

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

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

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана»

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

ФГБУ «Научно-исследовательский институт питания» РАМН

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК**

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной  
промышленности им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии

**ОЦЕНКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ ПРИ  
ПОСТУПЛЕНИИ РАКТОПАМИНА С ПИЩЕВОЙ  
ЖИВОТНОВОДЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИЕЙ**

Москва, 2013

Материалы подготовлены:

1. ФБУН «Федеральным научным центром медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Зайцева Н.В., Шур П.З., Кирьянов Д.А., Аминова А.И., Камалтдинов М.Р., Хрущева Е.В.)

Контакты: телефон/факс: +7(342)237-25-34, сайт: <http://fcrisk.ru/>,

E-mail: [znv@fcrisk.ru](mailto:znv@fcrisk.ru), [root@fcrisk.ru](mailto:root@fcrisk.ru)

2. ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Гмошинский И.В., Багрянцева О.В., Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р.)

Контакты: телефон/факс: +7(495)698-53-79, сайт: <http://www.ion.ru/>,

E-mail: [mailbox@ion.ru](mailto:mailbox@ion.ru)

3. ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (Ракитский В.Н., Сильницкая Т.А.);

Контакты: телефон/факс: +7(495)586-10-72, сайт: <http://www.fferisman.ru/>,

E-mail: [pesticidi@yandex.ru](mailto:pesticidi@yandex.ru)

4. ГНУ ВНИИМП им В.М. Горбатова Россельхозакадемии (Лисицын А.Б.).

Контакты: телефон: +7(495)676-95-11, факс: +7(495)676-95-51,

сайт: <http://www.vniimp.ru/>, E-mail: [info@vniimp.ru](mailto:info@vniimp.ru)

## Содержание:

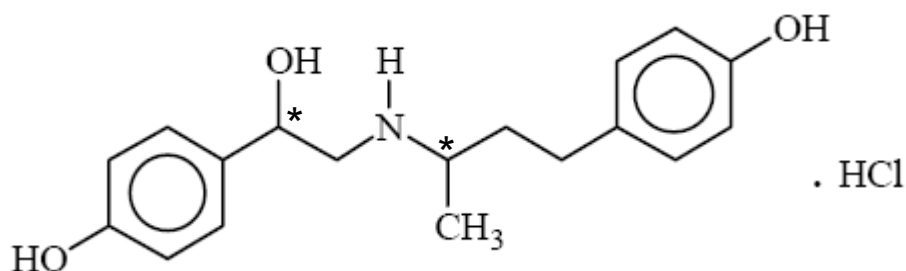
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>4</b>
<b>I ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ</b> .....	<b>6</b>
1.1 РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В ОРГАНИЗМЕ .....	7
1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ.....	9
1.3 ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТЫ (ЭКСПЕРИМЕНТЫ НА ЖИВОТНЫХ) .....	11
1.3.1 Острое и подострое действие .....	11
1.3.2 Хроническое действие .....	14
1.4 ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТЫ (ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА).....	15
1.4.1 Общие сведения о воздействии бета-агонистов на организм человека .....	15
1.4.2 Действие рактопамина на организм человека .....	20
1.5 СПЕЦИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ (ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО, МУТАГЕННОГО И КАНЦЕРОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ РАКТОПАМИНА).....	24
<b>II ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ</b> .....	<b>27</b>
2.1 ДОПУСТИМЫЕ УРОВНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	27
2.2 ОЦЕНКА ЗАВИСИМОСТИ «ЭКСПОЗИЦИЯ – ЭФФЕКТ» .....	28
<b>III ОЦЕНКА ЭКСПОЗИЦИИ</b> .....	<b>35</b>
<b>IV ХАРАКТЕРИСТИКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ</b> .....	<b>38</b>
<b>V ОЦЕНКА НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ</b> .....	<b>42</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	<b>43</b>
<b>ЛИТЕРАТУРА</b> .....	<b>46</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Рактопамина гидрохлорид относится к классу фенэтаноломинов, синонимическое наименование бензенеметанол, систематическое наименование 4-гидрокси-альфа-[3-(4-гидроксифенил)-1-метилпропиламино-метил]-гидрохлорид; CAS 90274-24-1; брутто-формула  $C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$ ; молекулярная масса 337,85 Да.

Фармакологически классифицируется как фенэтанолоаминовый агонист  $\beta$ -адренорецепторов. По своему физиологическому действию он является стимулятором, в первую очередь,  $\beta_2$ -адренорецепторов, находящихся в бронхах, скелетных мышцах, сердце, сосудах, ЦНС, матке и других органах.

Структурная формула рактопамина представлена на рисунке 1.



По своим физическим свойствам рактопамин представляет собой кристаллический порошок грязно-белого или кремового цвета, ограниченно растворимый в воде.

Препарат используется в ряде стран в качестве кормовой добавки, стимулирующей наращивание мышечной массы, сокращение жировой массы и повышение эффективности использования кормов у свиней, крупного рогатого скота, индеек, в дозах 5-20 мг/кг корма или улучшения костного каркаса туши – 10-20 мг/кг корма. Рекомендуемая для крупного рогатого скота доза как для увеличения мышечной массы, так и улучшения костного каркаса туши – 10-30 мг/кг корма [1].

Применяемый в качестве кормовой добавки рактопамин состоит из рацемической смеси четырех стереоизомеров (DD, DL, LD, LL), существующих за счёт наличия двух асимметричных атомов углерода (указаны знаком \* на рисунке). Физиологическая активность этих стереоизомеров в отношении  $\beta_2$ -адренорецепторов различается. DD-изомер рактопамина (известный, также, как бутопамин) является активным лигандом, как  $\beta_2$ , так и, в определенной степени,  $\beta_1$  адренорецепторов. Предполагается, что аффинность других изомеров является низкой (LD изомер), либо отсутствует (DL, LL изомеры) [1,2].

В настоящее время рактопамин запрещен для использования при откармливании сельскохозяйственных животных в 80 странах мира, включая страны Европейского Союза [1,3,4]. В странах Евросоюза применение бета-адренергических агонистов при разведении животных запрещено с 1996г, кроме случаев токолиза у кобыл и коров, а также бронходилатации у лошадей [3].

Однако в 27 странах (в США, Канаде, Мексике, Японии, Южной Корее и др.) мясо, полученное от животных, при вскармливании которых использовался рактопамин, признано безопасным для здоровья потребителей. В США данный препарат разрешен для использования в качестве кормовой добавки в предубойный период для свиней весом до 109 кг в дозах от 5 до 20 мг/кг корма, свыше 109 кг - от 5 до 10 мг/кг корма с 2003 г. Для крупного рогатого скота пределы использования рактопамина в корме ограничены интервалом 10-30 мг/кг сухой массы корма. В Канаде рактопамин разрешен для использования в предубойный период при откорме кастрированных хряков, свиноматок, крупного рогатого скота, индюшек.

В 2004 году Объединенным Комитетом экспертов ФАО/ВОЗ были рекомендованы следующие максимально допустимые уровни содержания рактопамина в тканях свиней и крупного рогатого скота: мышечная ткань – 10 мкг/кг, печень – 40 мкг/кг, почки – 90 мкг/кг, жировая ткань 10 мкг/кг. Эти рекомендации были основаны на результатах, полученных при

вскармливания теоретически максимального поступления в организм животных с кормами – 50 мг/кг (или ДСД, основывающемся на потреблении мяса 300 г/сутки на человека, печени - 100 г/сутки на человека, почек - 50 г/сутки на человека, жира - 50 г/сутки на человека) [5]. Установленный в настоящее время в США максимально допустимый уровень содержания рактопамина в мясе составляет 0,05 мг/кг, в Японии – 0,01 мг/кг. В Канаде установлены следующие максимально допустимые уровни содержания рактопамина: в свинине – 0,04 мг/кг, печени свиней – 0,12 мг/кг, почках свиней 0,14 мг/кг, говядине – 0,01 мг/кг, говяжьей печени – 0,04 мг/кг, говяжьих почках – 0,1 мг/кг, мясе индейки – 0,03 мг/кг, печени индейки – 0,2 мг/кг [6].

6 июля 2012 г на 35 сессии Комиссии Кодекс Алиментариус было принято решение (с минимальным преимуществом: за - 69 голосов, против - 67 голосов, воздержавшихся - 7) о принятии регламента по содержанию максимально допустимых уровней содержания рактопамина в определенных тканях свиней и крупного рогатого скота [7]. Обоснованием для принятия данного решения явился анализ научных данных, представленных в обзоре Объединенного комитета ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (JECFA) [8]. В соответствии с решением Комиссии Кодекс Алиментариус установлены максимально допустимые уровни содержания рактопамина в свинине и говядине – 0,01 мг/кг, печени – 0,04 мг/кг, почках - 0,09 мг/кг [7,9].

Данная научная работа выполнена в соответствии с Практическими принципами проведения анализа риска в области безопасности продуктов питания для применения правительствами Комиссии Кодекс Алиментариус (CAC/GL 62-2007) [42].

## **I ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ**

Идентификация опасности рактопамина произведена на базе доступных в научной литературе результатов различных исследований, в том числе данные о фармакокинетике, биотрансформации, острой и краткосрочной

токсичности, фетотоксичности, тератогенности и генотоксичности, а также результатов ограниченного числа исследований, проведенных на людях.

### *1.1 Распределение в организме*

Обмен и накопление рактопамина в организме сельскохозяйственных и лабораторных животных были изучены с применением метода радиоактивных индикаторов. Препарат вводили вместе с кормом (у свиней) или внутривентрикулярно (у крупного рогатого скота) в официально рекомендованной или аграммированной в 2,5 раза дозе. При этом было показано, что препарат абсорбируется, распределяется и элиминируется быстро. 95% введенного количества рактопамина экскретируются в первые 3 дня, около 90% (у свиней) и 55% (у крупного рогатого скота) экскретируется с калом, 10% и 45%, соответственно, с мочой. В соответствии с другими данными [10] 88% препарата выводится с мочой и только 9% – с фекалиями. Различия в результатах может быть связано с дозой перорально вводимого рактопамина. При первом обороте метаболитов рактопамина значительное их количество экскретируется с желчью. При многократных повторных введениях стационарный уровень рактопамина достигается у обоих видов на 4-ый день [1].

Наибольшее (пиковое) содержание рактопамина в плазме и цельной крови у лабораторных животных (собак, обезьян) и свиней наблюдалось через 0,5-2,0 часа после перорального введения. При введении растворов рактопамина в дозе от 0,5 до 2,0 мг/кг массы тела его содержание в крови самцов и самок собак было практически на одинаковом уровне. Однако при пероральном введении рактопамина в дозе 20 мг/кг массы тела через 7 часов после введения уровень его содержания в крови самок был в 2,5 раза выше, чем в крови самцов [1,10]. Исследование кинетики выведения рактопамина из крови собак, обезьян и свиней показало, что в течение 7 часов после его введения в дозе 0,125 мг/кг выводилось от 70 до 79%, в течение 1-х суток –

85%, в течение 3-х суток – 95%. Было также показано, что в тканях собак и крыс остаточные количества рактопомина были выше, чем в тканях свиней и индеек [1, 10, 11]. Стабилизация уровня рактопамина и его производных в тканях наблюдалась через 4 дня после начала его многократного введения. После прекращения введения рактопамина наибольшая скорость его элиминации наблюдалась из мышечной и жировой тканей. В печени и почках скорость элиминации препарата была более низкой. Из легких рактопамин практически не выводится [1, 5, 11].

