

Шур П.З.<sup>1,2</sup>, Суворов Д.В.<sup>1,2</sup>, Землянова М.А.<sup>1</sup>, Нурисламова Т.В.<sup>1</sup>

## Экспериментальное обоснование параметров токсичности N-нитрозоаминов при поступлении с пищевыми продуктами для детей раннего возраста по критериям риска здоровью

<sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера», 614990, Пермь

**Введение.** Воздействие нитрозоаминов, поступающих с пищевыми продуктами, заключается как в общетоксическом влиянии на организм, так и в появлении специфических и отдаленных эффектов (аллергическое, мутагенное, тератогенное или канцерогенное воздействие). Нитрозоамины, содержащиеся в продуктах, предназначенных для питания детей раннего возраста, относятся к приоритетным для нормирования по критериям риска здоровью.

**Материал и методы.** Оценка воздействия химических веществ в мясных консервах для детского питания детей раннего возраста проводили на 120 белых крысах линии Wistar. В качестве исследуемого продукта использованы мясные консервы, где N-нитрозоамины присутствовали в минимальной и максимальной концентрациях. Для максимального приближения эксперимента к реальным условиям возраст крыс сопоставлен с возрастом человека.

**Результаты.** В результате кормления экспериментальных групп лабораторных животных мясными консервами, содержащими N-нитрозоамины, в течение 28 дней получены значительные различия в уровне АСТ, АЛТ, ГГТ в крови между интактной и опытными группами. По итогу исследования установлен NOAEL на уровне 0,00064 мг/кг в день. На основании результатов эксперимента с целью определения недействующей дозы N-нитрозоаминов, поступающих с мясными консервами, предназначенными для детей раннего возраста, проведено математическое моделирование зависимости «доза-эффект». В ходе моделирования установлены достоверные причинно-следственные связи между уровнем контаминации суммы N-нитрозоаминов в мясных консервах и повышением значений биомаркеров гепатотоксичности. Из всех контрольных уровней, полученных во время моделирования зависимости «доза-эффект», выбран наименьший уровень, равный 0,00063 мг/кг в день.

**Заключение.** Полученная реперная доза (0,00063 мг/кг) для суммы N-нитрозоаминов при пероральном поступлении с мясными консервами, предназначенными для питания детей раннего возраста, может служить отправной точкой при установлении ДСД и МДУ содержания суммы N-нитрозоаминов в исследуемых пищевых продуктах.

**К л ю ч е в ы е с л о в а :** N-нитрозоамины; пищевые продукты для детей раннего возраста; эксперимент; недействующий уровень.

**Для цитирования:** Шур П.З., Суворов Д.В., Землянова М.А., Нурисламова Т.В. Экспериментальное обоснование параметров токсичности N-нитрозоаминов при поступлении с пищевыми продуктами для детей раннего возраста по критериям риска здоровью. Гигиена и санитария. 2020; 99 (8): 848-853. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-8-848-853>

**Для корреспонденции:** Суворов Дмитрий Владимирович, младший научный сотрудник отдела анализа риска здоровью, аспирант ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь. E-mail: suvorov@fcrisk.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

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

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Суворов Д.В., Землянова М.А.; сбор и обработка материала – Суворов Д.В., Нурисламова Т.В.; статистическая обработка – Суворов Д.В.; написание текста – Суворов Д.В.; редактирование – Шур П.З.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Поступила 30.04.2020

Принята к печати 29.07.2020

Опубликована 11.09.2020

Pavel Z. Shur<sup>1,2</sup>, Dmitry V. Suvorov<sup>1,2</sup>, Marina A. Zemlyanova<sup>1</sup>, Tatyana V. Nurislamova<sup>1</sup>

## Experimental study of the toxicity of N-nitrosoamines when entering with food products for infants

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

<sup>2</sup>E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, 614000, Russian Federation

**Introduction.** Nitrosamines that are introduced with food produce both general toxic effects on a body and specific and remote ones (allergic, mutagenic, teratogenic, or carcinogenic effects). Nitrosamines that occurred in food products aimed for infants nutrition are priority contaminants for working out standard as per health risk criteria.

**Data and methods.** We assessed impacts exerted by chemicals contained in canned meat for babies on 120 white Wistar rats. Our examined product was canned meat with N-nitrosamines in their minimum and maximum concentrations. For an approximation of the experiment to real conditions as it was only possible, we took rats with their age being comparable to that of human babies.

