minh các tiêu chuẩn vệ sinh]. Phương pháp này (OR, khoảng tin cậy 95%, $R^2 \geq 0,5$) cho phép phân tích dữ liệu có tính đến sự phụ thuộc thời gian và xác định ngưỡng tác động, dưới ngưỡng này không quan sát thấy hiệu ứng có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$). Yêu cầu $R^2 \geq 0,5$ đã đảm bảo khả năng giải thích đầy đủ của mô hình thiết kế. Việc áp dụng phương pháp này cho phép xem xét tính phi tuyến tiềm năng giữa liều lượng và đáp ứng, đảm bảo xác định BMDL chính xác hơn.

Trong các phần tiếp theo, trình bày kết quả chi tiết của việc áp dụng các phương pháp đã nêu và diễn giải của chúng, bao gồm các giá trị cụ thể p cho mỗi bài kiểm tra thống kê và các giá trị R^2 cho phương pháp cửa sổ trượt.

Đánh giá sự phụ thuộc của các đáp ứng vào liều lượng dựa trên kết quả thí nghiệm độc học trên mô hình động vật

Để đánh giá các tác động phụ thuộc liều lượng trong điều kiện phơi nhiễm kéo dài với NDMA, cần theo dõi sự thay đổi hàng tháng

của các chỉ số sinh hóa máu, phản ánh hoạt động của các enzyme gan chính. Phân tích hoạt động của AST, ALT và GGT, được thực hiện vào cuối mỗi tháng trong giai đoạn thử nghiệm, bao gồm cả tháng thứ 6, đã cho phép đánh giá sự thay đổi tính chất tác động gây độc gan của NDMA.

Trước khi bắt đầu thí nghiệm, máu của chuột đã được lấy để xác định các giá trị nền của các chỉ số sinh hóa. Điều này cho phép thiết lập các mức ban đầu của các enzyme gan (AST, ALT, GGT) và tiến hành phân tích thêm về mối liên hệ có thể có giữa tác động của NDMA và sự thay đổi của các chỉ số này (Bảng 3.1).

Bảng 3.1

Các chỉ số sinh hóa máu của chuột trước khi bắt đầu thí nghiệm, được trình bày dưới dạng trung vị (Me[Q25;Q75])

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	304,1 [258,3; 324,1]	50,9 [39,8; 57,1]	3,3 [2,8; 3,5]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	265,4 [248,7; 324,7]	47,1 [41,8; 49,5]	2,5 [2,4; 3,0]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	230,1 [222,5; 245,0]	51,1 [42,9; 58,1]	2,7 [2,5; 2,9]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	274,9 [273,4; 280,7]	45,7 [41,8; 55,8]	3,7 [2,5; 4,3]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	240,3 [219,9; 259,3]	40,7 [38,9; 49,6]	3,3 [2,5; 3,6]

Phân tích các giá trị nền của AST, ALT, GGT ở tất cả các nhóm động vật không phát hiện sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm ($p \leq 0,05$) (Bảng 3.2).

Kết quả thử nghiệm phi tham số Mann-Whitney: so sánh phân phối dữ liệu các chỉ số sinh học về hiệu quả từ tác động của NDMA giữa các nhóm động vật (giá trị nền)*

Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị nền theo chỉ số AST giữa các nhóm thí nghiệm.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 10; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 13; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 14; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 10; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 7; Ucrit = 5; p>0,05	–	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 15; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05	–	Uemp = 7; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 13; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 2	Uemp = 10; Ucrit = 8; p>0,05	–	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 10; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 11; p>0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 16; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 15; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 14; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị nền theo chỉ số ALT giữa các nhóm thí nghiệm.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 22; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 17; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	–	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 19; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 14; Ucrit = 7; p>0,05	–	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 2	Uemp = 20; Ucrit = 11; p>0,05	–	Uemp = 14; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 17; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 20; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 19; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 20; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 22; Ucrit = 11; p>0,05
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị nền theo chỉ số GGT giữa các nhóm thí nghiệm.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 23,5; Ucrit = 11; p>0,05	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 9; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 15,5; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	–	Uemp = 14; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 4,5; Ucrit = 6; p>0,05	Uemp = 6; Ucrit = 5; p>0,05	–	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 9; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 2	Uemp = 14,5; Ucrit = 8; p>0,05	–	Uemp = 6; Ucrit = 5; p>0,05	Uemp = 16; Ucrit = 7; p>0,05	Uemp = 18; Ucrit = 8; p>0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 14,5; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 4,5; Ucrit = 6; p>0,05	Uemp = 15,5; Ucrit = 8; p>0,05	Uemp = 23,5; Ucrit = 11; p>0,05

*các khác biệt đáng kể được đánh dấu bằng màu xanh lá cây, không đáng kể – màu vàng.

Ngoài ra, nghiên cứu sơ bộ về máu để tìm các dấu ấn sinh học của sự phơi nhiễm NDMA cho thấy không có chất này trong tất cả các nhóm thí nghiệm.

Một tháng sau khi bắt đầu tiêm hàng ngày các liều khác nhau của NDMA, việc lấy mẫu máu để phân tích các biomarker của hiệu ứng và phơi nhiễm đã được thực hiện lại (Bảng 3.3-3.4).

Bảng 3.3

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột sau một tháng tiếp xúc với NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	290,3 [275,3; 325,5]	83,1 [80,5; 83,6]	3,2 [2,3; 3,5]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	392,2 [376,2; 508,6]	77,8 [69,9; 78,8]	3,7 [3,3; 4,5]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	279,5 [255,9; 302,9]	61,2 [60,1; 62,2]	2,9 [2,6; 3,2]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	274,9 [292,2; 335,7]	68,1 [67,1; 75,4]	3,0 [2,7; 3,5]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	240,3 [276,5; 368,1]	62,1 [55,5; 71,1]	3,3 [3,0; 4,2]

Kết quả phân tích thống kê dữ liệu được trình bày trong bảng 3.3 cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm về mức độ phơi nhiễm NDMA và hoạt động AST ($p \leq 0,05$) bằng cách sử dụng tiêu chí phi tham số U của Mann-Whitney. Các so sánh cặp đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm số 2 và các nhóm số 1, số 3, và số 4, cũng như giữa nhóm số 4 và các nhóm số 2 và số 3, và nhóm số 5 và nhóm số 2. Kết quả này cho phép giả định rằng các liều lượng khác nhau của NDMA có ảnh hưởng khác nhau đến hoạt động của AST.

Tương tự, phân tích so sánh hoạt động ALT trong huyết thanh của động vật tiếp xúc với các liều NDMA khác nhau cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p \leq 0,05$). So sánh cặp đôi cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm số 1 và các nhóm số 4 và số 5, nhóm số 2 và các nhóm số 4 và số 5, nhóm số 3 và nhóm số 4, cũng như nhóm số 4 và các nhóm số 1, số 2 và số 3. Kết quả thu được xác nhận sự hiện diện của hiệu ứng phụ thuộc liều của NDMA lên hoạt động của ALT, điều này cho thấy tác động có thể gây độc cho gan của nó.

Đánh giá hoạt động của GGT trong các nhóm động vật được nghiên cứu cũng cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm: giữa nhóm số 1 và các nhóm số 2, số 4 và số 5; nhóm số 2 và các nhóm số 1, số 4 và số 5; nhóm số 3 và các nhóm số 2 và số 5; cũng như nhóm số 4 và các nhóm số 1, số 2 và số 5. Nhóm số 3 chỉ khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm số 2. Những thay đổi được phát hiện trong hoạt động của GGT cho phép kết luận về sự phát triển của tác dụng gây độc gan của NDMA ngay trong tháng đầu tiên của tác động thí nghiệm.

Bảng 3.4

Kết quả đánh giá các dấu ấn sinh học phơi nhiễm trong máu sau tháng đầu tiên của thí nghiệm trên động vật thí nghiệm

Nhóm động vật (liều NDMA)	Nồng độ NDMA trong máu trung bình của nhóm thí nghiệm, ng/ml
Nhóm số 5 (kiểm soát)	0,000
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,515±0,015
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,635±0,113
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,564±0,164
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,670±0,088

Lưu ý - $M \pm SD$ — giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn

Trong quá trình nghiên cứu, nồng độ NDMA trong máu của động vật thí nghiệm trong các nhóm thí nghiệm dao động trong khoảng từ $0,515\pm0,015$ đến $0,670\pm0,088$ ng/ml.

Ho khi kết thúc giai đoạn thử nghiệm kéo dài hai tháng, các giá trị trung vị của các chỉ số biomarker độc tính gan (hoạt động của AST, ALT và GGT) đã được xác định, được trình bày trong bảng 3.5.

Bảng 3.5

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột sau hai tháng tiếp xúc với NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	AST	AST
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	238,2 [224,2; 252,2]	238,2 [224,2; 252,2]	238,2 [224,2; 252,2]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	243,4 [225,5; 281,2]	243,4 [225,5; 281,2]	243,4 [225,5; 281,2]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	300,0 [270,0; 315,2]	300,0 [270,0; 315,2]	300,0 [270,0; 315,2]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	290,0 [278,5; 303,0]	290,0 [278,5; 303,0]	290,0 [278,5; 303,0]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	330,0 [320,7; 356,2]	330,0 [320,7; 356,2]	330,0 [320,7; 356,2]

Phân tích thống kê về sự phụ thuộc giữa hoạt động của các enzyme gan trong máu và mức độ phơi nhiễm NDMA bằng cách sử dụng tiêu chí U của Mann-Whitney đã phát hiện ra các quy luật sau.

Cụ thể, phân tích hoạt động AST trong năm nhóm động vật sau hai tháng tác động với các liều NDMA khác nhau đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) giữa nhóm đối chứng (số 5) và tất cả các nhóm thí nghiệm (số 1-4). Ngoài ra, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đã được xác định giữa nhóm số 4 và các nhóm số 1, số 2 và số 3,

cũng như giữa nhóm số 3 và các nhóm số 1 và số 2, và nhóm số 2 và các nhóm số 1 và số 3. Trong đó, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) đã được phát hiện giữa các nhóm số 4 và số 3, cũng như giữa các nhóm số 2 và số 1.

Kết quả thu được cho phép kết luận về sự tồn tại của mối liên hệ giữa hoạt động AST trong huyết thanh và mức độ phơi nhiễm NDMA sau hai tháng tác động.

Co sánh hoạt động của ALT trong huyết thanh của động vật thí nghiệm (nhóm số 2, số 3, số 4 và số 5) sau hai tháng kể từ khi bắt đầu tác động của NDMA đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p \leq 0,05$). Cụ thể, hoạt động ALT trong nhóm đối chứng (số 5) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hoạt động của enzyme trong các nhóm số 2, số 3 và số 4. Ngoài ra, nhóm số 4 đã cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nhóm số 2 và số 3. Sự khác biệt không đáng kể về mặt thống kê ($p > 0,05$) đã được ghi nhận giữa các nhóm số 5 và số 4, cũng như giữa các nhóm số 2 và số 1, và số 3 và số 1. Dựa trên dữ liệu thu được, có thể giả định rằng có xu hướng phụ thuộc vào liều lượng trong sự thay đổi hoạt động của ALT dưới tác động của NDMA, mặc dù sự khác biệt có ý nghĩa thống kê không được phát hiện trong tất cả các so sánh cặp đôi.

Đánh giá hoạt động của GGT trong năm nhóm động vật thí nghiệm sau hai tháng tác động với các liều lượng khác nhau của NDMA cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p \leq 0,05$). Cụ thể, hoạt động của GGT trong nhóm kiểm soát (số 5) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hoạt động của enzyme trong các nhóm số 1, số 2 và số 3. Nhóm số 4 cũng đã cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 2 và số 3, còn nhóm số 1 thì so với các nhóm số 2 và số 3. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) đã được ghi nhận giữa các nhóm số 1 và số 4, số 2 và số 1, và số 3 và số 1. Kết quả thu được chỉ ra sự ảnh hưởng phụ thuộc liều của NDMA lên hoạt động của GGT, mặc dù không phải tất cả các so sánh giữa các nhóm đều cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Cùng với việc đánh giá các chỉ số sinh hóa, ở một giai đoạn của thời kỳ thí nghiệm (một tháng sau khi bắt đầu tác động), đã tiến hành phân tích nồng độ NDMA trong máu của động vật (dữ liệu được trình bày trong Bảng 3.6).

Bảng 3.6

Kết quả đánh giá các dấu ấn sinh học phơi nhiễm trong máu sau tháng thứ hai của thí nghiệm trên động vật thí nghiệm

Nhóm động vật (liều NDMA)	Nồng độ NDMA trong máu trung bình của nhóm thí nghiệm, ng/ml
Nhóm số 5 (kiểm soát)	0,00
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,95±0,055
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,96±0,044
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,99±0,023
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	1,0±0,03

Lưu ý - $M \pm SD$ — giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn

Dữ liệu phân tích nồng độ NDMA trong máu của động vật thí nghiệm, thu được sau hai tháng kể từ khi bắt đầu tác động (Bảng 3.6), cho thấy các giá trị trong khoảng từ $0,95 \pm 0,055$ ng/ml (Nhóm số 4) đến $1,0 \pm 0,03$ ng/ml (Nhóm số 1), chỉ ra sự gia tăng không đáng kể nhưng nhất quán về nồng độ trung bình của NDMA trong máu.

Nhằm đánh giá động lực phát triển của tác động gây độc gan của NDMA trong trung hạn (90 ngày kể từ khi bắt đầu tác động thí nghiệm), đã tiến hành phân tích các chỉ số sinh hóa máu của động vật thí nghiệm.

Bảng 3.7 trình bày kết quả xác định các dấu ấn sinh học chính của chức năng gan, nhằm phát hiện các dấu hiệu sớm của tổn thương tế bào gan dưới tác động của NDMA và đánh giá mức độ biểu hiện của các hiệu ứng phụ thuộc liều lượng.