Рактопамин в организме подвергается метаболизму с образованием ряда производных. Так, в экскретах были идентифицированы глюкурониды рактопамина. Метаболиты А и В состояли из глюкуронидов диастереоизомерных пар (DL,LD или DD,LL, соответственно), конъюгированных по ОН-группе левого (на рисунке 1) фенольного кольца (далее – кольцо А); а метаболит С соответствовал смеси стереоизомеров моноглюкуронидов, конъюгированных по гидроксилу правого кольца (кольцо В). Состав этих метаболитов был идентичен у свиней и крупного рогатого скота. Метаболит D соответствовал стереоизомерным диглюкоуридам по обоим кольцам А и В и был характерен только для крупного рогатого скота; два минорных метаболита у свиней были выделены, но их точная структура не была установлена.

Идентифицированные у обезьян и собак метаболиты представляли собой глюкуроновые диконъюгаты рактопамина (по гидроксилам колец А и В), моноглюкуронид кольца В и моноэфир серной кислоты по кольцу А.

Общий вывод, сделанный исследователями по данному вопросу, заключается в том, что спектр основных метаболитов рактопамина у продуктивных сельскохозяйственных животных, лабораторных животных и приматов очень сходен [1,4, 8].

Фармакокинетика рактопамина изучалась на примере шести здоровых волонтеров мужчин, которым перорально вводилось доза в 40 мг рактопамина гидрохлорида. Через 24 часа были взяты образцы плазмы крови



и мочи и анализированы с помощью ВЭЖХ. Установлено, что рактопамин быстро абсорбировался, со средней пиковой концентрацией в плазме 41,2 нг/мл после 0,6 часа. Среднее время полувыведения составило 3,94 часа. После 24 часов после введения рактопамин в плазме не обнаруживался, кроме очень низких концентраций у одного из волонтеров. Только около 2% общей введенной дозы выделялось с мочой в виде неизменного рактопамина к 24 часам после введения.

После обработки образцов мочи бета-глюкуронидазой и сульфатазой с целью гидролиза конъюгатов рактопамина, моча полученная через 0-24 часа после введения препарата содержала в среднем 45,7% от изначальной дозы исходного рактопамина, указывая, что менее 5% от общего выделенного рактопамина было представлено исходным веществом.

Метаболиты мочи были представлены моноглюкуронидами и моносulfатами, основным из которых является рактопамина моносulfат.

Около 72% от общей введенной дозы было экскретировано в течение 6 часов после введения.

Результаты подтверждают, что рактопамин быстро и экстенсивно абсорбируется, биодоступность в условиях перорального поступления при этом составила как минимум 45,7% от введенной дозы.

Из-за быстрого метаболизма, введенные перорально 40 мг препарата обеспечивают низкую концентрацию исходного рактопамина в крови, что может быть связано со значительным пресистемным метаболизмом [1,2,5].

Доступные данные подтверждают, что метаболизм и экскреция рактопамина в организме человека сходна с фармакокинетикой и биотрансформацией, наблюдаемыми у животных и для других фенольных, катехольных и резорцинольных бета-адренергических препаратов [12,13,14].

## ***1.2 Определение в пищевых продуктах***

Группой экспертов Европейского бюро по безопасности пищи [1] было высказано мнение, что при определении остаточных количеств рактопамина

в мясе необходимо учитывать сумму всех его растворимых и нерастворимых метаболитов, а не только свободного рактопамина. Это связано с тем, что при поступлении в кишечник человека конъюгированные с глюкуроновой кислотой формы рактопамина могут гидролизироваться под действием  $\beta$ -глюкуронидаз кишечной микрофлоры с образованием свободного рактопамина, который способен далее всасываться и проявлять своё действие.

В соответствии с установленными правилами забой животных должен осуществляться не менее, чем через 6-12 часов после последнего введения препарата. Однако проведенные исследования показали, что общее количество рактопамина и его производных в тканях свиней после убоя составляло 20-30 мкг/кг, что превышало установленный уровень содержания остаточного количества рактопамина (10 мкг/кг) в 2-3 раза. В мясе крупного рогатого скота содержание остаточных количеств рактопамина составляло 30-45 мг/кг, что превышало максимально допустимый уровень (10 мкг/кг) в 3,0-4,5 раза. При этом выявляемые с помощью современных аналитических методов остаточные количества рактопамина присутствовали в мясе даже через неделю после прекращения введения препарата с кормом [4-6].

Существующие аналитические методы определения рактопамина в мясных продуктах, основанные на использовании иммуноферментного метода (ELISA), позволяют проводить его количественный анализ во всём диапазоне предлагаемых допустимых остаточных количеств с запасом по чувствительности (1 мкг/кг – в моче [5], 0,2 мкг/кг – в тканях репродуктивных животных [15]).

Для использования рекомендован метод жидкостной хроматографии с вольтамперометрическим (electrochemical) детектором с пределами определения в различных тканях 3-5 мкг/кг. [5].

Имеется информация о способе определения рактопамина в мясе свиней методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим квадрупольным детектором, с использованием внутреннего стандарта [16].

Предел количественного определения составил 0,5 мкг/кг, предел обнаружения составил 0,2 мкг/кг. Однако, аналитическая процедура отличается от методов, представленных в предыдущих оценках Комитета Кодекс Алиментариус, в которых ферментативный гидролиз не использовался при определении остаточных количеств рактопамина.

12 ноября 2012 года Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации утверждены методические указания МУК 4.1.3046-12 «Определение содержания рактопамина в мясе и субпродуктах убойных животных и птицы». Данные методические указания содержат метод иммуноферментного анализа (в качестве скринингового метода) в диапазоне концентраций от 1,0 до 1000 мкг/кг и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с двумя видами масс-селективного детектирования (время пролетной и тандемной масс-спектрометрией).

### ***1.3 Основные эффекты (эксперименты на животных)***

#### ***1.3.1 Острое и подострое действие***

Токсикологическая оценка рактопамина в экспериментах на животных включала оценку острой, подострой и субхронической токсичности. В остром эксперименте среднелетальная доза рактопамина ( $LD_{50}$ ) для самцов и самок мышей составила 3547 мг/кг и 2545 мг/кг массы тела соответственно, для самцов крыс - 474 мг/кг массы тела, для самок крыс – 367 мг/кг массы тела [5,10,17].

В эксперименте на собаках, которым однократно перорально вводили рактопамин в дозах 0, 2, 50 или 125 мкг/кг массы тела, отмечено достоверное дозозависимое увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и амплитуды сокращений левого желудочка сердца, снижение как систолического, так и диастолического АД в течение 6 часов после приема препарата. В дозе 50 мкг/кг массы тела и более отмечено покраснение (эритема) кожи живота. При этом в дозе 2 мкг/кг массы тела никакие из измеряемых параметров не отличались от контроля. На основании этого авторами исследования было предложено считать максимальную

недействующую дозу (NOAEL) рактопамина равной 2 мкг/кг массы тела. Данное исследование, однако, было проведено всего на 8 животных и его результаты, поэтому, имеют ограниченную статистическую значимость [1,5].

Токсикологическая оценка рактопамина в условиях многократного введения была проведена также на грызунах. Мышам линии B6C3F1 вводили рактопамин перорально в дозах 0, 25, 125 и 1250 мг/кг массы тела в течение 3 месяцев. Отмечено дозозависимое возрастание общего числа эритроцитов, концентрации гемоглобина и парциального объёма эритроцитов у животных обоих полов, абсолютное и относительное увеличение массы сердца. При наибольшей из доз отмечено снижение количества тромбоцитов. Биохимические исследования выявили возрастание уровня азота мочевины и холестерина при наибольшей дозе у самцов и при наибольшей и средней дозах у самок. При наибольшей из доз у самок снижалась концентрация натрия в крови. ЧСС увеличивалась, масса семенников снижалась, и наблюдались изменения в размере и гистопатологической картине бурой жировой ткани. Изменений в других органах не выявлено. Перечисленные эффекты наблюдались при высокой дозе рактопамина и, в отдельных случаях, при средней дозе. На основании этих данных NOAEL была установлена только для самок в размере 25 мкг/кг массы тела [1,2,10,17].

Трёхмесячное исследование рактопамина было проведено у крыс линии Fisher 344 в дозах 0; 1,3; 13,4 и 152,9 мг/кг массы тела у самцов и 0; 1,4; 15,3 и 156,8 мг/кг массы тела у самок (по 10 животных каждого пола на каждую из доз). В наибольшей из доз отмечали увеличение потребления пищи при снижении прироста массы тела. Изменения в гематологических показателях включали увеличение количества эритроцитов, концентрации гемоглобина и парциального объёма клеток (эритроцитов); среди биохимических показателей отмечено снижение концентрации триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови, увеличение уровней азота мочевины, калия и щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Было отмечено также уменьшение массы матки, печени, семенников и

селезенки. При этом масса почек достоверно возрастала. При гистопатологическом исследовании выявлены изменения в бурой жировой ткани. Все указанные изменения отмечались при высокой дозе препарата, а при средней дозе выявлены только изменения в бурой жировой ткани. Таким образом, в данном исследовании были установлены величины NOAEL 1,3 и 1,4 мг/кг массы тела у самцов и самок, соответственно [1,2,10].

Ряд исследований рактопамина был проведен в условиях многократного перорального введения в экспериментах на приматах.

Так, в одной из работ обезьянам макак-резус рактопамин вводили внутривенно через зонд в дозах 0, 250, 500 и 4000 мкг/кг массы тела ежедневно в течение 6 недель. При этом рутинные токсикологические показатели не изменялись. ЧСС возрастала быстро после введения, достигая максимума через 0,5 часа при средней и высокой дозе, но ЭКГ и гистопатологическая картина сердца оставались в норме [1,5]. Было выявлено статистически достоверное снижение плотности  $\beta$ -адренорецепторов в мембранах клеток лёгких обезьян обоих полов при введении рактопамина в дозах 500 и 4000 мкг/кг массы тела в течение 6 недель. Число  $\beta$ -адренорецепторов составляло в контроле 264 фмоль/мг белка и снижалось до 191 и 179 в тех же единицах при двух вышеуказанных дозах. Какого-либо влияния на аффинность рецепторов к их лиганду рактопамин не оказывал ни при какой из доз. Плотность  $\beta$ -адренорецепторов в сердце измерить не удалось из-за отсутствия подходящей методики. К сожалению, по условию эксперимента не было проведено типирование принадлежности этих рецепторов к  $\beta_1$  либо  $\beta_2$  адренорецепторам. На основании выявленных в данном исследовании эффектов доза 250 мкг/кг массы тела была принята за NOAEL [1,5].

В другом исследовании рактопамин вводили обезьянам макак-резус перорально в течение 12 недель в дозе 125 мкг/кг массы тела. Исследовали выживаемость, прибавку массы тела, потребление пищи, ЧСС и

электрокардиограмму. На протяжении всего периода введения рактопамина не было выявлено каких-либо достоверных вредных эффектов [1].

### **1.3.2 Хроническое действие**

В хроническом эксперименте мышам CD1 вводили рактопамин в составе диеты в дозах 0,25, 130 и 840 мг/кг массы тела в сутки для самцов и в дозах 0, 35, 175 и 1085 мг/кг массы тела в сутки для самок в течение 21 месяца. В наибольших из доз выявлено достоверное увеличение смертности животных; причём наиболее выраженная кардиомиопатия отмечалась в группах, получавших две самые высокие дозы. Отмечено дозо-зависимое снижение массы тела, скорости её прибавки и эффективности использования пищи, что могло быть соотнесено с активацией процессов термогенеза при стимуляции  $\beta$ -адренорецепторов.