**Results.** Laboratory animals from test groups were fed with canned meat that contained N-nitrosamines for 28 days. As a result, we detected significant discrepancies in AAT, ALT, and GGT levels in blood between an intact group and test ones. We established NOAEL to be equal to 0.00064 mg/kg a day. We also conducted an experiment aimed at determining the benchmark dose level (BDML) for N-nitrosamines

introduced with canned meat for babies and applied its results to perform mathematic modeling for “dose – effect” dependence. This modeling allowed establishing authentic cause-and-effect relations between canned meat contamination with a total of N-nitrosoamines and increased values of hepatotoxicity markers. We chose the lowest level out of all the control ones obtained via “dose – effect” dependence modeling; it was equal to 0.00063 mg/kg a day.

**Conclusion.** Obtained reference dose (0.00063 mg/kg) for a total of N-nitrosoamines introduced with canned meat for babies can be a starting point for determining MDM and MPL of total N-nitrosoamines in examined food products

**К е y w o r d s :** N-nitrosoamines; food products for young children; experiment; invalid level.

**For citation:** Shur P.Z., Suvorov D.V., Zemlyanova M.A., Nurislamova T.V. Experimental study of the toxicity of N-nitrosoamines when entering with food products for infants. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99 (8): 848–853. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-8-848-853> (In Russ.)

**For correspondence:** Dmitrii V. Suvorov, junior researcher at health risk analysis department, post-graduate student, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: [suvorov@fcrisk.ru](mailto:suvorov@fcrisk.ru)

#### Information about the authors:

Shur P.Z., <https://orcid.org/0000-0001-5171-3105>; Suvorov D.V., <https://orcid.org/0000-0002-3594-2650>

Zemlyanova M.A., <https://orcid.org/0000-0002-8013-9613>; Nurislamova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-2344-3037>

**Acknowledgment.** The study had no financial sponsorship

**Conflict of Interest.** The authors of the article have no conflict of interest.

**Contribution:** Suvorov D.V. – research concept and design, data collection and processing, statistical processing, writing the text; Zemlyanova M.A. – research concept and design data collection and processing by Suvorov D.V.; Nurislamova T.V. – data collection and processing. Shur P.Z. – editing. All authors approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article

Received: April 30, 2020

Accepted: July 29, 2020

Published: September 11, 2020

## Введение

Основными регулирующими документами по содержанию различных загрязнителей в пищевой продукции в РФ являются Технические регламенты Таможенного союза (ТР ТС), в которых установлено более 12 тыс. нормативов содержания веществ в пищевых продуктах. Однако присутствие ряда загрязнителей в пищевых продуктах недопустимо, для них установлены нормативы на уровне нижнего предела определения (НПО). К таким относятся, например, N-нитрозоамины в мясных консервах для детского питания для детей раннего возраста. В Техническом регламенте Таможенного союза<sup>1</sup> запрет содержания в мясных консервах для детского питания для детей раннего возраста распространяется на сумму нитрозодиметиламина (НДМА) и нитрозодиэтиламина (НДЭА), как веществ, относящихся к классам 2А и 2В по классификации Международного агентства по изучению рака (МАИР) и с учётом НПО, равного 0,001 мг/кг.

Однако числовое значение НПО установлено на базе химико-аналитической идентификации нитрозоаминов флуориметрическим хемилюминисцентным методом определения летучих N-нитрозоаминов<sup>2</sup>. В связи с совершенствованием и разработкой более чувствительных методов определения химических загрязнителей в пищевой продукции, например, хромато-масс-спектрометрическим методом<sup>3</sup>, необходимо обоснование величин таких нормативов, в том числе по критериям риска здоровью.

Нитрозоамины, содержащиеся в продуктах, предназначенных для питания детей раннего возраста, относятся к приоритетным для нормирования по критериям риска здоровью. Обоснование приоритетности производили с использованием следующих критериев: частота идентификации химических веществ в пищевых продуктах, степень опасности

для здоровья (негативные эффекты), способность вещества к кумуляции, наличие или отсутствие показателя безопасности, наличие или отсутствие обоснованности отечественного норматива по критериям риска здоровью [1].

Воздействие N-нитрозоаминов, поступающих с пищевыми продуктами, заключается как в общетоксическом влиянии на организм, так и в появлении специфических и отдалённых эффектов (аллергенное, мутагенное, тератогенное или канцерогенное действие). Нитрозоамины являются высокотоксичными соединениями, способными кумулироваться в пищевых продуктах. При попадании в организм они оказывают патологическое воздействие на печень, почки, желудок, пищевод и др. [2–7].