Bảng 3.7

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột trong nửa thời gian thí nghiệm tác động của NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	238,2 [216,2; 258,8]	62,4 [57,0; 66,7]	4,1 [3,0; 4,8]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	254,9 [229,7; 290,5]	63,1 [51,1; 70,8]	3,7 [2,8; 4,4]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	300,0 [260,0; 317,5]	60,7 [59,5; 70,2]	2,0 [2,0; 2,6]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	294,3 [283,7; 338,1]	87,8 [86,0; 102,0]	2,4 [2,1; 2,8]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	292,5 [264,1; 330,0]	80,9 [70,5; 84,2]	2,3 [2,0; 3,7]

Đánh giá hoạt động của GGT trong máu của năm nhóm động vật sau ba tháng tiếp xúc với NDMA bằng cách sử dụng tiêu chí U của Mann-Whitney đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) giữa nhóm đối chứng (số 5) và một số nhóm thực nghiệm (Bảng 3.8).

Kết quả thử nghiệm phi Mann-Whitney: so sánh phân phối dữ liệu các chỉ số sinh học về hiệu quả từ tác động của NDMA giữa các nhóm động vật (3 tháng kể từ khi bắt đầu thí nghiệm)*

Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị chỉ số AST giữa các nhóm thí nghiệm sau 3 tháng tiếp xúc với các liều lượng NDMA khác nhau.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 36; Ucrit = 51; p≤0,05	Uemp = 47; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 55; Ucrit = 33; p>0,05	Uemp = 56; Ucrit = 37; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 14; Ucrit = 37; p≤0,05	Uemp = 23; Ucrit = 34; p≤0,05	Uemp = 34; Ucrit = 20; p>0,05	–	Uemp = 56; Ucrit = 37; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 19; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 25; Ucrit = 30; p>0,05	–	Uemp = 34; Ucrit = 20; p>0,05	Uemp = 55; Ucrit = 33; p>0,05
Nhóm số 2	Uemp = 61; Ucrit = 47; p>0,05	–	Uemp = 25; Ucrit = 30; p>0,05	Uemp = 23; Ucrit = 34; p≤0,05	Uemp = 47; Ucrit = 47; p≤0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 61; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 19; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 14; Ucrit = 37; p≤0,05	Uemp = 36; Ucrit = 51; p≤0,05
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị chỉ số ALT giữa các nhóm thí nghiệm sau 3 tháng thử nghiệm với các liều NDMA khác nhau.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 39; Ucrit = 51; p≤0,05	Uemp = 38; Ucrit = 47; p≤0,05	Uemp = 24; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 18; Ucrit = 37; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 10; Ucrit = 27; p≤0,05	Uemp = 12; Ucrit = 24; p≤0,05	Uemp = 6; Ucrit = 24; p≤0,05	–	Uemp = 18; Ucrit = 37; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 55; Ucrit = 33; p>0,05	Uemp = 52; Ucrit = 30; p>0,05	–	Uemp = 6; Ucrit = 24; p≤0,05	Uemp = 24; Ucrit = 33; p≤0,05
Nhóm số 2	Uemp = 78; Ucrit = 47; p>0,05	–	Uemp = 52; Ucrit = 30; p>0,05	Uemp = 12; Ucrit = 24; p≤0,05	Uemp = 38; Ucrit = 47; p≤0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 78; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 55; Ucrit = 33; p>0,05	Uemp = 10; Ucrit = 27; p≤0,05	Uemp = 39; Ucrit = 51; p≤0,05
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị chỉ số GGT giữa các nhóm thí nghiệm sau 3 tháng thử nghiệm với các liều NDMA khác nhau.					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 46; Ucrit = 51; p≤0,05	Uemp = 41; Ucrit = 47; p≤0,05	Uemp = 13; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 43; Ucrit = 37; p>0,05	–
Nhóm số 4	Uemp = 47; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 35,5; Ucrit = 31; p>0,05	Uemp = 12; Ucrit = 24; p≤0,05	–	Uemp = 43; Ucrit = 37; p>0,05
Nhóm số 3	Uemp = 30; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 36; Ucrit = 27; p>0,05	–	Uemp = 12; Ucrit = 24; p≤0,05	Uemp = 13; Ucrit = 33; p≤0,05
Nhóm số 2	Uemp = 70,5; Ucrit = 47; p>0,05	–	Uemp = 36; Ucrit = 27; p>0,05	Uemp = 35,5; Ucrit = 31; p>0,05	Uemp = 41; Ucrit = 47; p≤0,05
Nhóm số 1	–	Uemp = 70,5; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 30; Ucrit = 33; p≤0,05	Uemp = 47; Ucrit = 47; p>0,05	Uemp = 46; Ucrit = 51; p≤0,05

*các khác biệt đáng kể được đánh dấu bằng màu xanh lá cây, không đáng kể – màu vàng.

Cụ thể, các nhóm số 1, số 2 và số 3 đã cho thấy sự gia tăng hoạt động GGT có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Ngược lại, nhóm số 4 không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Mặc dù tồn tại xu hướng chung về việc tăng hoạt động GGT trong các nhóm thí nghiệm, vấn đề thiếu ý nghĩa thống kê giữa một số nhóm (ví dụ, giữa nhóm số 4 và số 5, cũng như giữa các cặp nhóm thí nghiệm riêng lẻ) không cho phép đưa ra kết luận rõ ràng về sự phụ thuộc "liều lượng - đáp ứng" rõ rệt.

Tương tự, phân tích hoạt động AST trong máu của năm nhóm động vật sau ba tháng tiếp xúc với NDMA bằng cách sử dụng tiêu chí phi tham số U của Mann-Whitney đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) giữa một số nhóm. Cụ thể, sự gia tăng hoạt động AST có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng số 5 đã được phát hiện ở các nhóm số 1, số 2, số 3 và số 4. Trong đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm số 2 và số 5, cũng như số 3 và số 4 ($p > 0,05$). Kết quả thu được chỉ ra sự ảnh hưởng phụ thuộc liều của NDMA lên hoạt động của AST, mặc dù có sự chông chéo nhất định về giá trị giữa các nhóm nhận sử dụng NDMA tương đối cao.

Đánh giá hoạt động ALT trong máu của năm nhóm động vật bằng cách sử dụng tiêu chí U của Mann-Whitney đã phát hiện ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) giữa một số nhóm. Cụ thể, nhóm số 5 đã cho thấy sự gia tăng hoạt động ALT có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 1, số 2, số 3 và số 4. Nhóm số 4 cũng cho thấy sự gia tăng đáng kể hoạt động ALT so với nhóm số 1 và số 2. Trong đó, nhóm số 3 không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 1 và số 2, nhưng lại cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm số 4. Không giống như các mối liên hệ đáng tin cậy đã được thiết lập giữa hoạt động AST và GGT trong huyết thanh máu và mức độ phơi nhiễm NDMA, việc đánh giá mối liên hệ giữa hoạt động ALT và phơi nhiễm NDMA ở giai đoạn nghiên cứu này chưa cho phép thu được sự khác biệt đáng tin cậy, điều này cần được xác nhận trong các thí nghiệm tiếp theo.

Như vậy, kết quả phân tích hoạt độ các enzyme gan AST, ALT và GGT trong các mẫu máu sau ba tháng tiêm NDMA liều lượng khác nhau vào động vật bằng kiểm định Mann-Whitney U cho thấy có sự

khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) giữa nhóm thực nghiệm (Số 1-Số 4) và nhóm đối chứng (Số 5). Trong tất cả các nhóm thí nghiệm, đã ghi nhận sự gia tăng hoạt động AST và ALT có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng, điều này chỉ ra tác dụng gây độc gan của hợp chất NDMA. Đối với GGT, sự gia tăng hoạt động có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng đã được phát hiện ở các nhóm số 1, số 2 và số 3, trong khi nhóm số 4 không cho thấy sự gia tăng hoạt động có ý nghĩa thống kê.

Ngoài ra, nhằm đánh giá sự thay đổi động lực của hoạt động các enzyme gan, nhóm nghiên cứu đã tiến hành phân tích dữ liệu thu được vào tháng thứ 4 của tác động thử nghiệm NDMA. Bảng 3.9 trình bày kết quả đo hoạt động của AST, ALT và GGT trong huyết thanh máu của chuột vào cuối tháng thứ 4 của thí nghiệm, được biểu thị dưới dạng giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị (Me [Q25; Q75]).

Bảng 3.9

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột trong tháng thứ 4 của giai đoạn thí nghiệm tác động của NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	238,2 [216,2; 258,8]	63,4 [57,0; 66,7]	4,1 [3,0; 4,8]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	254,9 [229,7; 290,5]	63,1 [51,1; 70,8]	3,7 [2,8; 4,4]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	300,0 [260,0; 317,5]	60,7 [59,5; 70,2]	2,6 [2,0; 3,3]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	294,3 [283,7; 338,1]	87,9 [86,0; 102,0]	2,4 [2,2; 2,8]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	292,5 [264,1; 330,0]	80,9 [70,5; 84,2]	2,3 [2,2; 3,9]

Phân tích biểu đồ sử dụng tiêu chí U của Mann-Whitney (mức ý nghĩa $p \leq 0,05$) cho phép so sánh hoạt động của AST, ALT và GGT giữa các nhóm trong thời gian này và phát hiện những thay đổi có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, khi phân tích hoạt động của AST, nhóm nghiên cứu đã

phát hiện ra quy luật sau: Hoạt động AST cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê được ghi nhận ở nhóm động vật chịu tác động của liều tối đa NDMA (Nhóm số 1, 0,04 mg/kg), so với nhóm số 3 (0,0004 mg/kg), số 4 (0,00002 mg/kg) và nhóm đối chứng số 5. Xu hướng tương tự cũng được ghi nhận đối với nhóm số 3, trong đó hoạt động AST vượt trội một cách có ý nghĩa thống kê so với chỉ số tương tự trong các nhóm số 1, số 4 và nhóm đối chứng. Đặc biệt đáng chú ý là trong thực tế, liều tối thiểu của NDMA (Nhóm số 4) cũng dẫn đến sự gia tăng hoạt động AST có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 1, số 3 và nhóm đối chứng. Cần lưu ý rằng hoạt động AST ở nhóm số 2 không biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm khác. Tập hợp dữ liệu thu được cho phép kết luận rằng tác động của NDMA có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt động của AST.

Đối với hoạt động ALT vào tháng thứ 4 của tác động NDMA, xu hướng vẫn là có ít sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm hơn so với AST và GGT. Hoạt động ALT cao hơn đáng kể về mặt thống kê được ghi nhận ở nhóm số 1 so với nhóm số 4 và nhóm số 5 (nhóm đối chứng). Trong nhóm số 4, hoạt động ALT thấp hơn đáng kể về mặt thống kê so với nhóm số 1 và nhóm đối chứng số 5, cũng như cao hơn so với nhóm số 3. Hoạt động ALT trong nhóm số 2 không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm khác. Dữ liệu này chỉ ra rằng việc tiếp xúc lâu dài với NDMA tiếp tục ảnh hưởng đến hoạt động của ALT, tuy nhiên hiệu ứng này vẫn ít rõ rệt hơn so với trường hợp của AST và GGT.

Phân tích hoạt động của GGT vào tháng thứ 5 của thí nghiệm cho thấy rằng nhóm số 1 tiếp tục thể hiện hoạt động enzyme cao hơn đáng kể về mặt thống kê so với các nhóm số 3, số 4 và nhóm đối chứng số 5. Tương tự, trong nhóm số 3, hoạt động của GGT cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê so với nhóm số 1, số 4 và nhóm đối chứng. Cuối cùng, trong nhóm số 4 vẫn quan sát thấy sự giảm hoạt động GGT có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 1, số 3 và nhóm đối chứng. Hoạt động GGT trong nhóm số 2 không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm. Những dữ liệu này xác nhận ảnh hưởng kéo dài của NDMA đến hoạt động của GGT khi tiếp xúc lâu dài, điều này nhấn mạnh vai trò của nó như một chỉ số của độc tính gan.

Nhìn chung, phân tích dữ liệu thu được vào tháng thứ 4 của thí nghiệm xác nhận những kết luận trước đó về tác động gây độc cho gan của NDMA, thể hiện qua sự thay đổi hoạt động của các enzyme gan. Các quy luật được phát hiện vào tháng thứ 4 chủ yếu được duy trì, điều này cho thấy tính chất ổn định của tác động NDMA lên gan khi tiếp xúc lâu dài.

Với mục đích đánh giá những thay đổi động của các chỉ số này và khả năng ổn định, một phân tích sinh hóa máu tương tự đã được thực hiện vào tháng thứ 5 của giai đoạn thử nghiệm.

Giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị (Me [Q25; Q75]) của hoạt động AST, ALT và GGT trong huyết thanh của chuột vào tháng thứ 5 khi tiếp xúc với NDMA được trình bày trong Bảng 3.10.

Bảng 3.10

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột vào tháng thứ 5 của giai đoạn thí nghiệm tác động NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	284,9 [270,3; 296,5]	82,7 [64,6; 89,8]	7,0 [5,9; 7,5]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	385,1 [287,6; 411,6]	81,5 [78,5; 93,0]	2,7 [2,0; 3,9]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	324,9 [271,0; 388,4]	62,5 [58,2; 68,2]	3,4 [2,7; 11,3]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	265,5 [219,6; 341,4]	89,8 [74,6; 112,9]	2,9 [2,8; 4,1]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	232,5 [205,4; 246,0]	68,8 [55,5; 77,0]	3,2 [2,2; 4,8]

Kết quả được trình bày trong Bảng 3.10 cũng đã được phân tích thống kê bằng cách sử dụng tiêu chí U của Mann-Whitney để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm trong hoạt động của các enzyme gan được nghiên cứu.