В гладкой мускулатуре генитального тракта самок отмечено увеличение неопухолевых пролиферативных процессов, однако данный эффект не был дозо-зависимым. Величина NOEL по результатам данного исследования была оценена величиной 25 мг/кг массы тела для самцов (на основании изменений в массе тела и эффективности использования пищи. Для самок NOEL не была установлена, поскольку при всех дозах отмечалось увеличение частоты развития лейомиомы матки (см. разд.1.5.) (10, 17).

Собаки Бигль получали в течение 1 года рактопамин в желатиновых капсулах; ежедневно животным вводили 0,112, 0,224 или 5,68 мг/кг массы тела с интервалами в 6 часов. Наблюдали изменения в гематологических показателях, биохимии крови, размере и гистопатологии внутренних органов только при самой большой из доз. Эритема кожных покровов присутствовала при наибольшей из доз и транзиторно проявлялась при средней, тогда брадикардия покоя (в 7.00 утра перед приемом первой капсулы) отмечалась во всех группах, причём независимо от дозы и в основном в первой половине исследования. Появление брадикардии в ночное время (особенно в первые 6 месяцев исследований) означало, что в данных опытах не был достигнут

явный недействующий уровень. Тем не менее, в качестве недействующего уровня (NOEL) была предложена величина 0,224, мг/кг/сут, несмотря на то, что брадикардия отмечалась при всех дозах [1,5].

При введении обезьянам макак-резус рактопамина в течение 1 года в дозах 0, 125, 500 и 4000 мкг/кг массы тела внутрижелудочно через зонд не отмечено изменений стандартных токсикологических показателей, за исключением возрастания прибавки массы тела при самой высокой из доз. Фармакологические показатели изменялись при средней и высокой дозе, что выражалось в возрастании ЧСС и снижении массы сердца. В мембранах, полученных из клеток левого желудочка и лёгкого, определяли  $\beta$ -адренорецепторы. В сердце, как их концентрация, так и аффинность не изменялись ни при одной из доз рактопамина. Однако, в лёгких животных обоих полов отмечено снижение количества  $\beta$ -адренорецепторов при максимальной дозе рактопамина приблизительно на 23%. При меньших дозах каких-либо изменений в изучаемых показателях не выявлено. Сделан вывод, что NOAEL для рактопамина на данной модели составляет 125 мкг/кг массы тела [1].

#### ***1.4 Основные эффекты (воздействие на организм человека)***

##### ***1.4.1 Общие сведения о воздействии бета-агонистов на организм человека***

Известно, что использование  $\beta$ -агонистов в клинической практике приводит к расширению бронхов и улучшению бронхиальной проходимости, гликогенолизу в скелетных мышцах и повышению силы мышечного сокращения (а в больших дозах - к тремору), гликогенолизу в печени и увеличению содержания глюкозы в крови, снижению тонуса матки, что способствует вынашиванию беременности, тахикардии, нервозности, вазодилатации, нарушение метаболизма, снижение чувствительности бета-адренорецепторов. Данные эффекты фармакологически прогнозируемы [14].

Основным фармакологическим эффектом бета-агонистов является стимуляция адренорецепторов. Длительная активация симпатoadренальной системы оказывает отрицательное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы и способствует развитию в дальнейшем сердечной недостаточности вследствие:

- чрезмерной констрикции вен и артериол, что приводит к выраженному увеличению венозного притока (преднагрузки) и резкому росту периферического сопротивления (постнагрузки) и снижению перфузии тканей;

- увеличения объема циркулирующей крови в связи с чрезмерной активацией ренин-ангиотензиновой системы и выраженной задержкой натрия и воды в организме;

- значительного повышения потребности миокарда в кислороде вследствие избытка катехоламинов и возросшей нагрузки на миокард;

- развития нарушений сердечного ритма (мерцательной аритмии, желудочковой тахикардии, экстрасистолии);

- непосредственного кардиотоксического эффекта катехоламинов (выраженная дистрофия миокарда, ишемия, инфаркт);

- развития гибернации (потери функции сократимости) части кардиомиоцитов;

- уменьшения плотности  $\beta$ -адренорецепторов в цитоплазматической мембране кардиомиоцитов, что приводит к десентизации, т. е. сниженной чувствительности миокарда к катехоламинам и, следовательно, высокая концентрация катехоламинов в крови не сопровождается адекватным повышением сократительной функции миокарда, т. е. положительный инотропный эффект активации симпатoadренальной системы со временем значительно ослабевает (эффект ночной брадикардии в эксперименте).

- активации  $G_s$  - протеина аденилатциклазы, мембраносвязанного фермента, гидролизующего АТФ. В результате гидролиза АТФ образуется цАМФ, который активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу,



фосфорилирующую кальциевые каналы мембран кардиомиоцитов, через которые ионы  $\text{Ca}^{2+}$  поступают в клетку, что приводит к повышению автоматизма синусного узла и увеличению частоты сердечных сокращений (тахикардии) [18,19]. Длительная стимуляция  $\beta$ -адренорецепторов способствует перегрузке ионами кальция кардиомиоцитов, в том числе и митохондрий, дальнейшему угнетению рефосфорилирования АДФ и истощению запасов креатинфосфата и АТФ. В результате – кальций не удаляется из клетки в цистерны эндоплазматического ретикулума и нарушаются процессы диастолического расслабления желудочков. Кальциевая контрактура в конечном итоге приводит к гибели кардиомиоцита, которая может происходить по двум основным механизмам: некроза и апоптоза [20].

Эффекты гиперактивации симпатoadреналовой системы способствуют гипертрофии и ремоделированию миокарда, развитию систолической и диастолической дисфункции левого желудочка, падению минутного объема крови, увеличению конечного диастолического давления желудочков, прогрессированию сердечной недостаточности [21].

В качестве одного из маркерных эффектов действия бета-агонистов на сердечно-сосудистую систему рассматривается увеличение частоты сердечных сокращений.

По мнению авторов М.У. Azbel [22], существует взаимосвязь между частотой сердечных сокращений и продолжительностью жизни во всем животном мире, включая человека.

Существуют расчеты [22], показывающие, что понижение ЧСС с 70 до 60 ударов в минуту с течением времени повысило бы продолжительность жизни человека с 80 до 93,3 года. При всей спорности и чрезмерной оптимистичности этого прогноза можно считать доказанным, что в общей популяции риск смерти по многим причинам, в том числе от сердечнососудистых заболеваний, увеличивается по мере повышения ЧСС в состоянии покоя.

Данная закономерность приобретает еще более высокую степень доказательности при заболеваниях сердечнососудистой системы. Крупномасштабные эпидемиологические исследования (Framingham study; Chicago epidemiological studies), в которых изучалась корреляция между повышением ЧСС в состоянии покоя и сердечнососудистой смертностью, показали, что ЧСС обратно пропорциональна продолжительности жизни, а высокая частота сердечного ритма – самостоятельный фактор риска атеросклероза, артериальной гипертензии, сердечнососудистой заболеваемости и смертности [23].

В крупном исследовании A. Diaz et al. [24] у 25000 пациентов с предполагаемым или установленным коронарным атеросклерозом выявлено, что больные с ЧСС в состоянии покоя 77—82 ударов в минуту имели достоверно более высокий риск смерти от различных причин по сравнению с больными, у которых ЧСС не превышала 62 удара в минуту. При этом повышение вероятности смерти не зависело от факторов риска (пол, возраст, сахарный диабет, гипертензия, масса тела и т.д.). Авторы рассматривают высокую ЧСС в покое как независимый прогностический фактор, индуцирующий разрыв бляшки, ишемию миокарда и острые коронарные события, приводящие к смерти.

Долговременное российское исследование, охватившее 10 109 мужчин и 4 668 женщин старше 35 лет, продолжалось 18 лет для мужчин и 16 лет для женщин [25]. С учетом коррекции основных факторов риска была выявлена прямая и высоко достоверная ( $p < 0,0001$ ) связь между частотой сердечного ритма и общей смертностью. Достоверное увеличение смертности отмечалось при достижении ЧСС 77—79 ударов в минуту, а при ЧСС более 80 ударов в минуту риск смерти существенно (до 30%) возрастал.

При ЧСС более 80 ударов в минуту ожидаемая продолжительность жизни мужчин на 7 лет короче, чем при частоте сердечных сокращений не более 60 ударов в минуту. Для женщин эта разница на 4—5 лет меньше.

Установлено, что ЧСС в состоянии покоя ассоциируется со смертностью больных артериальной гипертензией и метаболическим синдромом. В сердце возбуждение  $\beta_2$ -адренорецепторов приводит к учащению сокращений и тахикардии, повышению артериального давления и периодическому усилению сердцебиения. Подобное очень часто наблюдается при вдыхании  $\beta_2$ -адреномиметиков в виде дозированных аэрозолей для снятия приступа удушья при бронхиальной астме. В сосудах  $\beta_2$ -адренорецепторы ответственны за расслабление тонуса и снижение артериального давления. При стимуляции  $\beta_2$ -адренорецепторов в ЦНС возникает возбуждение, приводящее к тремору [2, 26-31].

Среди пациентов с заболеваниями сердечнососудистой системы бета-агонисты могут провоцировать аритмию или ишемию миокарда.

При оценке инотропных эффектов  $\beta$ -агонистов для отдельных пациентов установлена вероятность повышения частоты пульса, и средняя степень повышения артериального давления на протяжении 1 часа.

Наиболее распространенным эффектом воздействия  $\beta_2$  – селективных адренергических агонистов на *костно-мышечную систему* является тремор скелетной мускулатуры и чаще регистрируется после перорального поступления, нежели ингаляционного. Тремор является результатом нарушения баланса между быстро- и медленно-сокращающимися группами мышц конечностей, степень выраженности тремора сильно варьировала между исследуемыми. У большинства пациентов толерантность к данному эффекту формируется в течение нескольких недель после начала использования препаратов. На фоне использования низких доз бета-агонистов данный эффект минимален [12, 32,33].

Бета-агонисты, поступающие как перорально, так и парентерально, могут вызывать повышение концентрации глюкозы, лактатов и свободных жиров и снижение содержания калия в плазме [34].

Результаты многочисленных эпидемиологических исследований указывают на вероятную связь между длительным использованием бета-

агонистов и приступами астмы. Для взрослых не доказано повышение гиперреактивности дыхательных путей при длительном применении  $\beta_2$ -селективных агонистов [16].

Приведенные результаты анализа информации свидетельствуют о целесообразности оценки действия малых доз рактопамина на контингент риска – лиц, страдающих заболеваниями сердечнососудистой системы.

#### ***1.4.2 Действие рактопамина на организм человека***

Применительно к рактопамину фармакодинамическое действие у людей было оценено в единственном исследовании на молодых мужчинах добровольцах (средний возраст 23,5 года), которые получали последовательно с 48-часовыми интервалами возрастающие дозы рактопамина 0 (плацебо), 5, 10, 15, 25 и 40 мг. Все пациенты закончили исследование, за исключением одного, у которого приём дозы 40 мг был отменен из-за сохраняющейся тахикардии. Обследование пациентов осуществляли рутинным методом с регистрацией ЭКГ и эхокардиографией [1].