У детей, вследствие незрелой ферментной системы, существует высокий риск всасывания и токсического действия различных токсинов. У детей раннего возраста функционально незрелая печень, что проявляется в виде плохо развитых антиоксидантных и экзокринных функций. Из этого следует, что печёночные ферменты, как правило, менее активны у детей раннего возраста по сравнению со взрослыми [8]. Следовательно, детоксикация и выведение химических веществ происходит медленно.

Целью настоящих исследований явилось экспериментальное обоснование параметров токсичности N-нитрозоаминов при поступлении с пищевыми продуктами для детей раннего возраста по критериям риска здоровью.

## Материал и методы

Изучение биологических эффектов проводили на крысах с возраста 4 нед обоих полов стока Вистар (по 60 особей каждой группы) с исходной массой тела  $100 \pm 5$  г, которые получены из специализированного питомника. Для адекватного проведения эксперимента возраст животных максимально возможно сопоставляли с возрастом человека. После 5-дневного карантина крысы были рандомизированно разделены на 4 группы (по 30 крыс в каждой группе с равным количеством самцов и самок) для формирования различной дозовой нагрузки суммы N-нитрозоаминов. Крыс содержали в стандартных клетках типа Т/4В по 5 голов, при стандартных условиях вивария (температура  $21 \pm 3$  °С при относительной влажности воздуха  $47 \pm 2\%$ ).

Объектами исследования являлись детские консервы из мяса для детского питания, содержащие сумму N-нитрозоаминов (НДМА, НМЭА, НДБА, НДПА, НДЭА), обнаруженных хромато-масс-спектрометрическим методом.

<sup>1</sup> Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011) [Электронный ресурс]. URL: <http://www.eurasiancommission.org/ru/act/techreg/dep-texreg/tr/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf> (дата обращения: 20.03.2019).

<sup>2</sup> Определение летучих N-нитрозоаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах. Методические указания по методам контроля. М. Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1993. 16 с.

<sup>3</sup> МУК 4.1.3588-19 «Методика измерений содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозамин, N-метилэтилнитрозамин, N-диэтилнитрозамин, N-дипропилнитрозамин, N-дибутилнитрозамин, N-пиперидиннитрозамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) хромато-масс-спектрометрическим методом».

В исследовании использовали мясные консервы одной партии, содержащие наименьшее количество N-нитрозоаминов, и консервы, содержащие наибольшее количество N-нитрозоаминов. Мясные консервы, предназначенные для детского питания для детей раннего возраста, использовали в соответствии с нормами потребления, характерными для детей возраста от шести месяцев до одного года. Для детей возраста от года до трех лет объёмы потребления рассчитывали на основании социологического опроса, так как для детей этого возраста в «Национальной программе оптимизации питания детей в возрасте от 1 года до 3 лет в Российской Федерации» отсутствуют данные о количественном потреблении мясных консервов. В то же время в документе Комиссии Codex Alimentarius («Совместная программа ФАО/ВОЗ по стандартам на пищевые продукты Комиссии Codex Alimentarius «Руководство по процедуре». Двадцать пятое издание (2017 г.)») имеются сведения о том, что оценка риска должна основываться на реалистичных сценариях экспозиции (то есть фактическом потреблении продукта). Для сохранения сбалансированного питания в рацион животных также вводили сублимированный корм, предназначенный для грызунов, который также был проанализирован на содержание N-нитрозоаминов.

Согласно сценарию эксперимента интактных крыс использовали в качестве контроля, они получали только гранулированный корм. Другие группы (1-я, 2-я, 3-я), помимо гранулированного корма, получали мясные консервы для детского питания для детей раннего возраста. Так, в рацион 1-й группы входили консервы, содержащие наименьшее количество суммы N-нитрозоаминов (в соответствии с данными исследований образцов); в рацион 2-й группы – консервы (в соответствии с данными исследований образцов), содержащие наибольшее количество суммы N-нитрозоаминов; 3-я группа получала в 2 раза больше консервов с высоким содержанием N-нитрозоаминов, чем 2-я группа.

Кормление животных проводили с учётом плана эксперимента, а также с учётом существующих норм по кормлению лабораторных животных (суточный объём от 20 до 40 г в зависимости от возраста) [9]. Животных кормили 2 раза в сутки: утром животные получали детское питание, за исключением интактной группы (она получала гранулированный корм в соответствии с условиями эксперимента); вечером – гранулированный корм.

Содержание, уход и кормление лабораторных животных проводили с использованием рекомендаций Американской ассоциации лабораторных животных [10], а также с применением Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях [11]. Кроме того, лабораторных животных содержали в соответствии с гармонизированными с международными стандартами требованиями к использованию в исследованиях лабораторных животных, соответствующим принципам надлежащей лабораторной практики (GLP) [9].