Phân tích hoạt động AST cho thấy rằng trong nhóm tiếp xúc với liều tối đa NDMA (Nhóm số 1, 0,04 mg/kg), hoạt động của enzyme cao

hơn đáng kể về mặt thống kê so với các nhóm số 3 (0,0004 mg/kg), số 4 (0,00002 mg/kg) và nhóm đối chứng số 5. Xu hướng tương tự cũng được phát hiện trong nhóm số 3, nơi mà hoạt động AST vượt trội một cách có ý nghĩa thống kê so với các chỉ số tương tự trong nhóm số 1, số 4 và nhóm đối chứng. Cần lưu ý rằng ngay cả liều tối thiểu của NDMA (Nhóm số 4) cũng gây ra sự gia tăng hoạt động AST có ý nghĩa thống kê so với các nhóm số 1, số 3 và nhóm đối chứng. Hoạt động AST trong nhóm số 2 không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm khác. Dữ liệu thu được cho phép giả định rằng NDMA ảnh hưởng đến hoạt động của AST.

Đối với hoạt động của ALT, đã xác định rằng trong nhóm số 1 (0,04 mg/kg) có hoạt động enzyme cao hơn đáng kể về mặt thống kê so với các nhóm số 4 và số 5 (nhóm đối chứng). Đồng thời, nhóm số 4 cho thấy hoạt động ALT thấp hơn đáng kể về mặt thống kê so với nhóm số 1 và số 5, nhưng cao hơn so với nhóm số 3. Không phát hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt động ALT giữa nhóm số 2 và các nhóm khác. Kết quả cho thấy có sự ảnh hưởng của NDMA đến hoạt động của ALT, tuy nhiên ảnh hưởng này dường như ít rõ rệt hơn so với AST.

Phân tích hoạt động GGT cho thấy hoạt động enzyme cao hơn đáng kể về mặt thống kê trong nhóm số 1 so với các nhóm số 3, số 4 và nhóm đối chứng. Xu hướng tương tự được quan sát thấy trong nhóm số 3, nơi hoạt động của GGT cũng vượt quá đáng kể so với các giá trị thu được cho nhóm số 1, số 4 và nhóm kiểm soát. Trong nhóm số 4, ngược lại, đã ghi nhận hoạt động GGT thấp hơn đáng kể về mặt thống kê so với các nhóm số 1, số 3 và nhóm đối chứng. Hoạt động GGT ở nhóm số 2 không khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với các nhóm khác. Những khác biệt được phát hiện cho thấy rằng NDMA có ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động của GGT, tương đương với ảnh hưởng của nó đến hoạt động của AST.

Do đó, phân tích thống kê dữ liệu thu được vào tháng thứ 5 của thí nghiệm xác nhận giả thuyết về tác động gây độc gan của NDMA, thể hiện qua sự thay đổi hoạt động của các enzyme gan (AST, ALT, GGT). Phân tích các quy luật được phát hiện vào tháng thứ 5 cho thấy liều tối đa NDMA (Nhóm số 1) vẫn có ảnh hưởng rõ rệt nhất đến hoạt động của

các enzyme, tuy nhiên nhóm với liều tối thiểu (Nhóm số 4) cũng tiếp tục thể hiện những thay đổi đáng kể. Việc duy trì xu hướng này trong suốt 5 tháng tác động của NDMA cho phép nói về tính ổn định của hiệu ứng gây độc gan của nó. Kết quả thu được nhấn mạnh sự cần thiết phải nghiên cứu thêm về cơ chế tác động của NDMA lên gan, đánh giá hậu quả lâu dài của tác động này và xác định liều lượng ngưỡng có ảnh hưởng tối thiểu nhưng có ý nghĩa thống kê.

Các kết quả được trình bày ở trên cho phép đánh giá động lực của hoạt động enzyme gan dưới tác động của NDMA trong suốt thời gian thí nghiệm. Để phân tích chi tiết hơn về tác động gây độc gan của NDMA, các giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị của hoạt động AST, ALT và GGT trong huyết thanh của chuột đã được nghiên cứu vào tháng thứ 6 của tác động (Bảng 3.11).

Bảng 3.11

Giá trị trung vị (Me [Q25; Q75]) của các chỉ số sinh hóa máu của chuột trong tháng thứ 6 của giai đoạn thử nghiệm tác động của NDMA

Nhóm động vật (liều NDMA)	Chỉ số sinh hóa máu (E/l)		
	AST	ALT	GGT
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	196,4 [186,6; 274,6]	60,3 [47,3; 78,6]	3,5 [3,0; 4,8]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	267,1 [243,7; 302,7]	70,4 [63,7; 74,8]	4,2 [2,8; 5,1]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	270,7 [204,1; 301,2]	60,8 [56,4; 67,7]	4,5 [4,0; 4,7]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	218,3 [195,0; 239,4]	83,3 [73,5; 89,2]	4,0 [3,4; 4,2]
Nhóm số 5 (kiểm soát)	220,1 [176,3; 241,5]	76,4 [72,0; 85,3]	2,2 [2,0; 3,7]

Dữ liệu thu được cho thấy tác động gây độc cho gan của NDMA được duy trì trong suốt thời gian thử nghiệm sáu tháng. Kết thúc thí nghiệm (tháng thứ 6), phân tích thống kê cho thấy liều tối đa của NDMA (nhóm số 1) vẫn có tác động rõ rệt nhất đến hoạt động của AST và GGT (Bảng 3.12).

Kết quả thử nghiệm phi Mann-Whitney: so sánh phân phối dữ liệu các chỉ số sinh học về hiệu quả từ tác động của NDMA giữa các nhóm động vật (6 tháng kể từ khi bắt đầu thí nghiệm)*

Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị chỉ số AST giữa các nhóm thí nghiệm sau 6 tháng tiếp xúc với các liều NDMA khác nhau					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 35, Ucrit = 42, $p \leq 0,05$	Uemp = 28, Ucrit = 37, $p > 0,05$	Uemp = 15, Ucrit = 29, $p \leq 0,05$	Uemp = 22, Ucrit = 33, $p \leq 0,05$	–
Nhóm số 4	Uemp = 18, Ucrit = 40, $p \leq 0,05$	Uemp = 32, Ucrit = 35, $p > 0,05$	Uemp = 21, Ucrit = 28, $p \leq 0,05$	–	Uemp = 25, Ucrit = 38, $p \leq 0,05$
Nhóm số 3	Uemp = 27, Ucrit = 45, $p \leq 0,05$	Uemp = 41, Ucrit = 50, $p > 0,05$	–	Uemp = 19, Ucrit = 31, $p \leq 0,05$	Uemp = 33, Ucrit = 44, $p \leq 0,05$
Nhóm số 2	Uemp = 52, Ucrit = 55, $p > 0,05$	–	Uemp = 48, Ucrit = 53, $p > 0,05$	Uemp = 37, Ucrit = 49, $p > 0,05$	Uemp = 29, Ucrit = 41, $p > 0,05$
Nhóm số 1	–	Uemp = 52, Ucrit = 55, $p > 0,05$	Uemp = 27, Ucrit = 45, $p \leq 0,05$	Uemp = 18, Ucrit = 40, $p \leq 0,05$	Uemp = 35, Ucrit = 42, $p \leq 0,05$
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị chỉ số ALT giữa các nhóm thí nghiệm sau 6 tháng thử nghiệm với các liều NDMA khác nhau					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 38, Ucrit = 45, $p \leq 0,05$	Uemp = 31, Ucrit = 40, $p > 0,05$	Uemp = 23, Ucrit = 35, $p > 0,05$	Uemp = 19, Ucrit = 30, $p \leq 0,05$	–
Nhóm số 4	Uemp = 20, Ucrit = 38, $p \leq 0,05$	Uemp = 34, Ucrit = 43, $p > 0,05$	Uemp = 26, Ucrit = 33, $p \leq 0,05$	–	Uemp = 28, Ucrit = 39, $p \leq 0,05$
Nhóm số 3	Uemp = 29, Ucrit = 47, $p > 0,05$	Uemp = 44, Ucrit = 52, $p > 0,05$	–	Uemp = 24, Ucrit = 37, $p \leq 0,05$	Uemp = 36, Ucrit = 48, $p > 0,05$
Nhóm số 2	Uemp = 51, Ucrit = 58, $p > 0,05$	–	Uemp = 47, Ucrit = 55, $p > 0,05$	Uemp = 39, Ucrit = 51, $p > 0,05$	Uemp = 33, Ucrit = 44, $p > 0,05$
Nhóm số 1	–	Uemp = 51, Ucrit = 58, $p > 0,05$	Uemp = 29, Ucrit = 47, $p > 0,05$	Uemp = 20, Ucrit = 38, $p \leq 0,05$	Uemp = 38, Ucrit = 45, $p \leq 0,05$
Ý nghĩa của sự khác biệt về giá trị GGT giữa các nhóm thử nghiệm sau 6 tháng tiếp xúc với các liều NDMA khác nhau					
Nhóm động vật	Nhóm số 1	Nhóm số 2	Nhóm số 3	Nhóm số 4	Nhóm số 5
Nhóm số 5	Uemp = 40, Ucrit = 47, $p \leq 0,05$	Uemp = 53, Ucrit = 60, $p > 0,05$	Uemp = 31, Ucrit = 49, $p > 0,05$	Uemp = 22, Ucrit = 40, $p \leq 0,05$	–
Nhóm số 4	Uemp = 22, Ucrit = 40, $p \leq 0,05$	Uemp = 36, Ucrit = 45, $p > 0,05$	Uemp = 28, Ucrit = 35, $p \leq 0,05$	–	Uemp = 30, Ucrit = 41, $p \leq 0,05$
Nhóm số 3	Uemp = 31, Ucrit = 49, $p > 0,05$	Uemp = 46, Ucrit = 54, $p > 0,05$	$p > 0,05$	Uemp = 26, Ucrit = 39, $p \leq 0,05$	Uemp = 38, Ucrit = 50, $p > 0,05$
Nhóm số 2	Uemp = 53, Ucrit = 60, $p > 0,05$	–	Uemp = 49, Ucrit = 57, $p > 0,05$	Uemp = 41, Ucrit = 53, $p > 0,05$	Uemp = 35, Ucrit = 46, $p > 0,05$
Nhóm số 1	–	Uemp = 33, Ucrit = 42, $p > 0,05$	Uemp = 25, Ucrit = 37, $p > 0,05$	Uemp = 21, Ucrit = 32, $p \leq 0,05$	Uemp = 40, Ucrit = 47, $p \leq 0,05$

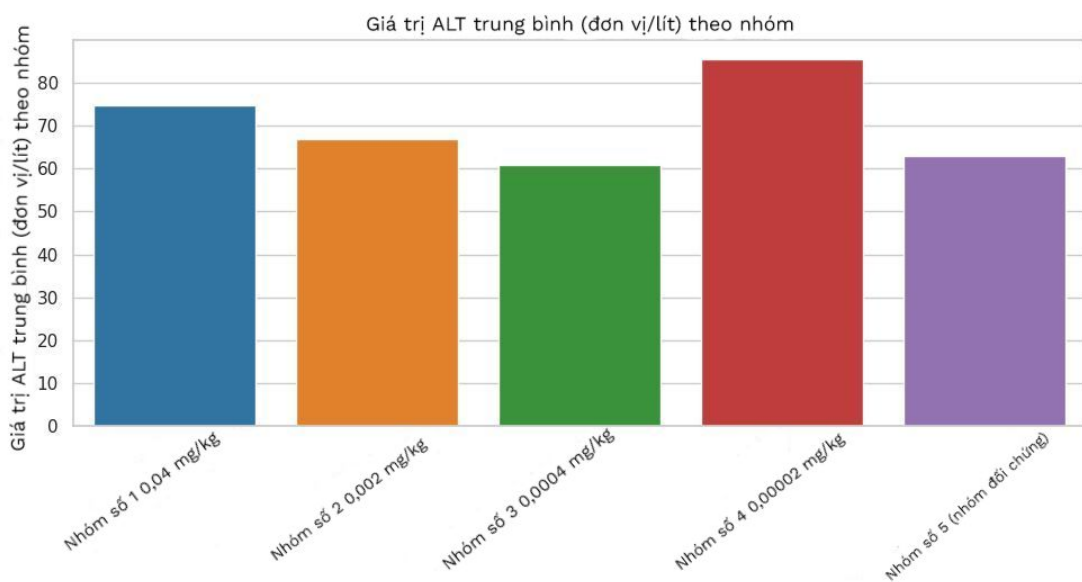
*các khác biệt đáng kể được đánh dấu bằng màu xanh lá cây, không đáng kể – màu vàng.

Hơn nữa, liều tối thiểu của NDMA (nhóm số 4) cũng tiếp tục gây ra những thay đổi có ý nghĩa thống kê, đặc biệt liên quan đến AST, điều này có thể chỉ ra độ nhạy cảm tăng lên với NDMA ở nồng độ thấp. Hoạt động của ALT có những thay đổi ít rõ rệt hơn so với các enzyme khác.

Điều quan trọng cần lưu ý là, mặc dù không có sự gia tăng dần dần hoạt động của enzyme từ tháng thứ 5 đến tháng thứ 6, nhưng sự tồn tại của những khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm cho thấy tác dụng độc gan mãn tính của NDMA. Như vậy, Kết quả thí nghiệm cho thấy ảnh hưởng của NDMA đến hoạt động của enzyme gan. Liều NDMA tối đa (nhóm 1) có tác dụng rõ rệt nhất đến hoạt động của AST và GGT, trong khi liều tối thiểu (nhóm 4) cũng gây ra những thay đổi có ý nghĩa thống kê, đặc biệt là liên quan đến AST. Hoạt động của ALT có những thay đổi ít rõ rệt hơn. Việc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong nhóm số 2 có thể chỉ ra bản chất phi tuyến tính của mối quan hệ liều lượng-tác dụng. Kết quả thu được khẳng định tác dụng gây độc gan của NDMA trong suốt thời gian thử nghiệm.

Các kết quả thu được trong quá trình nghiên cứu được thể hiện rõ ràng qua các biểu đồ trình bày bên dưới. Những biểu đồ này cho phép đánh giá mức độ ảnh hưởng của các liều lượng NDMA khác nhau lên hoạt động của các enzyme gan chính. Đặc biệt, đồ thị thể hiện giá trị trung vị của hoạt động AST, ALT và GGT của từng nhóm thực nghiệm (Nhóm số 1 – Nhóm số 5) trong toàn bộ thời gian quan sát. Việc trực quan hóa các giá trị trung bình cho phép chúng ta vô hiệu hóa ảnh hưởng của các giá trị ngoại lai có thể có và có được bức tranh đại diện hơn về trạng thái các thông số gan ở mỗi nhóm (Hình 3.1-3.3).