Каждому участнику исследования проводилась оценка 14 показателей сердечно-сосудистой системы через каждые 9 часов. Никаких серьезных патологических изменений установлено не было. При дозах 15, 25 и 50 мг ощущение повышения частоты сердцебиения наблюдалось у двух, трех и четырех мужчин, соответственно; ощущение напряженности в сердце у одного, трех и одного мужчины, соответственно. Дозозависимые изменения в показателях функционирования сердечнососудистой системы появлялись в течение 1 часа после введения рактопамина и постепенно возвращались к исходным значениям. При дозе 5 мг никаких изменений со стороны сердечнососудистой системы зафиксировано не было, при дозе 10 мг – незначительные эффекты. При дозах 15, 25 и 40 мг частота сердцебиения повысилась на 20, 30 и 50 ударов в минуту относительно контроля, увеличение сердечного выброса составило приблизительно 35%, 55% и 90%,

соответственно. Повышение систолического давления имело дозозависимый характер; диастолическое давление никак не изменилось под воздействием рактопамина. Недействующие уровни, предложенные по результатам этих исследований представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 - Значения NOEL для различных ответов со стороны сердечнососудистой системы у здоровых волонтеров при пероральном введении рактопамина [12,30]

Показатель	NOEL (мг/человека)	NOEL (мг/кг массы тела)*
Электромеханическая систола/ Время выброса левого желудочка/ Максимальная скорость сокращения круговых волокон	5	67
Частота сердцебиения/ Конечный систолический объем/ Систолическое артериальное давление	10	133
Минутный сердечный выброс	15	200
Конечный диастолический объем/Диастолическое артериальное давление	25	333
Корректированный интервал QT	40	597
Длительность фазы преобразования	40	597

\* - рассчитано с учетом средней массы тела участников исследования (75 кг).

Таблица 2 - Значения NOEL и 95% доверительных интервалов для основных параметров сердечнососудистой системы у здоровых волонтеров при пероральном введении рактопамина [2, 12]

Показатель	NOEL (мкг/кг массы тела)	Доверительные интервалы	
		Нижний	Верхний
Электромеханическая систола	96	35	156
Частота сердцебиения	114	58	171
Минутный сердечный выброс	84	41	128
Комбинация всех параметров	99	77	120

В результате проведенных исследований NOEL (максимальная доза, не вызывающая никаких эффектов) была установлена равной 67 мкг/кг массы тела в сутки. С учетом введения 50-кратного коэффициента запаса и округления до одной значащей цифры отсюда была выведена допустимая суточная доза (ADI, ДСД), равная 0-1 мкг/кг массы тела в сутки. Примененный коэффициент запаса был получен из перемножения двух – 10- и 5-кратных коэффициентов, первый из которых был использован для учета индивидуальной вариабельности чувствительности (обусловленной, главным образом, генетическим полиморфизмом  $\beta$ -адренорецепторов, который не был типирован в настоящем исследовании), а второй для того, чтобы обеспечить защиту лиц, входящих в группу риска (больные сердечно-сосудистыми заболеваниями, дети раннего возраста с момента введения мясного прикорма) [1,5].

Результаты данного исследования позволили JECFA оценить ДСД (ADI) рактопамина для человека величиной 0-1 мкг/кг массы тела/день (60-80

мкг в день для взрослого человека), что было учтено при выведении вышеуказанных допустимых остатков рактопамина в мясных продуктах [8].

По данному исследованию и на его основе выводам могут быть сделаны следующие критические замечания.

1) Приведены данные единичного исследования, не получившие какого-либо независимого подтверждения, что недостаточно для обоснования такого важного показателя, как обоснование ДСД.

2) Исследование имело «открытый» дизайн, то есть как врач, проводящий тесты, так и пациент знали, какой препарат применяется. Это не позволяло полностью исключить «эффекта плацебо». Первоначально данное исследование планировалось как сугубо предварительное с целью отобрать хорошо проявляющиеся дозозависимые эффекты среди большого числа кардиологических показателей. Планировалось впоследствии повторить тесты с этими показателями в исследовании, дизайн которого удовлетворял бы современным требованиям (двойное слепое исследование, контролируемое плацебо исследование). Однако, такое исследование в дальнейшем не было проведено.

3) Анализ представленных данных показал, что определенные изменения некоторых изучаемых показателей у части пациентов были и при дозах, меньших 67 мкг/кг массы тела, которая была принята за NOEL. Выведение этой величины фактически было проведено на основе использования некой математической модели, связанной с кусочной аппроксимацией, «сглаживанием» и логарифмической трансформацией данных. Однако не все эксперты признают данную модель адекватной.

4) В исследовании участвовало всего 6 испытуемых, поэтому статистическая значимость полученных результатов мала.

### ***1.5 Специальные эффекты (исследование генотоксического, мутагенного и канцерогенного действия рактопамина)***

Ряд исследований был посвящен попыткам выявить у рактопамина генотоксические, мутагенные и канцерогенные эффекты.

Рактопамин не проявлял мутагенной активности в тесте Эймса с использованием штаммов *Salmonella typhimurium* и *E.coli*. Тесты *in vitro* на эукариотических моделях (репарация ДНК в гепатоцитах крысы, тест абберрации хромосом на клетках СНО) и несколько тестов *in vivo* (цитогенез клеток костного мозга мыши, микроядерный тест, тест обмена сестринскими хроматидами в клетках костного мозга китайского хомяка) были также отрицательными. Микроядерный тест в клетках костного мозга крысы дал неоднозначный результат (положительный при низких дозах, отрицательный при их дальнейшем увеличении). Однако, некоторые тесты *in vivo* были положительными, а именно тест хромосомных абберраций в лимфоцитах человека и 2 из 3 прямых мутационных анализов в клетках лимфомы мыши. При этом высказывалось предположение, что генотоксичность, обнаруженная в некоторых исследованиях, могла быть связана со вторичным ауто-окислительным механизмом, как это было ранее установлено для естественным образом присутствующего в организме катехоламина эпинефрина. Обобщая эти данные, JECFA сделала вывод, что в настоящее время отсутствуют убедительные свидетельства наличия у рактопамина генотоксических и мутагенных свойств [1, 2,10,17].

Имеется 2 исследования на грызунах по выявлению у рактопамина канцерогенного действия. Мыши линии CD-1, по 60 животных каждого пола в каждой группе, получали рактопамин в течение 21 месяца в составе корма в количествах 0; 0,02; 0,1 и 0,6% по массе рациона, что соответствовало дневному потреблению рактопамина 0, 25, 130 и 840 мг для самцов и 0, 35, 175 и 1085 мг для самок. В группах, получавших наибольшую дозу рактопамина, отмечена повышенная смертность, обусловленная



кардиомиопатией. Как масса тела, так и эффективность использования пищи снижались. При этом даже в самой малой дозе препарата у самок мышей отмечалось увеличение частоты развития лейомиомы матки (доброкачественная опухоль, происходящая из гладкомышечной ткани, и содержащая миоциты, соединительнотканнные компоненты, кровеносные сосуды, перициты, плазматические и тучные клетки), ввиду чего не представилось возможным определить NOAEL. Пороговая доза по развитию лейомиомы матки была определена равной 201 мг/кг массы тела [1,5,10,17].

В рассмотренном выше (в разделе 1.2) 1-летнем эксперименте на мышах CD1 было показано, что рактопамин дозозависимо повышал частоту развития лейомиомы матки в дозах 35, 175 и 1085 мг/кг массы тела в сутки. Величина дозы рактопамина, вызывающей развитие опухоли с 10%-ной вероятностью («benchmark dose») на основании этих данных была оценена на уровне 201 мг/кг массы тела.

Исследование на крысах линии Fisher включало 2-летний эксперимент на группах животных численностью 60 особей каждого пола для каждой дозы. Дозы составляли 0, 2, 60, 200 мг/кг массы тела (для самцов и самок) и 400 мг/кг массы тела (только самки).

Наблюдали дозозависимую гиперплазию гладкой мускулатуры матки и лейомиомы матки у самок и кардиомиопатию у самцов. У самцов какой-либо связи приёма препарата с новообразованиями выявлено не было. Расчетная величина NOAEL для самок и самцов, в соответствии с этим, составила 60 и 2 мг/кг массы тела [1, 5].

На основании приведённых опытных данных был сделан вывод [5], что развитие лейомиом матки у грызунов является, по-видимому, общей особенностью действия стимуляторов  $\beta$ -адренорецепторов. При этом рактопамин не является прямым (direct) канцерогеном и индукция лейомиом не должна рассматриваться как пороговый эффект на генотоксическом уровне, так как все перечисленные воздействия, по-видимому, связаны только с активностью рактопамина как агониста  $\beta$ -адренорецепторов.

Репродуктивная токсичность была тестирована в двух поколениях крыс с оценкой параметров тератогенности во втором поколении. Используемые дозы рактопамина составляли 0, 2, 20, 200 и 2000 мг/кг корма, что соответствовало 0; 0,15; 1,4; 15 и 160 мг/кг массы тела у самцов. Средний уровень потребления кормящими самками в 2,6 раза превосходил потребление на поздних сроках беременности. Родительская группа состояла из 25 животных каждого пола на каждую дозу. Связанные с действием препарата эффекты наблюдались при наибольшей из доз, и проявлялись как у родителей (увеличение смертности), так и у развивающегося потомства (увеличенная смертность, структурные аномалии, задержка роста). Снижение прибавки массы тела наблюдалось в поколении  $F_0$  только для самцов, а в поколении  $F_1$  – у самцов и самок только при дозе рактопамина 2000 мг/кг корма. В этой же дозе у самцов в поколении  $F_1$  достоверно снижалось потребление пищи. Сделан вывод, что NOAEL по влиянию на мать и плод составляет 200 мг/кг корма или 15 мг/кг массы тела. Тератогенные эффекты в этом исследовании явно не наблюдались [1,2, 5].

Резюмируя данные исследований на животных, необходимо констатировать, что величины максимальных недействующих доз (NOAEL или NOEL), рассчитываемые по показателям, связанным с активностью рактопамина как агониста  $\beta$ -адренорецепторов, оказываются значительно завышенными (на 1-3 порядка величины) при многократном введении в подострых и субхронических экспериментах по сравнению с однократным введением. Данное обстоятельство связано, предположительно, с установленным для рактопамина свойством вызывать снижение численности  $\beta$ -адренорецепторов, в первую очередь, на клетках лёгких, а возможно, и других органов. Следствием этого становится снижение чувствительности (десенсбилизация) к рактопамину, что наиболее рельефно проявляется при оценке его фармакодинамических свойств. С учетом этих обстоятельств, эксперты EFSA посчитали данные о величине NOAEL рактопамина, полученные в подострых и субхронических экспериментах на животных,

недостаточно надежными и информативными для обоснования его допустимой суточной дозы (ADI).

## **II ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ**

### ***2.1 Допустимые уровни воздействия***

В 1994 году на основании имеющихся результатов краткосрочных исследований Комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам пришел к выводу, что остаточные количества рактопамина способны оказывать слабовыраженное токсическое действие на потребителей. Отмеченные эффекты были характерны в основном для агонистов  $\beta$ -адренорецепторов. В этой связи целесообразно оценивать рактопамин на основе недействующего уровня для фармакологических эффектов, наблюдающихся при употреблении людьми мяса, содержавшего остаточные количества препарата. Однако ввиду того, что недействующий уровень не удалось определить в ходе исследования на собаках, продолжавшегося 1 год, ДСП для данного препарата установлен не был [5].