Для расчёта объёмов кормления мясными консервами и обобщающего анализа использовали данные о физиологических возрастных периодах и их границах для животных и человека [9, 12, 13].

В течение эксперимента проводили отбор проб крови для возможного выявления отклонений в критических органах и системах до и после кормления мясными консервами для детского питания.

С целью выявления зависимости между поступлением N-нитрозоаминов с пищевыми продуктами и вероятными эффектами со стороны печени, выбранной в качестве органа-мишени, у животных определяли биохимические показатели: ГГТ, АЛат, АСаТ. В качестве биомаркеров гепатотоксичности выбраны на основании литературных данных (в том числе и при низких дозах воздействия химических

контаминантов), а также с использованием данных отчёта по оценке риска воздействия приоритетных веществ<sup>4,5</sup> [14–18].

Определение содержания уровня АСаТ и АЛат в крови лабораторных животных проводили кинетическим УФ-методом [19]. Определение гамма-глутамилтрансферазы в крови лабораторных животных проводили кинетическим фотометрическим тестом в соответствии с методикой Зейца/Персиджина [20].

Длительность всего эксперимента составляла 180 дней. Кормление животных мясными консервами для детского питания для детей раннего возраста, содержащими выявленные N-нитрозоамины, проводилось в течение 28 дней. Период кормления животных устанавливался с учётом соотношения возрастов экспериментальных животных и человека. По окончании экспериментального периода крыс всех групп декапитуировали после применения диэтилового эфира в качестве анестетика, и образцы крови натошак собирали в пробирки с гепарином. Образцы плазмы получали центрифугированием при 4000 об./мин в течение 20 мин и хранили при –80 °С до использования.

Установление реперного уровня (BMDL) проводилось в соответствии с методическими рекомендациями МР 2.1.10.0062-12 «Количественная оценка неканцерогенного риска при воздействии химических веществ на основе построения эволюционных моделей»<sup>6</sup>.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 6.0, результаты представлены в виде «взвешенное среднее значение».

Статистический анализ результатов проводили с использованием непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни для определения каких-либо существенных различий между группами (уровень значимости был установлен на уровне  $p < 0,05$ ),  $\pm$  стандартная ошибка ( $M \pm m$ ), медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха ( $Q_{25}–Q_{75}$ ).

## Результаты

Для сопоставления возраста животных с возрастом человека учтены особенности развития животных. Так, по данным некоторых авторов, введение прикорма начинается на 18-й день жизни животного, что эквивалентно возрасту человека 6 мес [16, 21]. Лабораторные животные живут в среднем 3 года [22], в то время как продолжительность жизни людей во всём мире составляет около 80 лет в разных странах в соответствии с их социально-экономическими условиями [23]. Таким образом, один человеческий год почти равен двум крысиным неделям (13,8 дня жизни крыс) при корреляции всей продолжительности жизни животного [18, 19]. Животных кормили мясными консервами, предназначенными для детей раннего возраста, в течение 28 дней, что для человека эквивалентно прикорму продолжительностью примерно 2,5 года в соответствии с требованиями Национальных программ по оптимизации вскармливания детей в Российской Федерации<sup>7,8</sup>.

Принятые нормы потребления мясных консервов для детского питания для детей раннего возраста с 6 до 12 мес устанавливали на основании «Национальной программы

<sup>4</sup> Biomarkers and risk assessment. Conceptions and reasons. WHO, Geneva, 1995.

<sup>5</sup> Priority substances list assessment report. N-nitrosodimethylamine (NDMA). – Canadian Environmental Protection Act, 1999.

<sup>6</sup> Количественная оценка неканцерогенного риска при воздействии химических веществ на основе построения эволюционных моделей. Методические рекомендации МР 2.1.10.0062-12. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2012

<sup>7</sup> Национальная программа по оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации. М.: Союз педиатров России, 2011. 68 с.

<sup>8</sup> Национальная программа оптимизации питания детей в возрасте от 1 года до 3 лет в Российской Федерации. Союз педиатров России [и др.]. 2-е изд., испр. и доп. М.: ПедиатрЪ, 2016. 36 с.