Hình 3.1 cho thấy giá trị trung bình của hoạt động alanine aminotransferase (ALT) vào cuối giai đoạn 6 tháng tiếp xúc với N-nitrosodimethylamine (NDMA) ở các nhóm thử nghiệm khác nhau. Phân tích dữ liệu thu được cho thấy không có mối quan hệ tuyến tính rõ rệt giữa liều lượng và tác dụng đáp ứng. Đặc biệt, liều NDMA tối

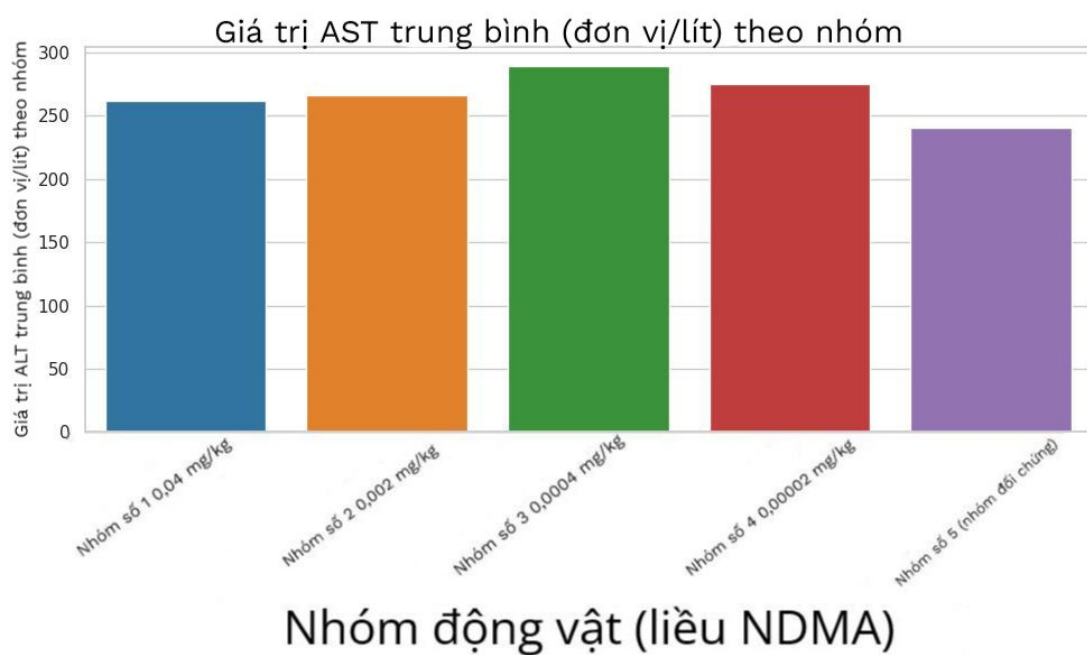


Nhóm động vật (liều NDMA)

Hình 3.1. Ảnh hưởng của các liều lượng NDMA khác nhau đến giá trị trung bình của hoạt động ALT ở các nhóm động vật trong thời gian nghiên cứu.

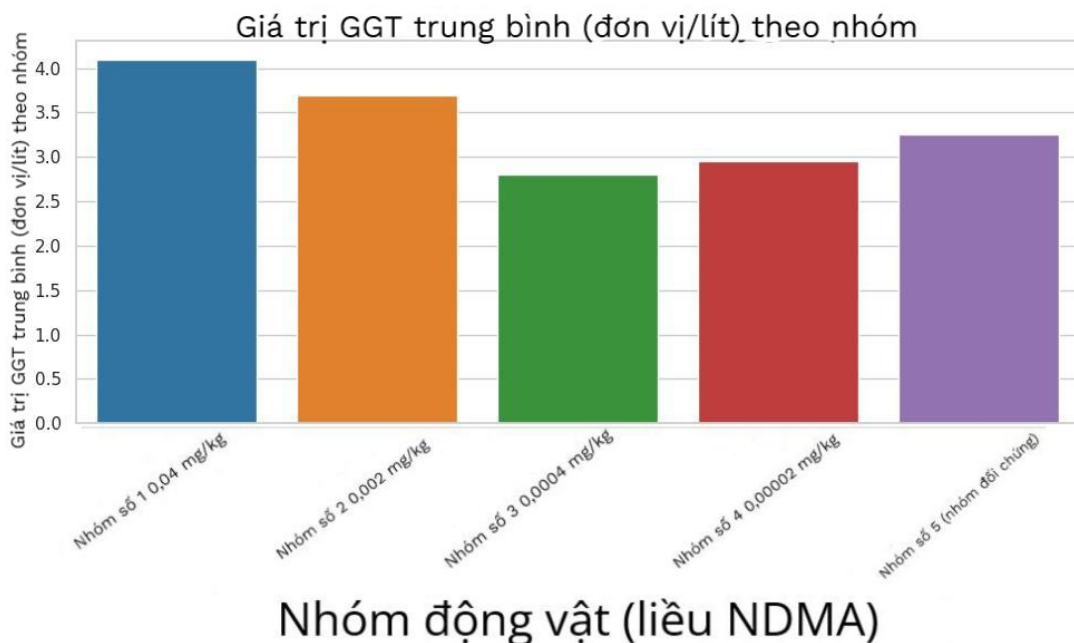
đa (0,04 mg/kg) không liên quan đến hoạt động ALT tối đa. Hơn nữa, các giá trị ALT tương đối cao đã được ghi nhận ở nhóm dùng liều tối thiểu NDMA (0,00002 mg/kg), điều này có thể chỉ ra sự liên quan của các cơ chế cụ thể của tác động gây độc cho gan bắt đầu bởi nồng độ NDMA thấp. Ngoài ra, kết quả quan sát được có thể được giải thích bằng hiện tượng hormesis [Calabrese & Baldwin, 2003a], theo đó liều trung gian NDMA (0,0004 mg/kg) gây ra các quá trình thích nghi hoặc bảo vệ dẫn đến giảm hoạt động ALT. Một lời giải thích khả thi khác là sự kích hoạt của một cơ chế độc đáo ở mức liều 0,00002 mg/kg thúc đẩy giải phóng ALT vào máu; Cơ chế này có thể không hoạt động hoặc bị ức chế khi tiếp xúc với nồng độ NDMA cao hơn. Cần lưu ý rằng việc thiết lập các cơ chế cụ thể xác định độ lệch quan sát được so với mối quan hệ liều đáp ứng tuyến tính liên quan đến hoạt động ALT không phải là mục tiêu của nghiên cứu này. Tuy nhiên, các kết quả

thu được cho phép nhóm nghiên cứu xác định hướng đi này có triển vọng cho nghiên cứu khoa học sâu hơn, đặc biệt là thông qua các thí nghiệm in vitro sử dụng mô hình tế bào gan, cũng như phân tích sâu các thay đổi về hình thái mô học trong mô gan bằng phương pháp đo hình thái định lượng.



Hình 3.2. Ảnh hưởng của các liều lượng NDMA khác nhau đến giá trị trung bình của hoạt động AST ở các nhóm động vật trong thời gian nghiên cứu.

Hình 3.2 biểu thị giá trị trung bình của hoạt động AST vào cuối thời gian 6 tháng tiếp xúc với N-nitrosodimethylamine ở các nhóm thử nghiệm khác nhau. Phân tích dữ liệu thu được cho thấy một hình ảnh tương tự như hình ảnh quan sát được liên quan đến hoạt động ALT (Hình 3.1). Đặc biệt, không có mối quan hệ liều đáp ứng tuyến tính rõ rệt nào được quan sát thấy đối với AST. Liều NDMA tối đa (0,04 mg/kg) không dẫn đến hoạt động tối đa của enzyme và giá trị AST tương đối cao được ghi nhận ở nhóm dùng liều NDMA dưới mức tối đa.



Hình 3.3. Ảnh hưởng của các liều lượng NDMA khác nhau đến giá trị trung bình của hoạt động GGT ở các nhóm động vật trong thời gian nghiên cứu.

Hình 3.3. thể hiện giá trị trung bình của hoạt động GGT cho các nhóm động vật khác nhau. Ngược lại với AST và ALT, hoạt động của GGT dường như nhạy cảm hơn với tác động của NDMA ở nhóm 1 (0,04 mg/kg), trong đó có sự gia tăng đáng kể vào tháng thứ 5 (7,0 U/L), với mức giảm nhẹ vào tháng thứ 6 (5,3 U/L). Đồng thời, các nhóm dùng liều thấp hơn cho thấy những thay đổi ít rõ rệt hơn về hoạt động của GGT.

Điều này có thể hỗ trợ cho giả thuyết rằng liều cao NDMA có tác động gây hại rõ rệt hơn đến tế bào gan và tế bào biểu mô ống mật, dẫn đến tăng giải phóng GGT vào máu.

Mặc dù phân tích được tiến hành về giá trị trung bình của hoạt động ALT và AST không cho thấy mối quan hệ tuyến tính chặt chẽ giữa liều lượng và tác dụng, nhưng điều này không loại trừ khả năng mô tả mối quan hệ giữa nồng độ NDMA và hoạt động của các enzyme này bằng mô hình hồi quy phi tuyến tính. Như đã lưu ý trước đó, các quá trình sinh học phức tạp như yếu tố hormesis hoặc quá trình kích hoạt

các cơ chế gây độc gan cụ thể ở liều thấp có thể dẫn đến sai lệch so với mối quan hệ tuyến tính. Về vấn đề này, để mô tả chính xác hơn mối quan hệ giữa liều lượng NDMA và hoạt động của các enzyme gan, phần sau sẽ xem xét khả năng sử dụng các mô hình hồi quy phi tuyến tính cho phép có sự phụ thuộc phức tạp, không đơn điệu.

**Phân tích sự phụ thuộc của hoạt động của enzyme gan
(dấu ấn sinh học về tác động) và nồng độ NDMA trong máu
(dấu ấn sinh học về phơi nhiễm) vào mức độ phơi nhiễm NDMA
bằng hồi quy cặp phi tuyến tính**

Mục tiêu chính là xác định các yếu tố dự báo rối loạn chức năng gan. Để đạt được mục tiêu này, chúng tôi đã tiến hành phân tích mối quan hệ giữa hoạt động của enzyme gan ban đầu và khả năng tăng hoạt động của chúng khi tiếp xúc với NDMA. Trong nghiên cứu này, phương pháp thống kê được sử dụng để đánh giá tác dụng của liều N-nitrosodimethylamine lên hoạt động của enzyme gan (AST, ALT, GGT). Để phân tích chi tiết hơn về mối quan hệ giữa liều lượng NDMA và hoạt động của các enzyme gan (AST, ALT, GGT), nên sử dụng phương pháp hồi quy cặp phi tuyến tính. Trong phương pháp này, các biến phụ thuộc là hoạt động của AST, ALT và GGT, và biến độc lập là liều lượng NDMA. Phân tích các tham số của mô hình hồi quy phi tuyến tính sẽ cho phép nhóm nghiên cứu đánh giá bản chất ảnh hưởng của liều lượng NDMA đến hoạt động của từng enzym, cũng như xác định ý nghĩa thống kê của các mối quan hệ phụ thuộc đã xác định.

Để đánh giá khả năng sử dụng hoạt động GGT, AST và ALT làm chỉ số hoạt động của enzyme vượt quá mức trung bình của nhóm đối chứng trong tháng 1 – tháng 6 của nghiên cứu, tùy thuộc vào liều lượng N-nitrosodimethylamine, một loạt phân tích hồi quy logistic đã được thực hiện (Bảng 3.13). Trong mỗi phân tích, biến phụ thuộc là sự có hoặc không có hoạt động của enzyme trên giá trị trung bình của nhóm đối chứng trong khoảng thời gian từ 1 đến 6 tháng của nghiên cứu và biến độc lập là nồng độ ban đầu của enzyme tương ứng trong máu.

Kết quả hồi quy logistic để dự đoán hoạt động của transaminase gan (ALT và AST) và gamma-glutamyl transferase (GGT) tăng cao trong huyết thanh dưới ảnh hưởng của N-nitrosodimethylamine (NDMA)

Biến đổi	GGT		ALT		AST	
	Đánh giá	Mối quan hệ, Cơ hội (đơn vị, số đo)	Đánh giá	Mối quan hệ, Cơ hội (đơn vị, số đo)	Đánh giá	Mối quan hệ, Cơ hội (đơn vị, số đo)
B0 (Hằng số)	0,397	0,345	0,065	1,067	-0,999	0,368
Nồng độ máu ban đầu	-1,065	1,487	-0,316	0,729	1,997	7,367
Thống kê mô hình						
Chi-bình phương (df = 1)	9,975		0,630		34,524	
p- giá trị	0,002		0,427		< 0,001	
Tổng thiệt hại (Log-Likelihood)	103,144		107,816		90,869	

Phân tích nồng độ ban đầu của các enzyme (GGT, AST và ALT) được thực hiện trong khuôn khổ nghiên cứu về tác động của NDMA lên động lực học của chúng giúp xác định được các mô hình quan trọng có thể được sử dụng để dự đoán những thay đổi trong hoạt động của enzyme. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng nồng độ GGT và AST ban đầu có giá trị dự báo mạnh về khả năng hoạt động của chúng vượt quá giá trị trung bình của nhóm đối chứng trong vòng 6 tháng dưới ảnh hưởng của NDMA.

Mô hình hồi quy logistic được sử dụng để xác định mối quan hệ giữa nồng độ gamma-glutamyl transferase và liều lượng N-nitrosodimethylamine. Biến nhị phân biểu thị mức GGT vượt quá (1) hay không vượt quá (0) giá trị trung bình của nhóm đối chứng được sử dụng làm biến phụ thuộc. Biến độc lập là liều lượng N-nitrosodimethylamine. Các tham số mô hình được ước tính bằng phương pháp ước tính độ

tin cậy tối đa (MLE). Giá trị cuối cùng của hàm mất mát là 222,73, cho thấy mô hình phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Ý nghĩa thống kê của mô hình được xây dựng được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm định Khi-bình phương (χ^2). Kết quả phân tích cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê cao: $\chi^2(1) = 20,417$ ở $p < 0,00001$ (mức ý nghĩa quan trọng $\alpha = 0,05$) (Bảng 3.14).