Допустимая суточная доза (ДСД) рактопамина была одобрена на 62-ом заседании комитета JECFA (2004 г.) на основании недействующего уровня (NOEL) для фармакологических эффектов у людей-добровольцев. В качестве критического ответа со стороны здоровья для расчета ДСД были выбраны симптомы со стороны сердечнососудистой системы. Значение NOEL 67 мкг/кг было установлено на основе изменений таких показателей как электрическая систола, время изгнания левого желудочка, фракция выброса. Были использованы два фактора неопределенности – 10, учитывающий индивидуальные особенности, и 5 – для учета внутривидовой вариабельности, а также неопределенностей, связанных с небольшим размером группы исследования. Таким образом, общее значение фактора неопределенности составило 50. Комитет утвердил значение ДСД для рактопамина 0-1 мкг/кг массы тела в день, полученной с использованием NOEL 67 мкг/кг массы тела и фактора неопределенности 50. В 2006 и 2010 г.

комитет JECFA данные величины были подтверждены без достижения консенсуса.

В ходе оценки материалов, проведенной Европейским управлением безопасности пищевых продуктов (EFSA), был установлен ряд недостатков при обосновании ДСД. В частности, не были приняты во внимание результаты некоторых исследований на животных, в которых не удалось установить недействующий уровень, отмечались недостатки исследования для задач установления ДСД, в том числе недостаточная численность испытуемых, открытый дизайн исследования [1].

Тем не менее, значение ДСД 0-1 мкг/кг массы тела эквивалентной 0-60 мкг для индивида массой 60 кг учитывалось при установлении значений максимального допустимого содержания остаточных количеств рактопамина в продуктах животного происхождения; рактопамин использовался в качестве маркера, критическим органом были выбраны почки.

JECFA были рекомендованы следующие значения МДУ рактопамина в продуктах животного происхождения (свиньи и крупный рогатый скот), для мышечной ткани и для съедобных жиров – 10 мкг/кг; для печени – 40 мкг/кг, для почек – 90 мкг/кг. При таких значениях МДУ максимальное суточное поступление составит 50,5 мкг с учетом суточного набора продуктов питания (300 г мяса, 100 г печени, 50 г почек, 50 г съедобного жира) или 84% верхней границы предложенного JECFA допустимого суточного поступления.

## ***2.2 Оценка зависимости «экспозиция – эффект»***

В качестве исходной информации для формирования модели зависимости «экспозиция – эффект» для расчета уровня канцерогенного риска использовалась информация о развитии лейомиомы матки в эксперименте на мышах (табл. 3) [16].

Таблица 3 - Исходная информация для моделирования канцерогенного риска, связанного с потреблением остаточных количеств рактопамина с пищевыми продуктами

Доза, мг/кг массы тела в сут.	Число мышей в опыте	Число случаев ответа (лейомиомы матки)	Вероятность развития лейомиомы матки	Дополнительный риск развития лейомиомы матки
0	60	1	0,016667	0
35	60	5	0,083333	0,066667
175	60	8	0,133333	0,116667
1085	60	10	0,166667	0,15

Данная информация соответствует зависимости между воздействующей дозой рактопамина и случаями гиперплазии матки у крыс, описанной в формуле 1:

$$R = a \cdot D, \quad (1)$$

где  $R$  – количество случаев гиперплазии матки,  $D$  – доза рактопамина [мг/кг],  $a = 0,0011 \pm 0,000213$  – параметр модели.

В отношении неканцерогенного воздействия моделирование зависимости «экспозиция – эффект» проводилось на основании информации приведенной в докладах ФАО/ВОЗ [5] и европейских экспертов [1]. В качестве базовой модели использовалась эволюционная модель накопления риска нарушений функций сердечнососудистой системы, описанная в методических рекомендациях МР 2.1.10.0062-12 «Количественная оценка неканцерогенного риска при воздействии химических веществ на основе построения эволюционных моделей» [35].

В соответствии с указанным документом при моделировании строится рекуррентное соотношение накопления риска функциональных нарушений для сердечнососудистой системы:

$$R_{t+1} = R_t + (\alpha \cdot R_t + \beta \cdot D)C \quad (2)$$

с заданным начальным значением риска  $R_0$ , где

$R_{t+1}$  – риск нарушений в момент времени  $t+1$ ;

$R_t$  – риск нарушений в момент времени  $t$ ;

$\alpha = 0,0835$  – коэффициент эволюции риска за счет естественных причин,

$\beta$  – коэффициент воздействия рактопамина,

$C$  – временной эмпирический коэффициент (для суточного осреднения  $C=0,00274$ ),

$D$  – доза рактопамина [мкг/кг].

Как следует из информации о токсикокинетике рактопамина [36], его содержание в организме снижается в течение суток на 85% за счет процессов выведения. Описание процессов выведения с использованием экспоненциальной зависимости (рис.1) позволило заключить, что при ежесуточном поступлении эффективная доза увеличивается на 17 %, т.е. при оценке влияния необходимо учитывать дозу с коэффициентом 1,17, что соответствует верхней границе уровня воздействия. При получении оценок на нижней границе целесообразно использовать коэффициент  $1,17 \cdot 0,15 = 0,176$ .

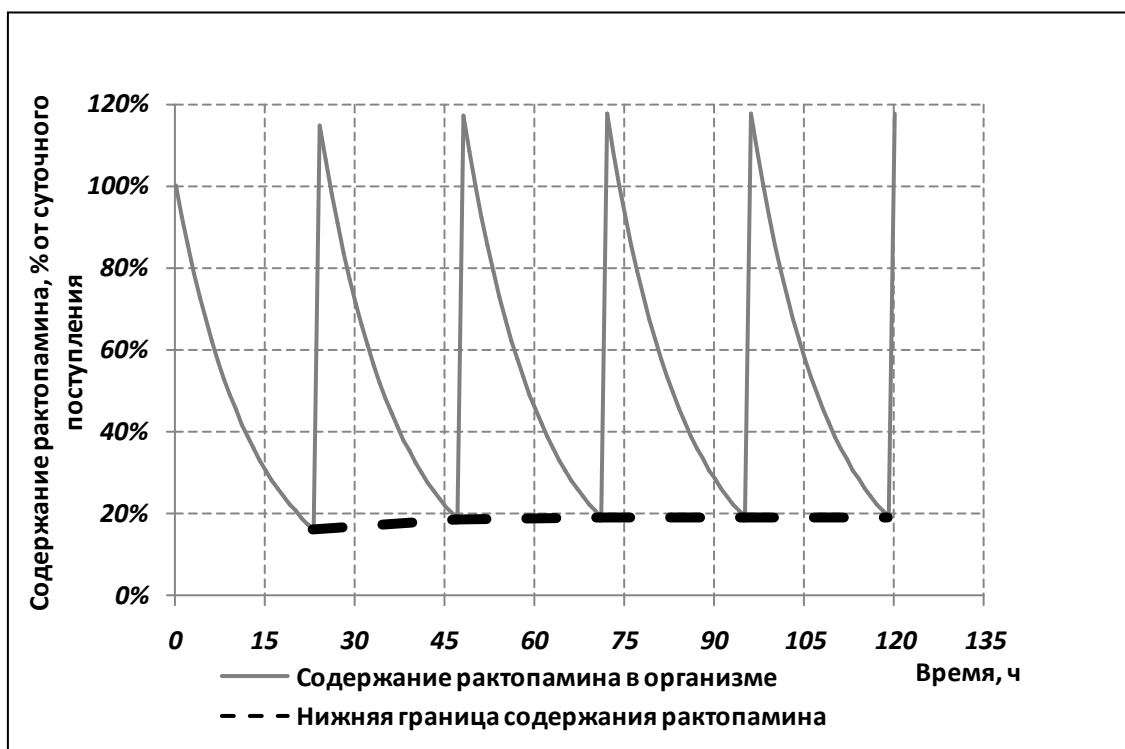


Рисунок 1 - Изменение содержания рактопамина при ежесуточном поступлении

При построении модели накопления риска нарушений сердечнососудистой системы, обусловленного действием рактопамина, учитывали эффект воздействия данного вещества на бета-адренорецепторы. Адреномиметическое действие рактопамина вызывает нарушения функций сердечнососудистой системы, маркером которых является устойчивая тахикардия (увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС)). Для параметризации этого воздействия, представленного коэффициентом  $\beta$  в соотношении (2), использовались результаты исследований по оценке влияния различных доз рактопамина на функциональные показатели сердечнососудистой системы [1]. По приведенным данным о влиянии рактопамина на изменение маркера эффекта восстановлена модель зависимости «доза- эффект», представленная на рисунке 2.

$$\Delta \times \tilde{N} \tilde{N} = a \cdot D, \quad (3)$$

где  $\Delta \times \tilde{N}\tilde{N}$  – прирост частоты сердечных сокращений [уд./мин],  $D$  – доза рактопамина [мкг/кг],  $a = 0,0871$  – параметр модели.

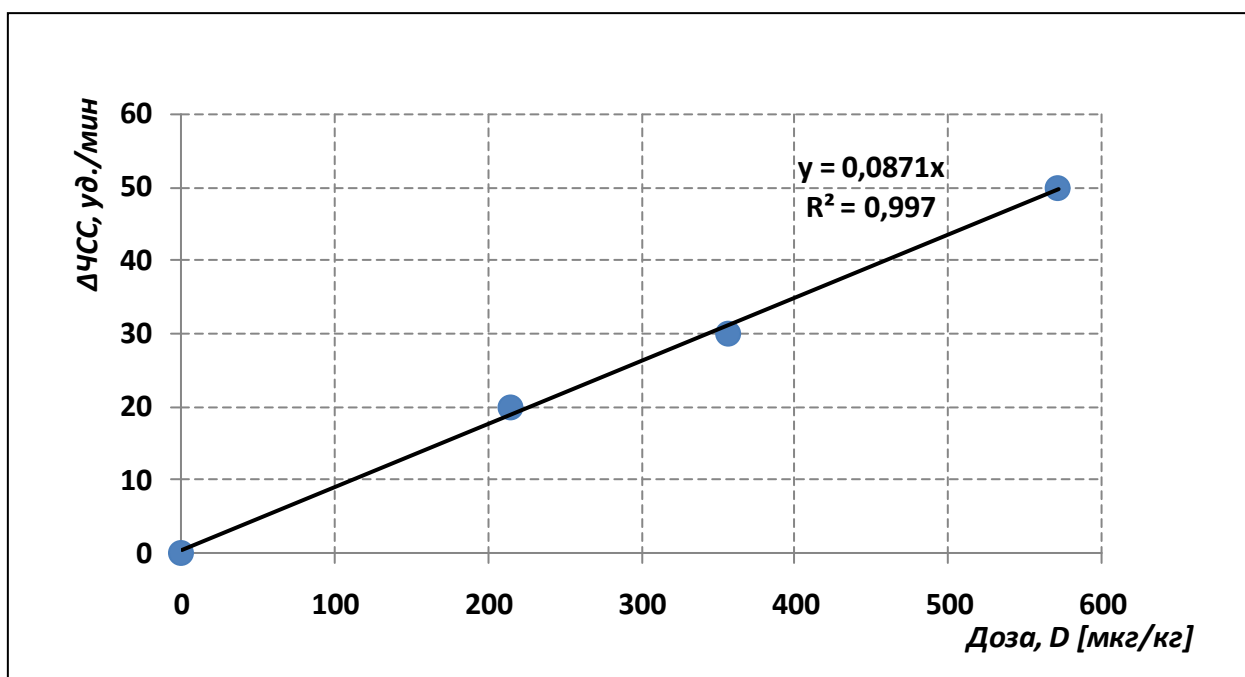


Рисунок 2 - Модель зависимости между дозой рактопамина и изменением частоты сердечных сокращений

Частота сердечных сокращений является одним из маркеров нарушений кинетической функции сердечной деятельности. Помимо этого, нарушения функций сердечнососудистой системы сопряжены с изменением целого комплекса характеристик. Принимая во внимание наличие устойчивых причинно-следственных связей между комплексом параметров, характеризующих состояние сердечнососудистой системы, зависимость можно оценить как:

$$\Delta x_i = a_i \cdot \Delta \times \tilde{N}\tilde{N}, \quad (4)$$

где  $\Delta x_i$  – изменение  $i$ -го параметра, характеризующего состояние сердечнососудистой системы,  $a_i$  – параметры связи (табл. 4).