Таблица 1

**Содержание N-нитрозоаминов (мг/кг), выявленных хромато-масс-спектрометрическим методом, в мясных консервах, предназначенных для кормления детей раннего возраста**

Мясные консервы для детского питания*	НДМА	НМЭА	НДБА	НДПА	НДЭА
Продукт с минимальным содержанием	0,0013 ± 0,0003	0,0013 ± 0,0001	0,002 ± 0,0005	0,0031 ± 0,0003	Не обнаружено
Продукт с максимальным содержанием	0,002 ± 0,0003	0,0026 ± 0,0001	0,001 ± 0,0005	0,0052 ± 0,0003	Не обнаружено

Примечание. \* При нижнем пределе определения N-нитрозоаминов в мясных консервах, предназначенных для питания детей раннего возраста, от 0,0002 до 0,0016 мг/кг.

по оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации», а от 1 года до 3 лет – на основании социологического опроса, так как для детей этого возраста в «Национальной программе оптимизации питания детей в возрасте от 1 года до 3 лет в Российской Федерации» отсутствуют данные о количественном потреблении мясных консервов. Содержание суммы N-нитрозоаминов в гранулированном корме для грызунов, который использовали как основу рациона в эксперименте, составило 0,0099 ± 0,001 мг/кг, что учитывалось в ходе эксперимента.

По результатам химического анализа мясных консервов для питания детей раннего возраста хромато-масс-спектрометрическим методом с нижним пределом определения 0,0002 мг/кг выявлены 4 нитрозосоединения: N-нитрозодиметиламин (НДМА), N-нитрозодибутиламин (НДБА), N-нитрозодипропиламин (НДПА), N-нитрозометилэтиламин (НМЭА) [24, 25].

В качестве исследуемого продукта использованы мясные консервы, где N-нитрозоамины присутствовали в минимальной и максимальной концентрациях. Данные о концентрациях представлены в табл. 1.

Для полноценного питания грызунов, помимо мясных консервов, предназначенных для питания детей раннего возраста, в рацион включали гранулированный корм для грызунов, который также анализировали на содержание N-нитрозоаминов, что в последующем учитывали для оценки возможного негативного влияния N-нитрозоаминов на организм лабораторных животных (табл. 2).

В ходе эксперимента рацион животных различался в зависимости от группы.

Интактная группа – в рацион питания входил только гранулированный корм; для 1-й опытной группы – гранулированный корм и мясное пюре, предназначенное для питания детей раннего возраста, с содержанием суммы N-нитрозоаминов 0,0077 мг/кг; в рацион 2-й опытной группы, помимо гранулированного корма, входило мясное пюре с содержанием суммы N-нитрозоаминов 0,011 мг/кг. Для получения более широкого диапазона индивидуальных доз 3-я опытная группа употребляла мясные консервы, содержащие сумму N-нитрозоаминов в количестве

Таблица 2

**Суточное потребление мясных консервов (кг/день) в эксперименте (с учётом основного кормления гранулированным кормом) в зависимости от возраста животных**

Неделя	Расход гранулированного корма	1-я опытная группа		Расход гранулированного корма	3-я опытная группа
		мясные консервы			
1	0,027	0,0011	0,0011	0,025	0,0020
2	0,030	0,0012	0,0012	0,028	0,0024
3	0,040	0,0042	0,0042	0,032	0,0080
4	0,040	0,0040	0,0040	0,033	0,0080

0,011 мг/кг, в объёме, превышающем рекомендованную суточную потребность в 2 раза, при этом общий объём кормления соответствовал нормам потребления животными.

На основании данных о концентрациях N-нитрозоаминов рассчитаны суточные дозы поступления для каждой группы животных, которые составили в среднем: для 1-й опытной группы 0,00064 ± 0,00002; для 2-й опытной группы 0,00068 ± 0,00003; для 3-й опытной группы до 0,00072 ± 0,00002 мг/кг массы тела.

Результаты экспериментальных исследований используются в гигиеническом нормировании, в первую очередь, в качестве отправных точек при обосновании допустимых суточных доз (ДСД) и максимальных допустимых уровней (МДУ).

Анализ биомаркеров гепатотоксичности до введения мясных консервов в рацион инбредных животных не показал существенных различий между интактными и экспериментальными группами (табл. 3).

В результате кормления экспериментальных групп лабораторных животных мясными консервами, содержащими N-нитрозоамины, в течение 28 дней для детей младшего возраста получены значительные различия в уровне АСТ, АЛТ, ГГТ в крови между интактной и 2-й и 3-й опытными группами (данные статистического анализа различий биомаркеров гепатотоксичности у лабораторных животных интактных и опытных групп получены при критическом значении U-критерия, равном 56, при  $p \leq 0,05$ ). Однако между 1-й опытной группой, получавшей N-нитрозоамины в дозе 0,00064 ± 0,00009 мг/кг массы тела, и интактными животными значимых различий не выявлено (табл. 4).