Bảng 3.14

Kết quả hồi quy logistic để dự đoán liều NDMA dựa trên nồng độ GGT trong máu ở chuột

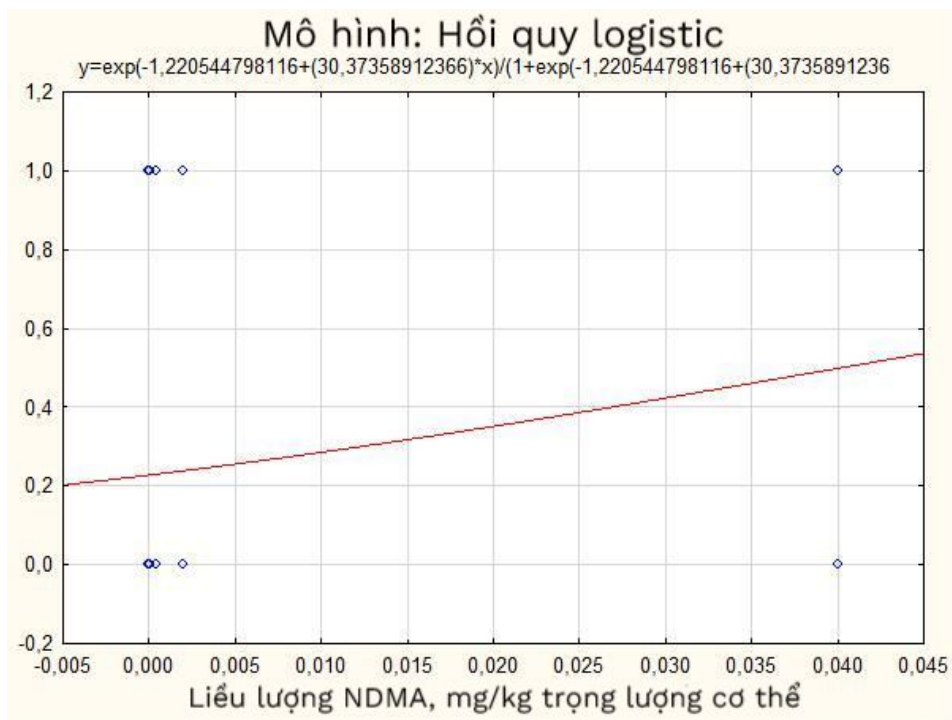
Tham số	Đánh giá	Mối quan hệ, Cơ hội (đơn vị, số đo)
B0 (Hằng số)	-1,22055	30,37359
Mức GGT trong máu	0,29507	3,37010

Ước tính các tham số mô hình cho thấy hằng số (B0) có giá trị là (-1,22), tương ứng với tỷ lệ chênh lệch (OR) là 0,295. Thực tế này cho thấy rằng ở liều lượng NDMA bằng 0, khả năng xuất hiện tác dụng giảm 0,295 lần so với mức cơ bản, cho thấy khả năng xuất hiện tác dụng tích cực khi không tiếp xúc với NDMA là thấp. Tỷ lệ chênh lệch ước tính cho liều NDMA là 30,37, tương ứng với OR là 3,37.

Dựa trên mô hình được tiến hành, có thể kết luận rằng liều lượng NDMA có tác động đáng kể đến khả năng xảy ra tác động quan sát được. Ý nghĩa thống kê cao của mô hình ($p < 0,00001$) xác nhận sự hiện diện của mối quan hệ rõ rệt giữa các tham số được nghiên cứu.

Biểu đồ trực quan về mối quan hệ giữa khả năng tiếp xúc với NDMA và mức GGT được thể hiện ở Hình 3.4.

Biểu đồ cho thấy hình dạng đường cong hình chữ S, đặc trưng của mô hình hồi quy logistic. Phân tích trực quan biểu đồ cho thấy khi nồng độ GGT tăng, khả năng xảy ra tác động liên quan đến NDMA cũng tăng theo. Xu hướng này phù hợp với giá trị dương của hệ số hồi quy và giá trị tỷ lệ chênh lệch lớn hơn một.



Hình 3.4. Mô hình (hồi quy logistic) mô tả tác động của liều lượng NDMA đến khả năng tăng nồng độ GGT trong máu chuột.

Mối quan hệ có ý nghĩa thống kê quan sát được giữa nồng độ GGT và liều NDMA cho thấy GGT có thể đóng vai trò là dấu hiệu về tác động của NDMA lên gan.

Phân tích dữ liệu được tiến hành, bao gồm việc sử dụng các phương pháp mô hình hồi quy, không cho thấy các mô hình có ý nghĩa thống kê mô tả mối quan hệ tương ứng với khả năng sinh học hợp lý giữa liều lượng N-nitrosodimethylamine và hoạt động của các enzyme AST và ALT. Điều này cho thấy không thể thiết lập mối quan hệ có ý nghĩa giữa các chỉ số này để có thể mô tả bằng mô hình hồi quy tuyến tính hoặc phi tuyến tính.

Do đó, GGT huyết thanh là một dấu ấn sinh học có ý nghĩa thống kê về tác động của xác suất tiếp xúc với NDMA.

Dữ liệu thu được cho thấy mức GGT tăng một đơn vị sẽ dẫn đến nguy cơ gặp phải tác dụng liên quan đến NDMA tăng gấp 3,37 lần, có ý nghĩa thống kê. Điều này được xác nhận bởi ý nghĩa thống kê của mô hình hồi

quy logistic ($\chi^2(1) = 20,42, p < 0,00001$), cho phép GGT được coi là một chỉ số chỉ điểm đầy hứa hẹn về đánh giá tác động của NDMA lên gan.

Ngược lại với GGT, không có mối quan hệ có ý nghĩa thống kê nào được tìm thấy giữa hoạt động của enzyme AST và ALT với liều lượng NDMA. Điều này có thể được giải thích bằng sự phức tạp của các tương tác sinh học, bao gồm các đặc điểm trao đổi chất của từng cá thể, phản ứng thích nghi của cơ thể và sự kích hoạt các cơ chế bù trừ có thể che giấu các tác động tiềm tàng. Hơn nữa, sự thay đổi quan sát được ở mức AST và ALT có thể là do sự thay đổi sinh học của từng cá thể [Calabrese và Baldwin, 2003b; Eaton và Gilbert, 2008; Andersen và Krewski, 2009; [Hernández, Parrón, Alarcón, 2011]].

Dựa trên dữ liệu thực nghiệm thu được, có thể kết luận rằng nồng độ GGT là dấu ấn sinh học cung cấp nhiều thông tin nhất để đánh giá tác động gây độc gan của NDMA. Do đó, việc sử dụng nó như một thông số quan trọng trong việc thiết lập giá trị liều tiêu chuẩn (BMDL) cho NDMA được khuyến khích.

Để đánh giá tính hữu ích của NDMA như một dấu ấn sinh học về phơi nhiễm, nồng độ NDMA trong máu ngoại vi của động vật thí nghiệm đã được phân tích sau khi tiếp xúc với các liều lượng khác nhau của chất này. Trong quá trình thử nghiệm, người ta đã xác định rằng ở nhóm đối chứng (không có NDMA), nồng độ NDMA trong máu là tối thiểu (0,00 ng/ml). Nồng độ chất này trong máu tăng lên ở nhóm dùng NDMA, với nồng độ trung bình thay đổi tùy thuộc vào liều dùng (xem Bảng 3.15).

Bảng 3.15

Nồng độ NDMA trong máu ngoại vi của động vật thí nghiệm, được xác định trong quá trình thí nghiệm kéo dài, Me [Q25; Q75], ng/ml

Nhóm động vật (liều NDMA)	Nồng độ NDMA trong máu ở nhóm thực nghiệm
Nhóm số 5 (kiểm soát)	0,00 [0,00; 0,00295]
Nhóm số 4 (0,00002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,00351 [0,00350; 0,00358]
Nhóm số 3 (0,0004 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,50525 [0,448; 0,5068]
Nhóm số 2 (0,002 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,546 [0,0; 0,613]
Nhóm số 1 (0,04 mg/kg trọng lượng cơ thể)	0,79 [0,47; 0,79]

Nồng độ NDMA trong máu của động vật thí nghiệm thay đổi từ 0,00351 [0,00350; 0,00358] đến 0,79 [0,47; 0,79] ng/ml ở nhóm thực nghiệm.

Để thiết lập mối quan hệ giữa liều lượng đưa vào và nồng độ NDMA đạt được trong máu như một dấu ấn sinh học của phơi nhiễm, phương pháp hồi quy logistic nhị phân đã được sử dụng. Biến độc lập là liều NDMA đưa vào và biến phụ thuộc là nồng độ của nó trong máu, được đo tại một thời điểm nhất định sau khi dùng.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành phân tích mối quan hệ giữa liều lượng N-nitrosodimethylamine và khả năng xảy ra kết quả nhị phân được mã hóa là “0” và “1”. Tại đây, “0” tương ứng với nồng độ NDMA trong máu thấp hơn giá trị trung bình và “1” tương ứng với nồng độ NDMA trong máu cao hơn giá trị trung bình.

Kiểm định chi bình phương được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê của mô hình. Giá trị có ý nghĩa của χ^2 đối với một bậc tự do là 3,84. Kết quả kiểm định chi bình phương ($\chi^2(1) = 4,37$; $p = 0,037$) chỉ ra mối liên hệ có ý nghĩa thống kê giữa liều NDMA đưa vào và xác suất xảy ra kết quả ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$. Các tham số mô hình được trình bày trong Bảng 3.16.

Bảng 3.16

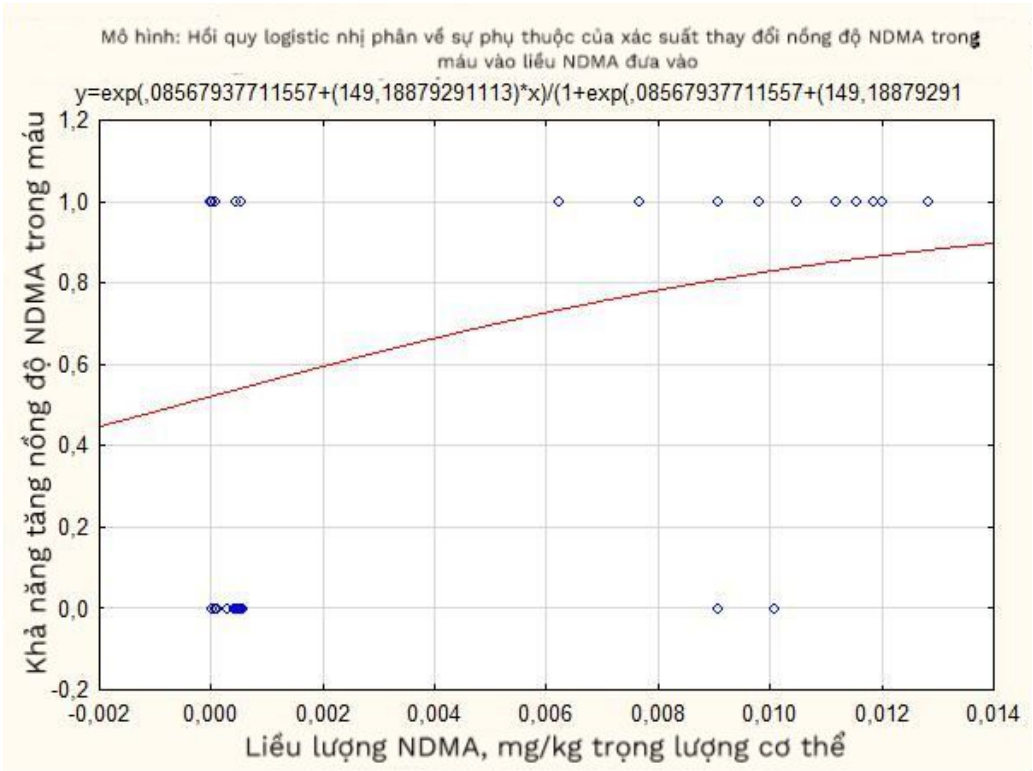
Các tham số của mô hình hồi quy logistic cho sự phụ thuộc của xác suất thay đổi mức độ NDMA trong máu của động vật thí nghiệm vào liều NDMA đầu vào

Tham số	Đánh giá	Tỷ lệ khả năng (OR)
Liều lượng NDMA (B0) đưa vào	0,085679	1,089457
Biến phụ thuộc (Nồng độ NDMA trong máu)	149,1888	6,7899

Hệ số B0 (giá trị chặn) tương ứng với điều kiện không có NDMA hấp thụ là 0,086. Tỷ lệ khả năng cho tỷ lệ khả năng này là 1,09. Do đó, thông số này không có tác động đáng kể đến biến phụ thuộc (xác suất tăng nồng độ NDMA trong máu).

Tương tự như vậy, hệ số B cho biến độc lập (liều NDMA trong máu đi vào) là 149,19 và tỷ lệ chênh lệch tương ứng là 6,79. Điều này cho thấy có mối liên hệ tích cực mạnh mẽ giữa nồng độ NDMA trong máu và tỷ lệ xảy ra biến cố 1 (xác suất tăng nồng độ NDMA trong máu).

Biểu đồ biểu diễn hồi quy logistic thu được trong quá trình nghiên cứu được trình bày ở Hình 3.5.



Hình 3.5. Đồ thị hồi quy logistic về sự phụ thuộc của xác suất thay đổi nồng độ NDMA trong máu vào liều NDMA đưa vào.