Таблица 4 - Параметры связи между частотой сердечных сокращений и показателями функциональных нарушений сердечнососудистой системы

Показатель	$a_i$
Сегмент PQ	0,0001948
Комплекс QRS	0,0000664
Зубец P	0,0001819
Конечный диастолический объем	0,9405617

Учет изменения комплекса показателей при моделировании накопления риска нарушений функций сердечнососудистой системы выполнен согласно преобразования, описанного в [37]. С учетом связей между показателями значение коэффициента  $\beta$  в модели (2) определяется соотношением:

$$\beta = a \cdot \sum_i (\delta_i \cdot a_i) / 0,00274 \quad (5)$$

где,  $\delta_i$  – весовой коэффициент  $i$ -го показателя нарушений сердечнососудистой системы ( таблица 5).

Таблица 5 - Весовые коэффициенты показателей нарушения сердечнососудистой системы

Показатель нарушений ССС	$\delta_i$
Сегмент PQ	0,00034
Комплекс QRS	0,22800
Зубец P	0,69000
Глюкоза в крови	0,22800
Холестерин ЛПВП в крови	0,02295
Конечный диастолический объем	0,00051

Используя значения коэффициентов, представленных в таблицах 2 и 3 получено значение коэффициента  $\beta = 0,191$ .

Таким образом, окончательный вид рекуррентного уравнения для нижней границы уровня воздействия рактопамина на функции сердечнососудистой системы представлен формулой 6:

$$R_{t+1} = R_t + (0,0835 \cdot R_t + 0,191 \cdot 1,17 \cdot 0,15 \cdot D) \cdot 0,00274 \quad (6)$$

с начальным условием  $R_0=0,001359$

Данное рекуррентное уравнение является основой для построения кривой эволюции риска нарушений функций сердечнососудистой системы под воздействием дозы D рактопамина (расчетный риск) и сопряженной с ней кривой без учета влияния рактопамина ( $D=0$ ) (фоновый риск). Дополнительный риск ( $\Delta R_t$ ) определяется как разность между фоновой и расчетной кривой риска.

Оценка риска выполняется на основе расчета приведенного индекса риска:

$$\tilde{R}_t = \frac{\Delta R_t}{1 - R_t^\phi} \quad (7)$$

где -  $\tilde{R}_t$  - приведенный индекс риска,  $\Delta R_t$ - прирост риска, обусловленный рассматриваемым фактором (в данном случае рактопамином),  $R_t^\phi$ - фоновый риск на момент времени (к возрасту) t.

Приведенный индекс риска шкалировался по диапазонам значений:

0-0,05 – приемлемый риск

0,06-0,35 – умеренный риск

0,36-0,6 – высокий риск

0,61-1 – очень высокий риск

Оценка пожизненного риска выполнялась для времени поступления рактопамина  $t=25550$  часов, что соответствует 70 годам.

Прогноз дополнительных случаев заболеваний сердечнососудистой системы, в случае реализации расчетного риска воздействия рактопамина ( $\Delta Z$ ) с учетом возрастной структуры населения был произведен по соотношению [35]:

$$\Delta Z = Z \frac{\sum_t \frac{\Delta R_t}{R_t^0} N_t}{\sum_t N_t} \quad (8)$$

где:

Z – число случаев зарегистрированных заболеваний в течение года у всего населения.

N – численность населения в возрастной группе t.

### III. ОЦЕНКА ЭКСПОЗИЦИИ

Проведенный анализ потребления продуктов в Китае в течение 80 лет показал, что мясные продукты у 97,5% населения в рационе представлены, в основном (на 87%-88%) субпродуктами (печень, почки). Таким образом, в составе рационов питания населения Китая, содержащего 200 г почек, 250 г печени и 300 г легких уровень поступления рактопамина может достигать до 61 мкг/человека в день, что близко к верхней границе ДСД. Возможность же использования в питании легких, содержащих остаточные количества рактопамина, в соответствии с мнением Комитета Комиссии Кодекс Алиментариус, требует дополнительных обоснований [8]. Этим объясняется особая позиция Китая по отношению к использованию рактопамина при откармливании убойных животных и птицы.

Для оценки экспозиции населения Российской Федерации рактопамином использованы данные о потреблении продуктов питания в Российской Федерации в 2010 [38] (табл. 6).

Таблица 6- Потребление продуктов животного происхождения населением Российской Федерации

Пищевые продукты	Уровень суточного потребления, кг
------------------	-----------------------------------

Мясо (мышечная ткань)	0,221
Съедобные жиры животного происхождения	0,001

Необходимо также иметь в виду факт того, что при снижении уровня доходов в семье, население, как правило, переходит на питание более дешевой мясной продукцией – субпродуктами, которые могут содержать большие количества рактопамина.

На основе представленных данных было установлено максимальное суточное поступление рактопамина с продуктами питания в соответствии с остаточными количествами рактопамина, предлагаемыми Комиссией Codex Alimentarius, (для мышечной ткани и для съедобных жиров – 10 мкг/кг; для печени – 40 мкг/кг, для почек – 90 мкг/кг), которое составило 0,029 мкг/кг веса в сутки. Стандартный вес человека был принят в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения за 60 кг [39].

Рассмотрено два сценария экспозиции (табл.7). В первом предполагается потребление пищевых продуктов с остаточным содержанием рактопамина на уровне, рекомендуемом Комиссией Codex Alimentarius в соответствии с потреблением продуктов животного происхождения для населения Российской Федерации. Во втором рассматривается поступление рактопамина при содержании в пищевых продуктах на уровне нижней границы его количественного определения в тканях (3-5 мкг/кг) [16].

По результатам обследования домашних хозяйств среднее потребление мяса и мясопродуктов населением Российской Федерации составило в 2010 году 80,9 кг или 0,2116 кг в день, среднее потребление съедобных жиров животного происхождения за этот же период составило 0,3 кг или около 0,001 кг. Информация о расчете суточных доз рактопамина по выбранным сценариям представлена в таблицах [1,16].

Таблица 7 - Расчет дозы рактопамина при употреблении пищевых продуктов с остаточным содержанием на уровне, рекомендуемом Комиссией Codex Alimentarius

Продукт	Поступление, кг	Содержание рактопамина в продукте, мкг/кг	Поступление рактопамина, мкг	Доза, мкг/кг массы тела
мясо	0,2216	10	2,216	0,0369
съедобные жиры	0,0008	10	0,008	0,0001
Всего			2,224	0,0371

Таблица 8 - Расчет дозы рактопамина при употреблении пищевых продуктов с остаточным содержанием на уровне, нижней границы его количественного определения в тканях

Продукт	Поступление, кг	Содержание рактопамина в продукте, мкг/кг	Поступление рактопамина, мкг	Доза, мкг/кг массы тела
мясо	0,2216	3	0,664	0,011
съедобные жиры	0,0008	3	0,002	0,00004
Всего			0,667	0,011

Таким образом, средняя суточная доза поступления рактопамина при реализации первого сценария составит 0,0371 мкг/кг массы тела, второго сценария – 0,011 мкг/кг массы тела.

#### IV. ХАРАКТЕРИСТИКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Расчет канцерогенного риска, связанного с потреблением с пищевыми продуктами дозы рактопамина, рекомендованной Комиссией Codex Alimentarius (0-1 мкг/кг веса тела в сутки) показал, что уровень верхней 95%-ной границы канцерогенного риска составит  $1,32 \cdot 10^{-6}$ , что классифицируется как уровень, соответствующий предельно допустимому риску.

Оценка неканцерогенного риска здоровью при воздействии рактопамина, поступающего с пищевыми продуктами, производилась для двух сценариев, предложенных на этапе оценки экспозиции [40]. Результаты расчета эволюции дополнительного риска функциональных нарушений сердечнососудистой системы для двух сценариев представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Эволюция дополнительного риска функциональных нарушений сердечнососудистой системы

Возраст, лет	Дополнительный риск	
	Сценарий 1	Сценарий 2
5	0,000	0,000
10	0,001	0,000
15	0,002	0,001
20	0,003	0,001
25	0,005	0,001
30	0,008	0,002
35	0,013	0,004
40	0,020	0,006
45	0,030	0,009
50	0,046	0,014
55	0,071	0,021
60	0,108	0,032
65	0,164	0,049
70	0,249	0,075
75	0,287	0,114

Оценка риска выполнялась на основе результатов расчета приведенного индекса риска по формуле (7).

Оценка пожизненного риска выполнялась с учетом поступления рактопамина в течение 70 лет (ожидаемая продолжительность жизни в Российской Федерации).

Результаты изменения приведенного индекса риска для двух сценариев приведены в таблице 10.

Таблица 10 - Результаты изменения приведенного индекса риска

Возраст, лет	Приведенный индекс риска $\tilde{R}_i$	
	Сценарий 1	Сценарий 2
5	0,000	0,000
10	0,001	0,000
15	0,002	0,001
20	0,003	0,001
25	0,005	0,002
30	0,008	0,002
35	0,013	0,004
40	0,020	0,006
45	0,032	0,010
50	0,051	0,015
55	0,082	0,024
60	0,135	0,041
65	0,237	0,071
70	0,470	0,141
75	1,000	0,396

Оценка изменения приведенного индекса риска нарушения функций сердечнососудистой системы показывает, что неприемлемый уровень данного риска сформируется в случае поступления рактопамина при его содержании в пищевых продуктах на уровне остаточных количеств, рекомендуемых Комиссией Codex Alimentarius к возрасту 25 лет, на уровне предела количественного определения – к возрасту 40 лет.

В результате моделирования нарушения функций сердечнососудистой системы установлено, что при реализации первого сценария (поступления пищевых продуктов, содержащих рактопамин на уровне остаточных

количество, предложенных Комиссией Codex Alimentarius) приведенный риск нарушения функций сердечнососудистой системы составит к возрасту 70 лет 0,47, что в соответствии с МР 2.1.10.0062-12 [35] классифицируется как неприемлемый риск. Этот уровень риска может привести к дополнительным заболеваниям сердечнососудистой системы и сокращению прогнозируемой продолжительности жизни населения Российской Федерации. Результаты расчета для указанных сценариев представлены на рисунках (3-5).