Таблица 3

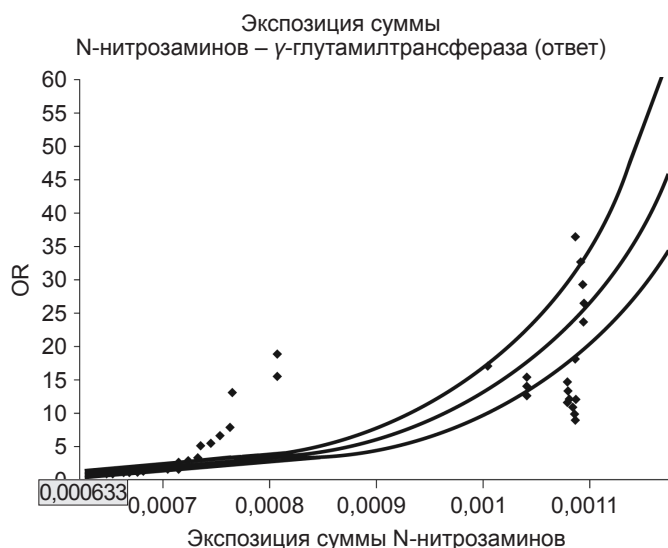
**Значения биомаркеров гепатотоксичности у лабораторных животных до начала эксперимента, рассчитанных по медиане (Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]) (возраст 4 нед)**

Биохимические параметры крови	Интактные животные	1-я опытная группа	2-я опытная группа	3-я опытная группа
АСТ, Е/л	127 [112; 141]	130 [116; 138]	127,5 [119; 142]	128,5 [118; 142]
АЛТ, Е/л	49 [33; 68]	49 [35; 68]	55 [30; 70]	49 [35; 66]
ГГТ, Е/л	2 [0; 6]	2,5 [0; 10]	3 [0; 10]	3 [0; 4]

Таблица 4

**Значения биомаркеров гепатотоксичности у лабораторных животных после кормления мясным пюре промышленного производства, рассчитанных по медиане (Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]) (возраст 8 нед)**

Биохимические параметры крови	Интактные животные	1-я опытная группа	2-я опытная группа	3-я опытная группа
АСТ, Е/л	129 [76; 145]	117 [76; 137]	209 [160; 230]	229 [111; 307]
АЛТ, Е/л	70 [58; 80]	71 [59; 80]	80 [71; 91]	111 [70; 148]
ГГТ, Е/л	8 [5; 8]	8 [7; 9]	11 [9; 14]	21 [9; 37]



Математическая модель зависимости «доза-эффект» между уровнем контаминации суммы N-нитрозоаминов мясных консервов и повышением гамма-глутамилтрансферазы.

В качестве параметров токсичности на международном уровне традиционно рассматриваются NOAEL, LOAEL, BMDL [26]. Согласно результатам исследования, выявлено, что при поступлении N-нитрозоаминов с мясными консервами, предназначенными для детей раннего возраста, в дозе, равной 0,00064 мг/кг в день, не наблюдалось эффекта в виде изменения биомаркеров гепатотоксичности, что можно принять за NOAEL.

С целью определения реперной дозы (BMDL) N-нитрозоаминов, поступающих с мясными консервами, предназначенными для детей раннего возраста, было проведено математическое моделирование зависимости «доза-ответ».

В результате моделирования установлены достоверные причинно-следственные связи между уровнем контаминации суммы N-нитрозоаминов в мясных консервах и повышением значений биомаркеров гепатотоксичности.

Недействующий уровень, полученный в ходе моделирования зависимости отношения шансов изменения показателя ГПТ от уровня экспозиции суммы N-нитрозоаминов, составил 0,00063 мг/кг в день (OR (отношение шансов) 2,50 (95% DI = 1,016–6,152) (см. рисунок).

## Обсуждение

N-нитрозоамины, содержащиеся в мясных продуктах, предназначенных для питания детей раннего возраста, относятся к приоритетным для нормирования по критериям риска здоровью в связи с тем, что дети в возрасте от 6 месяцев до 3 лет подвергаются воздействию N-нитрозоаминов, поступающих в основном перорально с пищевыми продуктами [27]. Особенностью употребления таких продуктов является их относительно непродолжительное потребление.

Разработанный ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» метод измерений N-нитрозоаминов в пищевой продукции позволил провести анализ их содержания в мясных консервах для питания детей раннего возраста на уровнях ниже установленного в Техническом регламенте Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» предела определения для данного вида пищевой продукции. Это в свою очередь позволило провести оценку риска для здоровья при поступлении N-нитрозоаминов перорально и экспериментально обосновать параметры токсичности N-нитрозоаминов. Оценка риска основана исключительно на критериях, отражающих непосредственное влияние химических веществ на здоровье наиболее чувствительных групп населения.