Nghiên cứu đã xác nhận sự hiện diện của mối quan hệ có ý nghĩa thống kê giữa liều lượng N-nitrosodimethylamine đưa vào và khả năng thay đổi nồng độ của chất này trong máu của động vật thí nghiệm. Kết quả phân tích chứng minh rằng việc tăng liều NDMA sẽ làm tăng khả năng vượt quá nồng độ trung bình của chất này trong máu, điều này cho thấy phản ứng của cơ thể phụ thuộc vào liều lượng rõ rệt đối với tác động của chất này.

Do đó, nồng độ NDMA trong máu có thể được coi là một dấu hiệu tiềm ẩn của tình trạng phơi nhiễm, tương tự như một chỉ số phản ánh mức độ tác động của một chất nhất định lên cơ thể.

Trong chuyên khảo này, chúng tôi sẽ xem xét các phương pháp tiếp cận và các khía cạnh thực tế của việc thiết lập mức độ phơi nhiễm tham chiếu đối với NDMA, dựa trên dữ liệu thu được về tính thông tin của GGT như một dấu ấn sinh học của độc tính với gan và nồng độ NDMA trong máu như một dấu hiệu của phơi nhiễm.

Thiết lập mức tham chiếu cho NDMA dựa trên dữ liệu sơ bộ từ một thí nghiệm độc tính trên chuột dựa trên mức GGT

Các nghiên cứu về độc tính trên mô hình động vật được sử dụng rộng rãi để xác định mức độ phơi nhiễm an toàn đối với các chất bằng cách xác định giá trị liều tiêu chuẩn (BMDL), đặc biệt là sử dụng phương pháp cửa sổ trượt. Trong các nghiên cứu này, một bước quan trọng là tính toán OR để đánh giá mối liên hệ giữa mức độ phơi nhiễm và tác dụng phụ trên toàn bộ phạm vi nồng độ chất thử nghiệm được nghiên cứu.

Phương pháp cửa sổ trượt (sliding window) liên quan đến việc xem xét tuần tự một số giả thuyết về sự tồn tại mối quan hệ giữa mức độ phơi nhiễm cụ thể và tình trạng xảy ra các vấn đề sức khỏe. Trong trường hợp này, đối với mỗi giả thuyết đang xem xét, hai nhóm được hình thành: nhóm đối chứng, bao gồm các động vật tiếp xúc với nồng độ thấp hơn nồng độ đang xem xét và nhóm thực nghiệm, bao gồm các động vật tiếp xúc với nồng độ cao hơn nồng độ đang xem xét.

Đối với mỗi giả thuyết, một đánh giá thống kê được thực hiện về sự hiện diện của mối liên hệ giữa mức độ phơi nhiễm và tác động, sử dụng tỷ lệ chênh lệch làm thước đo mối liên hệ. Các giá trị OR thu được được sử dụng để xây dựng các mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa liều lượng chất hóa học tiếp nhận và tỷ lệ chênh lệch (liều lượng - đáp ứng). Các mô hình này cho phép đánh giá định lượng nguy cơ phát triển các tác dụng phụ ở các mức độ phơi nhiễm khác nhau.

Điều quan trọng cần lưu ý là phương pháp luận này, được áp dụng trong bối cảnh đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư, đặc biệt là trong việc chứng minh các tiêu chuẩn vệ sinh, tuân thủ các yêu cầu được thiết lập trong EAEU về chứng minh các tiêu chuẩn vệ sinh đối với hàm lượng hóa chất và tác nhân sinh học trong các sản phẩm thực phẩm dựa trên tiêu chí nguy cơ sức khỏe. Điều này đảm bảo rằng kết quả nghiên cứu đáp ứng các yêu cầu quy định và có thể áp dụng vào thực tiễn thiết lập mức độ phơi nhiễm an toàn [Peto, Gray và Branton, 1991].

Để đảm bảo độ tin cậy của kết quả thu được, cần tiến hành đánh giá tính đầy đủ của các mô hình toán học đã xây dựng. Đánh giá này dựa trên ANOVA một chiều sử dụng kiểm định Fisher (F), cho phép đánh giá ý nghĩa thống kê của mô hình và khả năng mô tả đầy đủ dữ liệu quan sát được.

Khi xây dựng mô hình toán học, cần phải tính đến sự không chắc chắn của các ước tính. Với mục đích này, giới hạn tin cậy 95% được xác định cho ước tính điểm về mức độ chấp nhận được của các dấu hiệu phơi nhiễm. Các khoảng tin cậy này cho phép ước tính phạm vi của các giá trị có thể đạt được từ mức độ phơi nhiễm an toàn và tính đến tính biến động của dữ liệu.

Thiết lập mức tham chiếu cho NDMA dựa trên dữ liệu sơ bộ từ một thí nghiệm độc tính trên chuột

Kết quả của việc áp dụng phương pháp cửa sổ trượt được mô tả ở trên là một mô hình đã được xây dựng cho sự phụ thuộc xác suất thay đổi hoạt động của γ -glutamyl transferase (một dấu hiệu tác động) vào liều lượng (NDMA) (một dấu hiệu phơi nhiễm). Mô hình được tham số hóa dựa trên các giá trị OR được tính toán.

Các tham số của mô hình toán học (3.1) “phơi nhiễm - đáp ứng” (b_0 , b_1) được xác định bằng phương pháp bình phương nhỏ nhất sử dụng các gói phần mềm để phân tích dữ liệu thống kê (ví dụ: Statistica 10.0) [Phân tích nguy cơ sức khỏe trong chiến lược phát triển kinh tế - xã hội của nhà nước: Chuyên khảo].

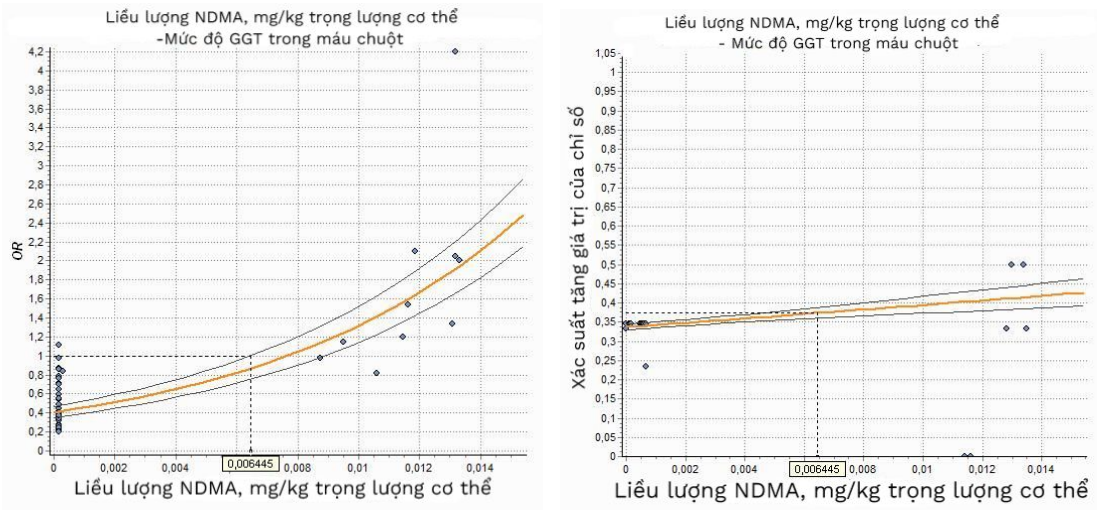
$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 x_1)}}$$

(3.1)

Trong đó:

- P – xác suất đáp ứng;
- X₁ – liều lượng, mg/kg thể trọng/ngày;
- b₀, b₁ – tham số mô hình.

Kết quả tham số hóa được trình bày trong Hình. 3.6; Các tham số mô hình được trình bày trong Bảng 3.17-3.18.



Hình. 3.6. Kết quả tham số hóa sự phụ thuộc của nồng độ GGT trong máu (dấu hiệu tác động) vào liều lượng NDMA (giá trị phơi nhiễm). Biểu đồ tỷ lệ khả năng (phải), biểu đồ xác suất (trái).

Bảng 3.17

Kết quả phân tích hồi quy tác động của liều NDMA đến nồng độ GGT trong máu (chỉ ra khả năng tăng nồng độ chất chỉ điểm sinh học)

Xác suất	Chỉ số	Chỉ số	b0	Lỗi	b1	Lỗi	F	p	R2	Mức tham chiếu
Tăng hiệu ứng sinh học	Liều lượng NDMA, mg/kg trọng lượng cơ thể	Mức độ GGT trong máu chuột	-0,6748	0,00029	24,75068	23,447	26,12657	0,00001	0,33	0,006445

Bảng 3.17 trình bày kết quả phân tích hồi quy phản ánh tác dụng của liều lượng N-nitrosodimethylamine lên nồng độ gamma-glutamyl transferase trong máu chuột. Dựa trên kết quả phân tích hồi quy, mối quan hệ có ý nghĩa thống kê đã được quan sát thấy giữa liều lượng NDMA và nồng độ GGT trong máu chuột ($p < 0,00001$). Hệ số b1 dương (24,75) chỉ ra rằng việc tăng liều NDMA có liên quan đến việc tăng nồng độ GGT. Giá trị R2 (0,33) cho thấy mô hình giải thích được 33% sự thay đổi trong mức GGT theo liều lượng NDMA. Kết quả của phân tích hồi quy đã thiết lập được mức tham chiếu cho liều NDMA là 0,006445 mg/kg trọng lượng cơ thể, trên mức này, người ta kỳ vọng rằng chỉ số sinh học về tác động sẽ tăng lên.

Bảng 3.18

Giá trị tỷ lệ chênh lệch được tính toán cho sự phụ thuộc của nồng độ GGT trong máu vào liều lượng NDMA đưa vào

OR	Chi số	Chi số	a0	a1	F	p	R2
Tăng hiệu ứng sinh học	Liều lượng NDMA, mg/kg trọng lượng cơ thể	Mức độ GGT trong máu chuột	-0,89938	117,4716	61,81866	0,00	0,36

Kết quả thu được chỉ ra mối quan hệ có ý nghĩa thống kê giữa liều lượng NDMA và sự gia tăng nồng độ GGT trong máu chuột. Giá trị thống kê F ($F = 61,82$) và giá trị p tương ứng ($p < 0,001$) chỉ ra ý nghĩa của mô hình hồi quy. Hệ số xác định ($R^2 = 0,36$) cho thấy 36% sự thay đổi trong tỷ lệ chênh lệch logarit của mức GGT tăng cao được giải thích bằng sự thay đổi trong liều NDMA.

Mô hình hồi quy logistic cho thấy mối quan hệ có ý nghĩa thống kê và tích cực giữa liều lượng NDMA và sự gia tăng nồng độ GGT trong máu chuột. Điều này chỉ ra rằng việc tăng liều NDMA có liên quan đến khả năng tăng nồng độ GGT, củng cố vai trò của nó như một dấu ấn sinh học của độc tính NDMA.

Phân tích dữ liệu từ một thí nghiệm độc tính trên động vật thí nghiệm cho thấy mối quan hệ có ý nghĩa thống kê giữa liều lượng

NDMA và những thay đổi trong hoạt động GGT trong huyết thanh (xem bảng 3.14) Mô hình bổ sung về khả năng tăng nồng độ GGT khi tiếp xúc với NDMA tăng, cũng như phân tích cửa sổ di động, đã xác nhận ý nghĩa thống kê của mối tương quan này.

Dựa trên dữ liệu thu được, giá trị liều tiêu chuẩn (BMDL) đối với NDMA được ước tính là 0,006445 mg/kg trọng lượng cơ thể. Theo các phương pháp tiếp cận về đánh giá nguy cơ được áp dụng tại các quốc gia EAEU [Eurasian Economic Commission, 2018], các yếu tố không chắc chắn sau đây đã được áp dụng nhất quán cho giá trị BMDL:

1. Hệ số ngoại suy liên loài là 10: Hệ số này tính đến sự khác biệt về độ nhạy cảm với tác động của hóa chất giữa động vật thí nghiệm và con người. Nó phản ánh sự thay đổi về đặc điểm sinh lý, chuyển hóa và dược động học giữa các loài. Việc sử dụng hệ số 10 là do cần phải đảm bảo biên độ an toàn đủ lớn, có tính đến khả năng nhạy cảm tăng lên của con người so với động vật thí nghiệm.

2. Hệ số ngoại suy từ điều kiện thử nghiệm được kiểm soát sang điều kiện tiếp xúc thực tế bằng 6: Hệ số này tính đến sự khác biệt giữa điều kiện thử nghiệm và tình huống tiếp xúc thực tế của con người. Các nghiên cứu thực nghiệm thường sử dụng liều lượng cố định, tương đối cao, trong khi trong đời thực, mức độ phơi nhiễm có thể thay đổi tùy thuộc vào nồng độ chất, ví dụ như trong thực phẩm, lối sống và thói quen cá nhân. Sự không chắc chắn liên quan đến con đường tiếp xúc cũng được tính đến: các thí nghiệm thường sử dụng một con đường tiếp xúc (ví dụ trong nghiên cứu này là đường uống), trong khi trong thực tế, một chất có thể xâm nhập vào cơ thể qua nhiều con đường khác nhau (hít phải, uống, tiếp xúc với da). Cuối cùng, hệ số này tính đến sự khác biệt về thời gian tiếp xúc: các thí nghiệm thường được tiến hành liên tục, nhưng thời gian tiếp xúc thực tế có thể không liên tục hoặc thay đổi theo thời gian. Việc lựa chọn hệ số 6 là do cần phải tính đến tính phức tạp và khả năng thay đổi của các điều kiện tiếp xúc thực tế, vốn không phải lúc nào cũng được tái tạo đầy đủ trong điều kiện thử nghiệm.

3. Hệ số 4 khi sử dụng BMDL làm điểm khởi đầu để thiết lập lượng tiêu thụ hàng ngày được chấp nhận: Hệ số này đề cập đến sự không chắc

chấn liên quan đến việc sử dụng giới hạn tin cậy dưới (BMDL) cho liều ước tính để tạo ra hiệu ứng nhất định nhằm xác định ADD. BMDL biểu thị giới hạn dưới của khoảng tin cậy cho BMD (Liều chuẩn), giúp giảm nguy cơ đánh giá thấp mức độ nguy hại. Việc sử dụng BMDL là một phương pháp bảo thủ thường tính đến những điều không chắc chắn liên quan đến việc ước tính liều lượng tạo ra một hiệu ứng nhất định, bao gồm sự thay đổi của quần thể trong phản ứng và lỗi đo lường. Việc sử dụng hệ số 4 phản ánh mong muốn cung cấp thêm biên độ an toàn khi sử dụng ước tính thống kê dựa trên lượng dữ liệu hạn chế.