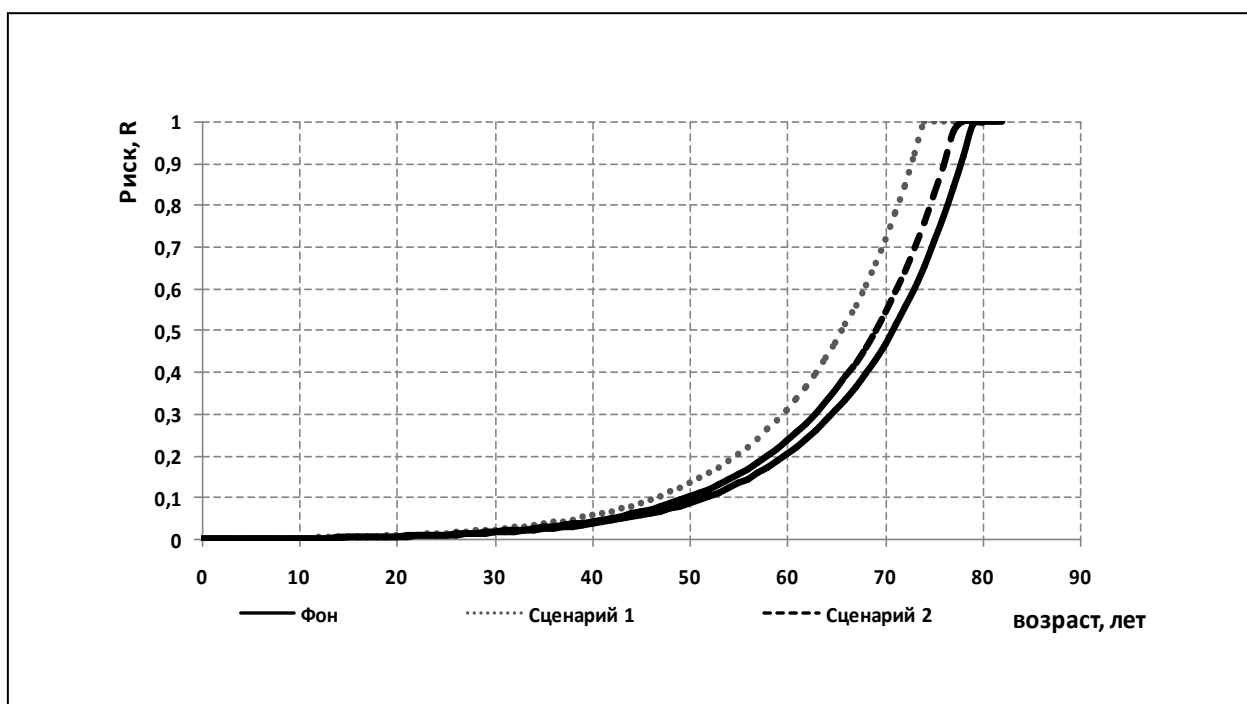


Рисунок 3 - Риск нарушений функций сердечнососудистой системы

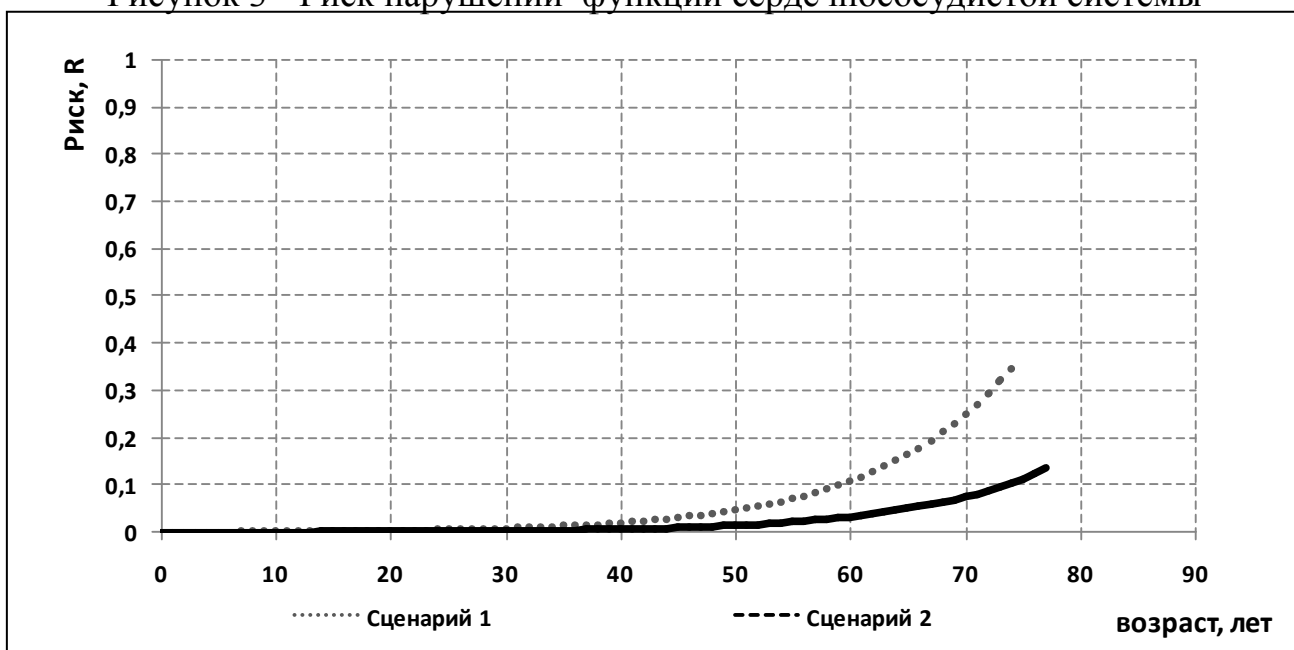




Рисунок 4 - Дополнительный риск нарушений функций сердечнососудистой системы

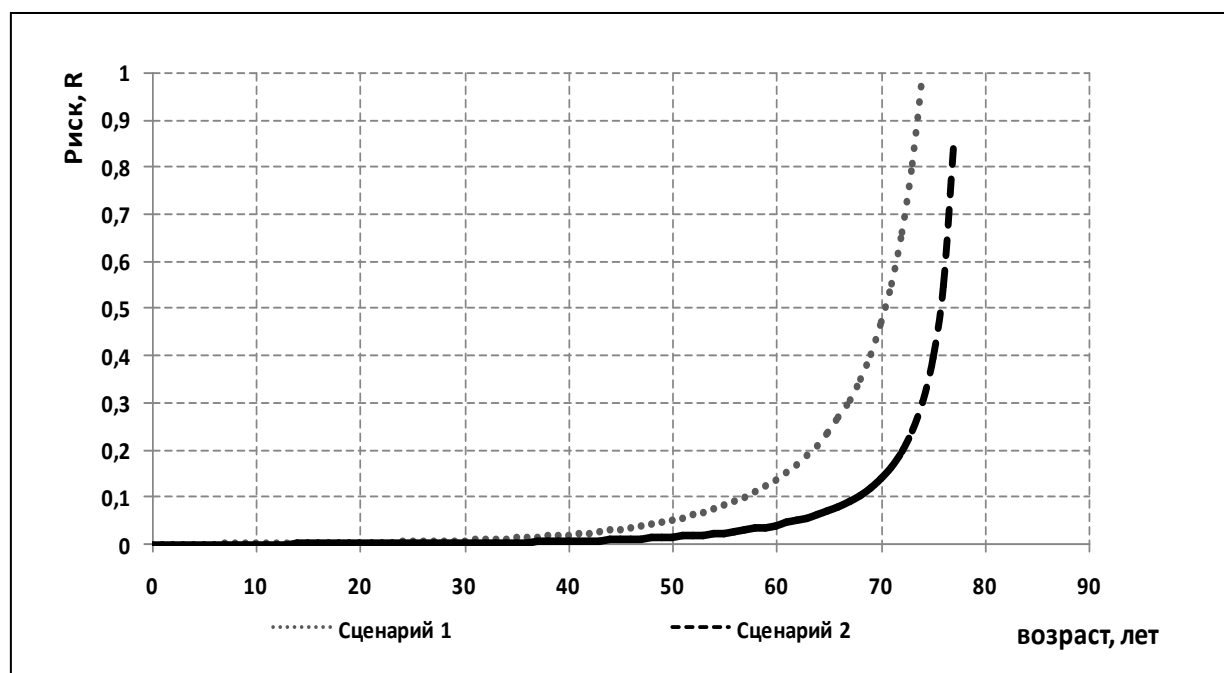


Рисунок 5 - Приведенный риск нарушений функций сердечнососудистой системы

При оценке риска по второму сценарию (поступления рактопамина с пищевыми продуктами на уровне предела количественного определения) приведенный риск нарушения функций сердечнососудистой системы составит 0,141, что в соответствии с МР 2.1.10.0062-12 [35], также классифицируется как неприемлемый риск. Этот уровень риска также может привести к сокращению прогнозируемой продолжительности жизни за счет дополнительных случаев заболеваний сердечнососудистой системы (болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением, атеросклеротической болезни сердца).

## V. ОЦЕНКА НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Возможные неопределенности подразделяются на три категории:

- обусловленные отсутствием или неполнотой информации;
- связанные с параметрами, используемыми для оценки экспозиции и расчета рисков (неопределенность параметров);
- обусловленные пробелами в научной теории, необходимой для предсказания на основе причинных связей (неопределенности модели).

К первой относятся недостаточно полная информация о возможных эффектах при хроническом воздействии рактопамина на организм человека, особенно на наиболее чувствительные группы населения.

Ко второй категории можно отнести неопределенности, связанные с потреблением пищевых продуктов. Например, в Российской Федерации имеется тенденция к увеличению доли мясных и молочных продуктов в рационе населения. Федеральный закон от 3 декабря 2012 г. № 227-ФЗ "О потребительской корзине в целом по Российской Федерации" предусматривает увеличение объема потребления (в среднем на одного человека в год) молочных и мясных продуктов питания.

К неопределенностям моделей следует отнести и ограниченное количество данных исследований, по результатам которых вычислялись параметры моделей. Величины этих параметров могут варьироваться в популяции, неточность в их определении может определяться использованием обобщенных, усредненных данных для больших популяций. Применение стандартных величин увеличивает неопределенности оценок экспозиции и риска, степень которых характеризуется на основе анализа чувствительности параметров. Кроме того, неопределенности таких параметров, как допустимые суточные дозы связаны с применением модифицирующих факторов или необоснованным отказом от их использования. Вместе с тем, некоторая недооценка риска здоровью может быть связана с отсутствием данных о потреблении населением Российской

Федерации субпродуктов, в частности, печени и почек сельскохозяйственных животных

Неопределенности третьей категории обусловлены недостаточно полным представлением о закономерностях формирования нарушений функций сердечнососудистой системы под воздействием рактопамина и связанных с этим нарушений здоровья населения.

В целом, неопределенность результатов исследования следует охарактеризовать как высокую.

В соответствии с этим, группа экспертов [1] приходит к выводу, что величина ДСД (ADI), определенная из данных этого исследования, находится в интервале 0-1 мкг/кг массы тела, т.е. достоверно не отличается от нуля, ввиду чего и не может быть практически использована, в частности, при определении допустимых остатков рактопамина в мясных продуктах. Необходимо также учитывать и некоторые дополнительные факторы, влияющие на неопределенность оценки токсических свойств рактопамина.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Анализ информации, использованной для обоснования величины ДСД (ADI) рактопамина и его остаточного содержания в пищевых продуктах, и результаты оценки риска здоровью населения позволили сделать следующие выводы:

1. Данные о возможных отдаленных эффектах при длительном поступлении препарата в составе рационов не надежны, т.к. получены в экспериментах на животных при таких дозах, при которых, возможно, имела место десенсибилизация к препарату.
2. Отсутствуют данные о кумулятивных эффектах рактопамина.
3. Отсутствуют данные о влиянии рактопамина на состояние сердца и сосудов на клеточном уровне (гистологические исследования миокарда, эндокарда, эндотелия, интимы и мышечной оболочки).

4. Данные об отсутствии у рактопамина генотоксического и канцерогенного действия частично противоречивы.