Ряд исследований показывает, что даже низкие дозы N-нитрозоаминов, поступающие пероральным путём, способны приводить к нарушению здоровья [28–30].

## Заключение

По итогам экспериментальных исследований установлен NOAEL на уровне 0,00064 мг/кг (при этой дозе в эксперименте не наблюдали гепатотоксический эффект). В ходе моделирования зависимости «доза-ответ» установлены достоверные причинно-следственные связи между уровнем контаминации нитрозосоединений в мясных консервах для питания детей раннего возраста и значением биохимических показателей (АЛТ, АСТ, ГПТ), где наименьший уровень составил 0,00063 мг/кг. Среди полученных результатов приоритет в выборе параметров токсичности отдаётся BMDL, так как данный показатель разработан на основе математического моделирования зависимости «доза-ответ».

Таким образом, полученная реперная доза 0,00063 мг/кг для суммы N-нитрозоаминов в условиях перорального поступления с мясными консервами, предназначенными для питания детей раннего возраста, может служить отправной точкой при установлении ДСД и МДУ содержания суммы N-нитрозоаминов в исследуемых пищевых продуктах.

## Литература

(п. п. 2–6, 10, 12–18, 20–25, 29, 30 см. References)

1. Фокин В.А., Зеленкин С.Е. Выбор приоритетных по критериям риска для здоровья населения химических веществ для разработки гигиенических нормативов контаминантов в пищевых продуктах. *Здоровье населения и среда обитания*. 2017; (10): 39–42.
7. Пивоваров Ю.П., Милушкина О.Ю., Тихонова Ю.Л., Аксенова О.И., Калиновская М.В. Загрязнение химических веществами продуктов детского питания в Российской Федерации. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(8): 707–11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-8-707-711>
8. Лозинский Е.Ю., Елисеева Е.В., Шмыкова И.И., Галанова Ю.Д. Особенности клинической фармакологии детского возраста. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2005; (3): 14–8.
9. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.; 2010.
11. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года о защите животных, использующихся для научных целей. Available at: <https://base.garant.ru/70350564/>
19. Яковлева Г.Е. *Ферменты в клинической биохимии*. Новосибирск: Вектор-Бест; 2005.
24. Идентификация химического состава пищевых продуктов для оценки химической безопасности на примере контаминации N-нитрозоаминами. Available at: [https://fcrisk.ru/sites/default/files/upload/conference/1381/17.05.2018\\_sl\\_nurislamova.pdf](https://fcrisk.ru/sites/default/files/upload/conference/1381/17.05.2018_sl_nurislamova.pdf)
25. Суворов Д.В., Шур П.З., Нурисламова Т.В., Мальцева О.А. Методические подходы к выбору приоритетных для нормирования химических контаминантов (на примере N-нитрозоаминов в мясных консервах для детского питания для детей раннего возраста). В кн.: Попова А.Ю., Зайцева Н.В., ред. *Актуальные вопросы анализа риска при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения и защиты прав потребителей: Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Пермь; 2019: 274–8.
26. Шур П.З., Зайцева Н.В. Оценка риска здоровью при обосновании гигиенических критериев безопасности пищевых продуктов. *Анализ риска здоровью*. 2018; (4): 13–23. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.05>