4. Hệ số ngoại suy cho kết quả từ các nghiên cứu phơi nhiễm mãn tính (hệ số phơi nhiễm dưới một năm) bằng 4: Hệ số này tính đến sự không chắc chắn phát sinh khi ngoại suy kết quả từ các nghiên cứu có thời gian phơi nhiễm dưới một năm sang thời gian phơi nhiễm dài hơn (ví dụ: suốt đời). Các thí nghiệm ngắn hạn có thể không phản ánh đầy đủ những tác động dài hạn. Yếu tố 4 tính đến những thay đổi tiềm ẩn trong cơ chế độc tính, tác động tích lũy và quá trình thích ứng có thể phát triển khi tiếp xúc lâu dài.

Hệ số bất định kết hợp thu được là 960 chứng minh cho việc thiết lập ADD/RfD dựa trên giá trị BMDL thu được. Có tính đến yếu tố không chắc chắn kết hợp này, ADD/RfD đối với NDMA được đặt ở mức $6,7 \times 10^{-6}$ mg/kg trọng lượng cơ thể.

Giá trị thu được trái ngược với giá trị mà Hoa Kỳ đề xuất trước đó. EPA RfD [U.S. Environmental Protection Agency, 2007] (8×10^{-6} mg/kg trọng lượng cơ thể) có vẻ đáng tin cậy và được chứng minh rõ ràng hơn. Ưu điểm của RfD thực sự là do một số yếu tố sau:

Ứng dụng các phương pháp phân tích hiện đại: Công trình sử dụng các phương pháp phân tích hiện đại giúp tăng độ chính xác và độ nhạy trong việc xác định nồng độ NDMA. Điều này cho phép đánh giá mức độ phơi nhiễm đầy đủ hơn và do đó, giảm bớt sự không chắc chắn khi tính toán RfD.

Giảm thiểu sự không chắc chắn: Quá trình thiết lập RfD giảm thiểu sự không chắc chắn liên quan đến việc ngoại suy dữ liệu từ động vật sang con người, độ nhạy cảm của từng cá thể và các biến số khác. Điều này đạt được thông qua việc sử dụng dữ liệu đầy đủ hơn và áp dụng các

phương pháp thống kê cho phép đánh giá chính xác hơn về nguy cơ đối với dân cư.

Đánh giá chính xác hơn về mối quan hệ liều lượng-tác dụng: Một phân tích chi tiết về mối quan hệ liều lượng-tác dụng đã được thực hiện, có tính đến cả tác dụng ngưỡng và không ngưỡng của NDMA. Điều này giúp xác định chính xác hơn mức độ phơi nhiễm không gây ra nguy cơ đáng kể cho sức khỏe con người.

Do đó, liều tham chiếu của NDMA thu được trong nghiên cứu hiện tại (0,000067 mg/kg trọng lượng cơ thể) có vẻ hợp lý để ưu tiên sử dụng trong việc đánh giá rủi ro sức khỏe cộng đồng.

Phân tích mô hình hồi quy được trình bày trước đó trong chuyên khảo này cho thấy sự hiện diện của NDMA trong máu cho thấy nó xâm nhập từ bên ngoài, phù hợp với các điều kiện thực nghiệm. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng NDMA có thể được hình thành nội sinh trong cơ thể [Zaitseva, Ulanova, Nurislamova, Maltseva, 2018; Bogovsky, Wettig, 1988; Nair và cộng sự, 1996]. Trong phạm vi liều lượng được nghiên cứu, không thể xây dựng một mô hình đáng tin cậy để xác định ngưỡng nồng độ NDMA trong máu có thể được coi là dấu ấn sinh học rõ ràng về mức độ phơi nhiễm, vì sự hình thành NDMA nội sinh có thể ảnh hưởng đến mức cơ bản của hàm lượng NDMA trong máu.

Nghiên cứu đã trình bày chi tiết các đặc điểm của mối quan hệ phơi nhiễm - đáp ứng liên quan đến đánh giá nguy cơ do tiếp xúc với N-nitrosodimethylamine. Người ta đã xác nhận rằng NDMA có thể gây ra cả những tác động không có ngưỡng và những tác động chỉ xuất hiện ở một mức độ phơi nhiễm nhất định. Người ta đã xác định rằng gan là cơ quan mục tiêu chính trong quá trình phát triển các tác động không gây ung thư.

Những thay đổi trong hoạt động của enzyme trong huyết thanh được coi là dấu ấn sinh học tiềm ẩn của tác dụng phụ. Một mối quan hệ có ý nghĩa thống kê đã được thiết lập giữa mức độ phơi nhiễm NDMA và nồng độ GGT, cho thấy tiềm năng sử dụng enzyme này như một dấu ấn sinh học của độc tính gan.

Đồng thời, đối với các enzyme AST và ALT, không thấy có sự phụ thuộc rõ rệt vào liều lượng NDMA, điều này có thể là do tính phức tạp

của các quá trình sinh học. Nồng độ NDMA trong máu cho thấy phản ứng phụ thuộc vào liều lượng, khiến chúng trở thành dấu hiệu tiềm ẩn của phơi nhiễm, mặc dù khả năng hình thành NDMA nội sinh phải được xem xét.

Dựa trên phân tích, liều tham chiếu của NDMA (0,000067 mg/kg trọng lượng cơ thể) đã được đề xuất, có thể được sử dụng để đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng.

KẾT LUẬN VỀ KẾT QUẢ HỢP TÁC CHUNG NGA - VIỆT NAM NĂM 2023-2024

Trong các mốc quan trọng trong giai đoạn 2023 và 2024, một chương trình đã được triển khai thành công nhằm đào tạo và nâng cao kỹ năng cho các chuyên gia của NIFC trong việc đánh giá nguy cơ sức khỏe cộng đồng liên quan đến việc tiếp xúc với các yếu tố hóa học, cũng như trong việc sử dụng các dấu ấn sinh học về mức độ tiếp xúc và tác động để đảm bảo an toàn thực phẩm.

Năm 2023, NIFC đã tổ chức hội thảo đào tạo về phương pháp đánh giá nguy cơ, các dấu ấn sinh học về phơi nhiễm và tác động, với sự tham dự của 8 cán bộ. Ngoài ra, các hội thảo thực hành về thu thập vật liệu sinh học từ động vật thí nghiệm đã được tổ chức tại Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor. Trong khuôn khổ khóa đào tạo nâng cao, 4 cán bộ của NIFC đã thành thạo phương pháp lấy máu từ động vật thí nghiệm.

Năm 2024, chương trình đào tạo được tiếp tục: 5 cán bộ của NIFC tham gia thực tập về kỹ thuật lấy máu động vật thí nghiệm tại NIFC (thành phố Hà Nội). Chương trình tập huấn tập trung vào việc thực hành các kỹ thuật thu thập phù hợp, duy trì tiêu chuẩn vô trùng và sát trùng, đồng thời giảm thiểu căng thẳng cho động vật. Việc cải thiện những kỹ năng quan trọng này có tác động trực tiếp đến độ chính xác và khả năng tái tạo của dữ liệu thực nghiệm, mang lại kết quả nghiên cứu đáng tin cậy hơn.

Một nghiên cứu toàn diện được tiến hành trong khuôn khổ dự án Liên bang "Lá chắn vệ sinh" nhằm phát triển các thông số để đánh giá định lượng nguy cơ không gây ung thư hình thành do tiếp xúc với N-nitrosodimethylamine trong điều kiện của một thí nghiệm độc chất mãn tính đã đóng góp đáng kể vào việc hiểu các cơ chế hình thành rủi ro đối với sức khỏe cộng đồng liên quan đến việc tiếp xúc với N-nitrosamine, đặc biệt là NDMA, khi hiện diện trong sản phẩm thực phẩm.

Các thông số về mối quan hệ phơi nhiễm - đáp ứng của NDMA đã được thiết lập và mức ngưỡng NDMA đã được xác định khi đánh giá tác động của nó lên cơ quan đích chính – gan. Một mối quan hệ có ý nghĩa thống kê đã được xác định giữa hoạt động của gamma-glutamyl transferase và liều lượng NDMA, cho phép GGT được coi là một dấu ấn sinh học đầy hứa hẹn của độc tính gan. Khả năng sử dụng nồng độ NDMA trong máu làm dấu hiệu đánh giá lượng chất này hấp thụ từ bên ngoài đã được chứng minh.

Dựa trên phân tích **liều lượng - đáp ứng**, liều tham chiếu của NDMA được đề xuất có thể được sử dụng để đánh giá nguy cơ khi dùng qua đường uống. Dữ liệu thu được cung cấp cơ sở khoa học để cập nhật mức độ an toàn hiện tại trong các sản phẩm thực phẩm, có tính đến dữ liệu mới về ngưỡng phơi nhiễm và tính đặc hiệu của các dấu ấn sinh học.

Sự hợp tác quốc tế thành công với các nhà khoa học Việt Nam đã tạo điều kiện cho các nỗ lực được kết hợp để phát triển các chiến lược toàn cầu nhằm kiểm soát N-nitrosamine trong chuỗi thực phẩm. Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở vững chắc cho các nghiên cứu sâu hơn nhằm tìm hiểu cơ chế hình thành NDMA nội sinh, xác nhận các dấu ấn sinh học ở các quần thể khác nhau và phát triển các công nghệ phòng ngừa nhằm giảm hàm lượng N-nitrosamine trong các sản phẩm thực phẩm.

Vào năm 2025, dựa trên các dữ liệu thu được, dự kiến sẽ tiến hành một nghiên cứu dịch tễ học nhằm làm rõ và xác nhận các thông số độc tính được thiết lập trong khuôn khổ của công trình này.

Ý nghĩa thực tiễn của công trình này nằm ở khả năng đưa ra các tiêu chuẩn có cơ sở khoa học nhằm giảm thiểu nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng, cũng như đưa ra các khuyến nghị để phòng ngừa tác động tiêu cực của NDMA, đặc biệt là tác động gây độc cho gan liên quan đến việc tiêu thụ chất này qua đường ăn uống. Kết quả nghiên cứu được các cơ quan Rospotrebnadzor, nhà sản xuất thực phẩm và các tổ chức quốc tế tham gia đảm bảo an toàn thực phẩm quan tâm và có khả năng góp phần tăng hiệu quả của các biện pháp bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

DANH MỤC VIẾT TẮT

- ADD** (Average daily dose) – Liều dùng trung bình hàng ngày
- ADI** (Acceptable daily intake) – Lượng tiêu thụ hàng ngày chấp nhận được
- ALT** – alanin aminotransferase
- AST** – aspartat aminotransferase
- BMDL** (Benchmark dose) – mức liều tham chiếu
- CR** (Cancer risk) – Nguy cơ gây ung thư
- DNA** (Deoxyribonucleic acid) – axit deoxyribonucleic
- EAEU** (Eurasian Economic Union) – Liên minh kinh tế Á Âu
- FBSI** (Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies) – **Trung tâm khoa học Liên Bang Nga về công nghệ y học dự phòng đối với nguy cơ sức khỏe của Rospotrebnadzor** – Viện Ngân sách Liên bang về Khoa học
- GC-MS/MS** (Gas chromatography tandem mass spectrometry) – Sắc ký khí khối phổ hai lần
- GGT** – gamma-glutamyl transferase
- HI** (Hazard index) – Chỉ số nguy cơ
- HQ** (Hazard quotient) – Hệ số nguy cơ
- IARC** (International Agency for Research on Cancer) – Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế
- LADD** (Lifetime average daily dose) – Liều trung bình hàng ngày, tính trung bình trong suốt tuổi thọ trung bình dự kiến của một người
- LD50** (Median lethal dose) – Liều gây tử vong cho 50% cá thể trong nhóm thử nghiệm
- LLOD** (Lower limit of detection) – Giới hạn phát hiện thấp
- LOAEL** (lowest-observed-adverse-effect level) – Mức tối thiểu mà ở đó một tác động tiêu cực phát triển
- MRL** (Minimum risk level) – Mức độ nguy cơ tối thiểu
- NDBA** – N-nitrosodibutylamine
- NDEA** – N-nitrosodiethylamine
- NDMA** – N-nitrosodimethylamine
- NDPA** – N-nitrosodipropylamine

NDPHA – N-nitrosodiphenylamine
NIFC (National Institute for Food Control) – Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia
NMEA – N-nitrosomethylethylamine
NMOR – N-nitrosomorpholinamine
NOAEL (No-observed-adverse-effect level) – Mức tối đa mà không có tác động tiêu cực
NPIP – N-nitrosopiperidinamine
NPYR – N-nitrosopyrrolidineamine
OR (Opportunity rate) – Tỷ lệ cơ hội
RfD (Reference Dose) – liều tham khảo
RNA (Ribonucleic acid) – axit ribonucleic
SFo (Slope factor) – Yếu tố tiềm ẩn gây ung thư
SRV (Socialist Republic of Vietnam) – Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam
UF (Uncertainty factor) – Yếu tố không chắc chắn
US EPA (United States Environmental Protection Agency) – Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2023. Toxicological Profile for N-Nitrosodimethylamine (NDMA). USA, Atlanta, 231 p.

Andersen M.E., Krewski D., 2009. Toxicity testing in the 21st century: A vision and a strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B.*, Vol. 12, No. 5-6., P. 334-361. DOI: 10.1080/10937400903305260.

Anderson L.M., Giner-Sorolla A., Ebeling D., Budinger J.M., 1978. Effects of imipramine, nitrite, and dimethylnitrosamine on reproduction in mice. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.*, No. 19, P. 311-327.