5. Анализ токсикологических данных показывает, что NOAEL в разных экспериментах на различных видах животных колеблется в достаточно больших пределах – от 2 мкг/кг массы тела (в остром эксперименте на собаках) до 60 мг/кг массы тела (в исследованиях канцерогенеза в 2-х летнем эксперименте на крысах). Тем не менее, основанием для установления ДСД были использованы данные исследований на 6 добровольцах, результаты тестов у которых были не совсем однозначными.

6. Отсутствуют данные о влиянии рактопамина при поступлении с пищей на различные возрастные группы населения (детей раннего возраста с момента введения мясного прикорма, пожилых людей, женщин и мужчин репродуктивного возраста).

7. Отсутствуют данные о влиянии рактопамина, содержащегося в мясе убойных животных, на состояние здоровья людей с системными заболеваниями респираторного тракта, сердечнососудистой системы и нарушениями ритма сердца.

8. Отсутствуют данные о возможном синергическом воздействии рактопамина с лекарственными препаратами -  $\beta_2$ -адреномиметиками, широко применяемыми в медицинской практике.

9. При установлении NOEL и ДСД для рактопамина не учтены рекомендации ВОЗ «Принципы оценки безопасности пищевых добавок и контаминантов в продуктах питания», Женева, 1991 [39], в соответствии с которыми должен соблюдаться сбалансированный подход в оценке разных видов потенциальных неблагоприятных эффектов, и как обязательная должна тестироваться связь с болезнями – наиболее частыми причинами смерти в разных странах. В Российской Федерации, как и в большинстве экономически развитых стран мира, заболевания сердца и сосудов обуславливают более половины (~55% по данным Росстата) смертей населения [41].

10. Отсутствуют данные о возможных воздействиях рактопамина на кишечный микробиоценоз.

11. Не учтена специфика питания (привычки) населения в Российской Федерации, связанные с различным ассортиментом применяемых мясных продуктов.

12. Употребление мясопродуктов при условии установления допустимых остаточных количеств рактопамина на уровне 10 мкг/кг в мышечной ткани, 10 мкг/кг в жировой ткани, 40 мкг/кг в печени, 90 мкг/кг в почках может привести к неприемлемому риску функциональных нарушений и болезней сердечнососудистой системы (болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением, атеросклеротической болезни сердца).

13. Употребление продуктов при установлении в них допустимых остаточных количеств рактопамина на уровне предела его определения в тканях животных методом, рекомендованном Комиссией Codex Alimentarius (3 мкг/кг) также может привести к неприемлемому дополнительному уровню риска функциональных нарушений и болезней сердечнососудистой системы (болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением, атеросклеротической болезни сердца).

Таким образом, на основании вышеизложенного считаем, что принятая допустимая суточная доза рактопамина недостаточно обоснована и не может быть использована для установления максимально допустимых уровней содержания рактопамина в мясе и субпродуктах. Максимально допустимые уровни содержания рактопамина в пищевых продуктах в настоящее время не могут быть приняты в Российской Федерации и употребление населением пищевых продуктов, содержащих рактопамин на этих уровнях, и даже на уровнях предела количественного определения в мясопродуктах, недопустимо из-за неприемлемого риска функциональных нарушений и болезней сердечнососудистой системы.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on a request from the European Commission on the safety evaluation of ractopamine // The EFSA Journal.-2009.- Vol. 1041.- P.1-52

2. MacNeil J.D., Saskatoon, Soback S. Ractopamine Hydrochloride // Supersedes the monograph prepared by the 40th Meeting of the Committee and published in FAO Food & Nutrition Paper 41/5.- FAO FNP 41/16.- P.75-92.- <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-vetdrugs/details.html?substance=386>

3. Council Directive 96/22/EC of 29 April 1996 concerning on the use in stockfarming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of beta-agonists, and repealing Directives 81/602/EEC, 88/146/EEC and 88/299/EEC // Official Journal of the European Communities.- L. 125.- p.3-9

4. Alemanno A., Capodici G. Testing the Limits of Global Food Governance: The Case of Ractopamine // European Journal of Risk Regulation.- 2012.- Vol.3.- 12 p.

5. Evaluation of certain veterinary drug residues in food // Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series.- 925.- Rome.- 2004.- p.37-49

6. Health Canada table of Administrative Maximum Residue Limits (AMRLS) and Maximum Residue Limits (MRLS) for veterinary drugs in human food products // Health Canada, 2012, URL: [www.hc-sc.gc.ca](http://www.hc-sc.gc.ca).

7. Codex Alimentarius Commission adopts maximum residue levels. UN food safety body sets limits on veterinary growth promoting drug 06-07-2012 <http://www.fao.org/news/story/en/item/150953/icode/>

8. Residue evaluation of certain veterinary drugs. Meeting 2010 – Evaluation of data on ractopamine residues in pig tissues // Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.- Rome.- 2010.- 52 p.

9. Joint FAO/WHO Food Standard Programme Codex Alimentarius Commission. Thirty-fifth Session FAO Headquarters, REP12/CAC Rome, Italy 2-7 July.- 2012.- 87-120 p.

10. Fritz R. Ungemach Ractopamine (addendum) //WHO Food additives series: 53.- <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v53je08.htm>

11. Human Safety Assessment of Ractopamine Conducted by Health Canada //Health Canada.- [www.hc-sc.gc.ca](http://www.hc-sc.gc.ca)

12. Hunt T.L. (1994) Cardiovascular activity and safety of ractopamine hydrochloride: determination of a no-effect dose. Unpublished report on study No. T4V-LC-ERAA from Pharmaco LSR, Austin, Texas 78704, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

13. Smith D.J. & Rodewald, J.M. (1994) Urinary excretion of ractopamine and its conjugated metabolites by humans. Unpublished report on study No. T4V759404 from Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. Submitted to WHO by Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

14. Smith D.J. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of beta-adrenergic agonists in livestock// J. Anim. Sci.-1998.- Vol. 76.- P.173-194.

15. Alemanno A., Capodici G. Testing the Limits of Global Food Governance: The Case of Ractopamine //European Journal of Risk Regulation.- 2012.- Vol.3.-12 p.

16. Residue Evaluation of Certain Veterinary. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting 2010 - Evaluation of data on ractopamine Residue in pig tissues, FAO, Rome, 2010

17. Ritter L. Ractopamine //WHO Food additives series.- <http://www.inchem.org/documents/jecfa/>

18. El-Armouche A., Gocht F., Jaeckel E., et al. Long-term  $\beta$ -adrenergic stimulation leads to downregulation of protein phosphatase inhibitor-1 in the heart// European Journal of Heart Failure.-2007.- Vol. 9.- P.1077-1080;

19. Galandrin S. and Bouvier M. Distinct Signaling Profiles of  $\beta_1$  and  $\beta_2$  Adrenergic Receptor Ligands toward Adenylyl Cyclase and Mitogen-Activated Protein Kinase Reveals the Pluridimensionality of Efficacy // *Mol. Pharmacol.* - 2006. - Vol. 70. - P. 1575–1584.

20. Драпкина О.М. Кальциевые блокаторы в профилактике инсульта. *Consilium Medicum.* - 2005. - Т. 7, N 2 (<http://old.consilium-medicum.com/media>)

21. M. Vidal, T. Wieland, M. J. Lohse, K. Lorenz.  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation causes cardiac hypertrophy via a G $\beta$  $\gamma$ /Erk-dependent pathway, *Cardiovascular Research Advance Access* published July 27, 2012, [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com)

22. Azbel M.Y. Universal biological scaling and mortality // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1994. — V. 91. — P. 12453—12457.

23. Dyer A.R., Persky V., Stamler J., et al. , Heart rate as a prognostic factor for coronary heart disease and mortality: findings in three Chicago epidemiologic studies // *Am. J. Epidemiol.* - 1980. - Vol. 112, N 6. - P. 736-749

24. Diaz A., Bourassa M.G., Guertin M.C. et al. Long-term prognostic value of resting heart rate in patients with suspected or proven coronary artery disease // *Eur. Heart J.* — 2005. — V. 26, N 10 — P. 967—974

25. Шальнова С.В., Деев А.Д., Оганов Р.Г. и др. // *Кардиология.* – 2005. – Т. 10. — С. 45—50

26. Pearen M.A., Ryall J.G., Lynch G.S., Muscat G. EO Expression profiling of skeletal muscle following acute and chronic  $\beta_2$ -adrenergic stimulation: implications for hypertrophy, metabolism and circadian rhythm // *BMC Genomics.* - 2009. - Vol. 10. - P. 448-468

27. Salpeter S. R., Aaron S. D. Should we avoid  $\beta$ -agonists for moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease? *Debates // Canadian Family Physician ( Le Médecin de famille canadien).* - 2007. - Vol. 53. - P. 1290-1293

28. Michael E. Wechsler, Mario Castro, Erik Lehman et al. Impact of Race on Asthma Treatment Failures in the Asthma Clinical Research Network Research



Network //American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.- 2011.- Vol. 184.-P.1247-1257

29. Yang Yi Tien, McElligott M.A. Multiple actions of  $\beta$ -adrenergic agonists on skeletal muscle and adipose tissue (Review article) //Biochem. J.-1989.-Vol. 261.- P. 1-10

30. Yan H., Deshpande D.A., Misior A.M. Anti-mitogenic effects of  $\beta$ -agonists and  $\text{PGE}_2$  on airway smooth muscle are PKA dependent //FASEB J. - 2011.-Vol. 25, N 1.- P.389–397.

31. O'Hagan A. R., Morton R., Eid N. Loss of Asthma Control in Pediatric Patients after Discontinuation of Long-Acting Beta-Agonists //Hindawi Publishing Corporation Pulmonary Medicine.- Vol. 2012.- Article ID 894063.- 6 p.

32. Sears M.R. Adverse effects of beta-agonists //J. Allergy Clin. Immunol.- 2002.-Vol.110.- P. 322-S328.

33. Hoeks J., Baak M. A., Hesselink M. K. C., et al. Effect of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic stimulation on energy expenditure, substrate oxidation and UCP3 expression in humans. /Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.-2003.- Vol. 285.- P.E775-E782.

34. Сороковой доклад объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам. №806- ВОЗ- Женева.-1994.- 88 с.

35. 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 – 36 с.

36. A Chronic Toxicity Study of Ractopamine Hydrochloride Administered Orally to Beagle Dogs for One Year. Study D05885. June, 1987.

37. Чигвинцев В.М., Носов А. Е. Алгоритм компьютерной оценки нарушений сердечнососудистой системы человека // Актуальные проблемы и инновационные технологии в гигиене: материалы Всерос. науч.-практ. интернет–конф. Пермь: 2012. – С. 256-260.

38.Статистический бюллетень «Потребление продуктов питания в домашних хозяйствах в 2010 г» /[http://www.gks.ru/bgd/regl/b10\\_101..](http://www.gks.ru/bgd/regl/b10_101..)

39.Принципы оценки безопасности пищевых добавок и контаминантов в продуктах питания, Всемирная организация здравоохранения. Женева, 1991.- 159 с.- ISBN 5-225-01850-5; ISBN 92 4 154257 8.

40.Р 2.1.10.1920-04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду».

41.Сведения о числе умерших по причинам смерти по Российской Федерации за октябрь 2012 года - [http://www.gks.ru/free\\_doc/2012/demo/t3-1.xls](http://www.gks.ru/free_doc/2012/demo/t3-1.xls).

42. Практические принципы проведения анализа риска в области безопасности продуктов питания для применения правительствами Комиссии Кодекс Алиментариус (CAC/GL 62-2007).