## References

- Fokin V.A., Zelenkin S.E. The list of priority chemicals for development of food contaminants' hygienic standards according to health risk criteria. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2017; (10): 39-42. (in Russian)
- Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document — N-Nitrosodimethylamine. Ottawa, Ontario: Health Canada; 2011.
- Toxicological profile for N-nitrosodimethylamine. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Atlanta; 1989.
- Robens J.F., Richard J.L. Aflatoxins in animal and human health. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1995; 127: 69-94. [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9751-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9751-9_3)
- George J., Ramesh Rao K., Stern R., Chandrakasan G. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: the early deposition of collagen. *Toxicology*. 2001; 156(2-3): 129-38. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(00\)00352-8](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00352-8)
- 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. *J. Pharmacol. Toxicol.* 2012; 7(3): 114-27.
- Pivovarov Yu.P., Milushkina O.Yu., Tikhonova Yu.L., Aksenova O.I., Kalinovskaya M.V. Chemical pollution of baby food in the Russian Federation. *Gigiena i sanitariya*. 2016; 95(8): 707-11. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-8-707-711> (in Russian)
- Lozinskiy E.Yu., Eliseeva E.V., Shmykova I.I., Galanova Yu.D. Features of clinical pharmacology in children. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2005; (3): 14-8. (in Russian)
- Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical technology. Moscow; 2010. (in Russian)
- Turner P.V., Brab Th., Pekow C., Vasbinder M.A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2011; 50(5): 600-13.
- Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available at: <https://base.garant.ru/70350564/> (in Russian)
- Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition*. 2005; 21(6): 775-7. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.04.002>
- Sengupta P. A scientific review of age determination for a laboratory rat: How old is it in comparison with Human age? *Biomed. Int.* 2012; 2(2): 81-9.
- Schmähl D., Spielmann M. Transaminase level (GOT, GPT) in rats under treatment with diethylnitrosamine. *Z. Krebsforsch. Klin. Onkol. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1975; 83(3): 173-6. <https://doi.org/10.1007/BF00304084>
- Adeleke G.E., Akpabio C.J., Oyewo E.B., Ogunsoola M.O., Maduagwu E.N. *In vitro* and *in vivo* metabolism of N-Nitrosodimethylamine using male Rats. *Elixir Appl. Chem.* 2014; 71: 25079-85.
- Abebe E.F., Akpabio C.J., Maduagwu E.N. N-nitrosation of N-methylaniline and nitrosamine toxicology in the wistar rats. *Eur. J. Exp. Biol.* 2013; 3(3): 362-9.
- Adams N., Boice R. A longitudinal study of dominance in outdoor colony of domestic rats. *J. Comp. Psychol.* 1983; 97(1): 24-33.
- Hassan H.A., Yousef M.I. Ameliorating effect of chicory (*Cichoriumintybus* L.)-supplemented diet against nitrosamine precursors-induced liver injury and oxidative stress in male rats. *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48(8-9): 2163-9.
- Yakovleva G.E. *Enzymes in Clinical Biochemistry [Fermenty v klinicheskoy biokhimi]*. Novosibirsk: Vektor-Best; 2005. (in Russian)
- Persijn J.P., van der Silk W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase in serum. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1976; 14(9): 421-7. <https://doi.org/10.1515/cclm.1976.14.1-12.421>
- Baker H.J., Lindsey J.R., Weisbroth S.H. Appendix 1: selected normative data. In: Baker H.J., Lindsey J.R., Weisbroth S.H., eds. *Biology and diseases. The laboratory rat. I*. New York: Academic Press; 1979.
- Pass D., Freeth G. The rat. *Anzccart News*. 1993; 6(4): 1-4.
- Sengupta P. Challenge of infertility: How protective the yoga therapy is? *Anc. Sci. Life*. 2012; 32(1): 61-2. <https://doi.org/10.4103/0257-7941.113796>
- Identification of the chemical composition of food products for assessing chemical safety by the example of N-nitrosamine contamination. Available at: [http://fcrisk.ru/sites/default/files/upload/conference/1381/17.05.2018\\_sl\\_nurislamova.pdf](http://fcrisk.ru/sites/default/files/upload/conference/1381/17.05.2018_sl_nurislamova.pdf) (in Russian)
- Suvorov D.V., Shur P.Z., Nurislamova T.V., Mal'tseva O.A. Methodological approaches to the selection of chemical contaminants that are priority for rationing (for example, N-nitrosamines in canned meat for baby food for young children). In: Popova A.Yu., Zaytseva N.V., eds. *Topical Issues of Risk Analysis in Ensuring the Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population and Consumer Protection: Materials of the IX All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation [Aktual'nye voprosy analiza riska pri obespechenii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya i zashchity prav potrebitely: Materialy IX Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]*. Perm'; 2019: 274-8. (in Russian)
- Shur P.Z., Zaytseva N.V. Health risk assessment when giving grounds for hygienic criteria of food products safety. *Analiz riska zdorov'yu*. 2018; (4): 13-23. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.05> (in Russian)
- Opinion on the presence and release of nitrosamines and nitrosatable compounds from rubber balloons. Available at: [https://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_121.pdf](https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_121.pdf)
- 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(23 Pt. 2): 6415-51.
- Cocco P., Palli D., Buiatti E., Cipriani F., DeCarli A., Manca P. et al. Occupational exposures as risk factors for gastric cancer in Italy. *Cancer Causes Control.* 1994; 5(3): 241-8. <https://doi.org/10.1007/BF01830243>
- Wilkins L.R., Kadir M.M., Kolonel L.N., Nomura A.M., Hankin J.H. Risk factors for lower urinary tract cancer: the role of total fluid consumption, nitrites and nitrosamines and selected foods. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1996; 5(3): 161-6.