Barnes J.M., Magee P.N., 1954. Some toxic properties of dimethylnitrosamine. *British Journal of Industrial Medicine*, No. 11, P. 167-174.

Bogovsky P.A., Wettig K., 1988. Hygienic aspects of the study of carcinogenic N-nitroso compounds. *Hygiene and Sanitation*, No. 4, P. 58-63.

Boniol M., Koechlin A., Boyle P., 2017. Meta-analysis of occupational exposures in the rubber manufacturing industry and risk of cancer. *Int J Epidemiol.*, Vol. 46, No. 6, P. 1940-1947. <http://doi.org/10.1093/ije/dyx146>.

Calabrese E.J., Baldwin L. A., 2003a. Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, Vol. 22, No. 8, P. 377-378. DOI: 10.1191/0960327103ht357oa.

Calabrese E.J., Baldwin L.A., 2003b. Hormesis: The Dose-Response Revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Vol. 43, No. 1, P. 175-197. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223.

Carroll E.E., 2016. Going GLP: Conducting Toxicology Studies in Compliance with Good Laboratory Practices. *US Army Med. Dep. J.*, P. 64-69.

Codex Alimentarius Commission, 2023. Risk Analysis. In: *Codex Alimentarius Commission. Procedure Guidelines. Edition twenty-eight.* Rome: FAO/WHO, 2023. – P. 100-172.

Council of Europe, 1986. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (date of access: 27.11.2024).

Cruz A., Gomes V., Landeira-Fernandez J., 2024. An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder. *Personality Neuroscience*, Vol. 7. DOI: 10.1017/pen.2023.6.

Chooi K.F., Rajendran D.B., Phang S.S., Toh H.H., 2016. The dimethylnitrosamine induced liver fibrosis model in the rat. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, No. 112., e54208.

Deveci G., Tek N.A., 2024. N-nitrosamines: a potential hazard in processed meat products. *J. Sci. Food Agric.*, Vol. 104, No. 5., P. 2551-2560. DOI: 10.1002/jsfa.13102.

Eaton D.L., Gilbert S.G., 2008. Principles of toxicology. In: Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (7th ed.). Kansas city: McGraw-Hill, P. 11-49.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk assessment of N-nitrosamines in food: EFSA-Q-2020-00665 // *EFSA Journal*. – 2023. – Vol. 21, No. 3. – 278 p. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM Panel) et al., 2023. Risk assessment of N-nitrosamines in food. *EFSA Journal*, Vol. 28, No 3, P. e07884. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7884.

Eurasian Economic Commission, 2017. Development of methodological guidelines for the establishment and justification of hygienic standards for the content of chemical impurities, biological agents in food products according to the health risk criteria. Research and development report. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/iblock/6a5/Otchet-o-NIR-1-etap.pdf>.

Eurasian Economic Commission, 2018. Methodical guidelines for establishing and substantiating hygienic standards for the content of chemical impurities and biological agents in food products according to

the criteria of risk to human health. URL: <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/3ae/MU-po-ustanovleniyu-i-obosnovaniyu-gigienicheskikh-normativov.pdf>.

Federal Scientific Center of Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 2024. Methodological aspects of risk assessment and its evolution under the impact on health of heterogeneous factors of habitat, conditions and lifestyle. In the book: Health Risk Analysis in the Strategy of State Socio-Economic Development: Monography. In 2 volumes. – 2nd edition, revised and supplemented. – Moscow – Perm – P. 63-227. – EDN UKGYGL.

Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2023. R.2.1.10.3968-23. Guidelines for the assessment of public health risk from exposure to chemicals polluting the environment. – Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 221 pp.

Gaidai E.A., Gaidai D.S., 2019. Genetic diversity of experimental mice and rats: history of origin, methods of obtaining and control. Laboratory Animals for Scientific Research, No. 4, P. 78-85.

Gao J. et al., 2017. High CYP2E1 activity correlates with hepatofibrogenesis induced by nitrosamines. Oncotarget, Vol. 8, No 68., P. 112199–112210. DOI:10.18632/oncotarget.22937.

Hernández A.F., Parrón T., Alarcón R., 2011. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. Toxicology, Vol. 280, No. 1-2, P. 1-11. DOI: 10.1016/j.tox.2010.11.008.

Hidajat M., McElvenny D.M., Ritchie P., Darnton A., Mueller W., van Tongeren M., Agius R.M., Cherrie J.W., de Voch F., 2019. Lifetime exposure to rubber dusts, fumes and N-nitrosamines and cancer mortality in a cohort of British rubber workers with 49 years follow-up. Occup. Environ. Med., Vol. 76, No. 4, P. 250-258. <http://doi.org/10.1136/oemed-2018-105181>.

Kogure K., Ishizaki M., Nemoto M., Kuwano H., Makuuchi M., 1999. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. J. Hepatobiliary Pancreat. Surg., No. 6., P. 171-175.

Khanna S.D., Puri D., 1966. The hepatotoxic effects of dimethylnitrosamine in the rat. *Journal of Pathology and Bacteriology*, No. 91, P. 605-608.

Lathouri M., Korre A., Dusinska M., Durucan S., 2022. Human Health hazard assessment strategy for amine emissions around PCC facilities. Deliverable D3.3. Trondheim, Norway: Sustainable OPERATION of post-combustion Capture plants (SCOPE), 67 p.

Le Thi Hong Hao, Dang Thu Nien, Cao-Son Tran et al., 2022. Heterocyclic amines detected in cooked meats and fishes from street markets and restaurants in the city of Hanoi, Vietnam: A Pilot local field investigation findings in 2020. *Toxicology Reports*, No. 9, P. 1523-1527. DOI: 10.1016/j.toxrep.2022.07.004.

Lebedeva-Nesevrya N.A., Le Thi Hong Hao, Barg A.O. et al., 2019. A comparative study of food consumption patterns among children younger than three years of age in Russia and Vietnam. *Health Risk Analysis*, No. 4, P. 77-83. DOI: 10.21668/health.risk/2019.4.08.eng.

Lee H., 2024. Dietary exposure assessment for volatile N-nitrosamines from food and beverages for the U.S. population. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, No. 41, P. 1-12. doi: 10.1080/19440049.2024.2398704.

Lijinsky W., Reuber M.D., 1984. Carcinogenesis in rats nitrosodimethylamine and other nitrosomethylalkylamines at low doses. *Cancer Lett.*, No. 22, P. 83-88.

Liteplo R.G., Meek M.E., 2001. N-nitrosodimethylamine: hazard characterization and exposure-response analysis. *Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, Vol. 19, No. 1, P. 281-304, DOI: 10.1081/GNC-100103588.

Maduagwu E.N., Bassir O., 1980. A comparative assessment of toxic effects of dimethylnitrosamine in six different species. *Toxicology and Applied Pharmacology*, No. 53, P. 211-219. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90421-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90421-4).

Moniuszko-Jakoniuk J., Roszczenko A., Dzieciol J., 1999. Influence of low concentrations of N-nitrosodimethylamine on the iron

level and histopathological picture of rats liver, spleen and bone marrow. *Acta Pol Toxicol.*, Vol. 7, No. 2, P. 179-186.

Muzhikian A.A., Zaikin K.O., Gushchin Y.A., Makarova M.N., Makarov V.G., 2017. Comparative morphology of the liver and gallbladder of humans and laboratory animals. *International Veterinary Gazette*, No. 4, P. 117-127.

Nair J., Ohshima H., Nair U.J., Bartsch H., 1996. Endogenous formation of nitrosamines and oxidative DNA-damaging agents in tobacco users. *Crit. Rev. Toxicol.*, Vol. 26, No. 2, P. 149-161. DOI: 10.3109/10408449609017928.

OECD, 2018. Test No. 452: Chronic Toxicity Studies. In: *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, Section 4. DOI: 10.1787/9789264071209-en.

Özbay S., Şireli U., 2021. The effect of ascorbic acid, storage period and packaging material on the formation of volatile N-nitrosamine in sausages. *Journal of Food Science and Technology*, No. 59. doi: 10.1007/s13197-021-05194-2.

Park J.-E., Seo J.-E., Lee J.-Y., Kwon H., 2015. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicological research*, No. 31, P. 279-288. doi: 10.5487/TR.2015.31.3.279.

Patterson J., Boateng J., Walker L.T., Verghese M., 2012. Cytotoxic Effects of Multiple N-nitrosamines in Human Liver Cell Line Hep2G: Possible Mechanisms of Action. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2012, No. 7, P. 114-127.

Peto R., Gray R., Brantom P., Grasso P., 1991. Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study. *Cancer Res.*, No. 51, P. 6415-6451.

Reuber M.D., Lee C.W., 1968. Effect of age and sex on hepatic lesions in Buffalo strain rats ingesting diethylnitrosamine. *Journal of the National Cancer Institute*, No. 41, P. 1133-1140.

Roszczenko A., Jablonski J., Moniuszko-Jakoniuk J., 1996. Effect of N-nitrosodimethylamine (NDMA) on activity of selected enzymes in blood serum of the rat. *Medycyna Pracy*, 1996, No. 47, P. 49-53.

Semakova A.P., Germanchuk V.G., Shavina N.Yu., 2021. Modern approach to quality assessment of laboratory animals used for experimental purposes. Public health and habitat. - ZniSO, No. 2, P. 84-90. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-332-2-84-90>.

Shagidulin M., Volkova E., Metelsky S., Sevastyanov V., 2017. Experience in organizing and conducting experimental research at the Federal National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs named after Academician V.I. Shumakov. Bulletin of Transplantology and Artificial Organs, Vol. 19, No. 4, P. 104-112. DOI: <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-4-104-112>.

Sheweita S.A., Mostafa M.H., 1996. N-Nitrosamines and their effects on the level of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in the liver of male mice. Cancer Lett., Vol. 99, No 1., P. 29–34. DOI:10.1016/0304-3835(95)04034-X.

Shur P.Z., Suvorov D.V., Zemlyanova M.A., Zelenkin S.E. Specifying the permissible daily exposure to N-nitrosamines by alimentary intake with food using experimental studies. 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference – SGEM 2020: Conference Proceedings, Vienna, Austria, December 08-11, 2020. Issue 6.2. – Vienna, Austria: Limited Liability Company STEF92 Technology, 2020. – P. 387-394. – DOI 10.5593/sgem2020V/6.2/s12.47. – EDN QX AQAM.

Shur P.Z. et al., 2022. Experience of Russian-Vietnamese cooperation in the field of development of chemical safety of food products: monography; ed. by A.Yu. Popova, ed. by N.V. Zaitseva, V.B. Alekseev, Le Thi Hong Hao. – Perm: Publishing house of Perm National Research Polytechnic University, 279 p.

Suvorov D.V. et al., 2023. Assessment of health risk associated with the content of priority potentially hazardous components identified in canned meat and canned meats intended for the nutrition of young children. Nutrition Issues. Vol. 92, No. 4 (548), P. 38-48. – DOI 10.33029/0042-8833-2023-92-4-38-48. – EDN DQDUFJ.

Suvorov D.V., Shur P.Z., Zelenkin S.E., 2024. On the issue of determining the allowable daily dose of the total amount of N-nitrosamines for infants. *Health Risk Analysis*, No. 4, P. 72-80. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.07.

U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017. *Toxicological Profile for N-Nitrosodiphenylamine*. – 113 p.

U.S. Department of Health and Human Services, 2021. N-Nitrosamines: 15 listings. In: *Report on carcinogens*. 15th ed. National Toxicology Program. URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/nitrosamines.pdf>.

U.S. Environmental Protection Agency, 1987. N-Nitrosodimethylamine; CASRN 62-75-9. Chemical assessment summary. Integrated Risk Information. URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0045_summary.pdf (date of access: 26.11.2024).

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

Usunomena U., Ademuyiwa A.J., Tinuade O.O., Uduenewo F.E., Martin O., Okolie N.P., 2012. N-nitrosodimethylamine (NDMA), Liver Function Enzymes, Renal Function Parameters and Oxidative Stress Parameters: A Review. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, Vol. 3, No. 4, P. 165-176.

Wei W., Liu A., Liu M., Li M., Wu X., Qin C. et al., 2024. Development of an animal model of hypothyroxinemia during pregnancy in Wistar rats. *Animal Models and Experimental Medicine*. DOI: 10.1002/ame2.12459.

Wong H.L., Murphy S.E., Wang M., Hecht S.S., 2003. Comparative metabolism of N-nitrosopiperidine and N-nitrosopyrrolidine by rat liver and esophageal microsomes and cytochrome P450 2A3. *Carcinogenesis*, Vol. 24, No 2, P. 291-300. DOI: 10.1093/carcin/24.2.291.

Zaitseva N.V., Ulanova T.S., Nuryslamova T.V., Popova N.A., Maltseva O.A., 2018. Quantitative indicators of nitrate in urine and

N-nitrosodimethylamine in blood as markers of oral exposure to nitrate from drinking water. Hygiene and Sanitation, Vol. 97, No. 11, P. 1087-1092. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1087-92>.

Zemlyanova M.A., Dolgikh O.V., 2010. Biomarkers of effect as indicators and criteria of the impact of anthropogenic chemical factors of environmental and industrial environment on health. Public Health and Habitat – ZniSO, No. 11, P. 31-33.

ОПЫТ РОССИЙСКО-ВЬЕТНАМСКОГО СОТРУДНИЧЕСТВА В ОБЛАСТИ РАЗВИТИЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ В 2023-2024 ГГ.

Монография

Редактор А.Ю. Попова
Ответственные редакторы Н.В. Зайцева,
В.Б. Алексеев, П.З. Шур, Le Thi Hong Nao

Художественное оформление обложки А.В. Белорусовой
Корректор А.П. Маркова
Компьютерная верстка Е.И. Галиевой

Подписано в печать _____ Формат 70х100¹/₁₆.
Усл. печ. л. 26. Гарнитура Times New Roman. Заказ № 968/1. Тираж 41 экз.

Сверстано и отпечатано в ООО «Издательский дом
«Типография купца Тарасова», г. Пермь, ул. Пушкина, 27,
тел.: 8 (342) 212-44-53, 212-94-96. E-mail: domtarasova@inbox.ru