

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Минигалиева И.А.¹, Клинова С.В.¹, Панов В.Г.², Сутункова М.П.¹, Гурвич В.Б.¹,
Привалова Л.И.¹, Валамина И.Е.³

Анализ комбинированной субхронической токсичности свинца и кадмия по их действию на сердечно-сосудистую систему

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург;²ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, Екатеринбург;³Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского государственного медицинского университета, 620109, Екатеринбург

Введение. Воздействие свинца и кадмия является важным фактором риска для здоровья работающих в металлургическом производстве. Многочисленные эпидемиологические исследования выявили связь между воздействием свинца и кадмия и последующим развитием гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний.

Материал и методы. В эксперименте исследовано свыше 50 физиологических, цитологических, морфологических (с морфометрией отдельных органов) и биохимических показателей состояния организма контрольных и подопытных животных в конце экспозиционного периода (6 нед), на протяжении которого проводилось наблюдение за общим состоянием крыс. Проведено математическое моделирование комбинированного действия свинца и кадмия по некоторым показателям состояния организма животных с помощью методики поверхности отклика.

Результаты. Получено дополнительное подтверждение ранее обоснованных постулатов о типологической неоднозначности комбинированной токсичности, которая зависит от того, какой именно эффект рассматривается, от его уровня и от соотношения действующих доз, и, таким образом, для одной и той же токсической комбинации может варьировать от синергизма до противонаправленности. В том же эксперименте нами впервые показана неоднозначность комбинированного действия также и по показателям кардиоваскулярной токсичности (регистрация электрокардиограммы и измерение артериального давления). По большинству показателей электрокардиограммы тип комбинированного действия свинца и кадмия может быть расценен как аддитивный, но по амплитуде зубца Р – как противонаправленное действие. В частности, установлено противонаправленное влияние свинца и кадмия на артериальное давление у крыс.

Заключение. По результатам субхронического эксперимента при комбинированном воздействии свинца и кадмия на сердечно-сосудистую систему в ионной форме на крысах показана неоднозначность типов комбинированной токсичности.

Ключевые слова: свинец; кадмий; комбинированная токсичность; субхроническая интоксикация; влияние на сердечно-сосудистую систему.

Для цитирования: Минигалиева И.А., Клинова С.В., Панов В.Г., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Привалова Л.И., Валамина И.Е. Анализ комбинированной субхронической токсичности свинца и кадмия по их действию на сердечно-сосудистую систему. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (1): 103-108. DOI: <http://dx.doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-103-108>

Для корреспонденции: Минигалиева Ильзира Амировна, кандидат биол. наук, зав. лаб. промышленной токсикологии ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург. E-mail: Ilzira-minigalieva@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Сутункова М.П.; сбор и обработка материала – Клинова С.В., Панов В.Г., Валамина И.Е.; статистическая обработка – Клинова С.В., Панов В.Г.; подготовка рисунков – Панов В.Г.; написание текста – Минигалиева И.А., Клинова С.В.; редактирование – Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Клинова С.В.; утверждение окончательного варианта статьи – Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Сутункова М.П.

Поступила: 25.11.19

Принята к печати: 12.12.19

Опубликована: 27.02.2020

Minigalieva I.A.¹, Klinova S.V.¹, Panov V.G.², Sutunkova M.P.¹, Gurvich V.B.¹, Privalova L.I.¹, Valamina I.E.³

Studying combined subchronic toxicity of lead and cadmium with a special focus in terms of their cardiovascular effects

¹Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;²Institute of Industrial Ecology, the Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620990, Russian Federation;³Central Research Laboratory, Ural State Medical University, Yekaterinburg, 620109, Russian Federation

Introduction. Exposure to lead and cadmium is an important risk factor for the health of workers in copper smelters and refiners. Numerous epidemiological studies have revealed a relationship between exposure to lead and cadmium and the development of hypertension and cardiovascular disease.

Material and methods. At the closing stage of the experiment, we registered over 50 characteristics of animals' health status, including functional, cytological, morphological (with morphometry of certain organs) and biochemical indices. The exposure period accounted for 6 weeks, during which we monitored the general health status of the exposed animals and the control group. Experimental estimates of some of the health indices were used for mathematical modeling of the combined Pb+Cd exposure via Response Surface Methodology.

Results. The obtained results were consistent with our earlier conclusions that there are different types of combined Pb+Cd toxicity. The ultimate interaction of toxic agents is determined by what effect is being considered, the level of the effect, and the ratio of the doses. The same toxic mixture can produce a range of interactions, from synergism to antagonism. In this study, we discovered cardiovascular toxicity indices (ECG, BP) to do also suggest that there are different types of combined Pb+Cd toxicity. Most ECG features suggest a synergistic relationship between Pb and Cd, except for P-wave, which amplitude may be interpreted as an indication of Pb-Cd antagonism. Moreover, the antagonistic relationship between Pb and Cd was established with respect to their effects on blood pressure in rats.

Conclusion. It is shown that there are different types of lead and cadmium combined cardiovascular toxicity in ionic form in rats.

Key words: lead; cadmium; combined toxic action; subchronic intoxication; influence on the cardiovascular system.

For citation: Minigalieva I.A., Klinova S.V., Panov V.G., Sutunkova M.P., Gurchich V.B., Privalova L.I., Valamina I.E. Studying combined subchronic toxicity of lead and cadmium with a special focus in terms of their cardiovascular effects. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2020; 99 (1): 103-108. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-1-103-108>

For correspondence: Ilzira A. Minigalieva, MD, Ph.D., head of the Laboratory of industrial toxicology of Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Information about authors:

Minigalieva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-1871-8593>; Panov V.G., <https://orcid.org/0000-0001-6718-3217>; Sutunkova M.P., <http://orcid.org/0000-0002-1743-7642>; Klinova S.V., <http://orcid.org/0000-0002-0927-4062>; Gurchich V.B., <http://orcid.org/0000-0002-6475-7753>; Privalova L.I., <http://orcid.org/0000-0002-1442-6737>; Valamina I.E., <https://orcid.org/0000-0001-7387-5287>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Contribution: The concept and design of the study – Minigalieva I.A., Privalova L.I., Gurchich V.B., Sutunkova M.P. Collection and processing of material – Klinova S.V., Panov V.G., Valamina I.E. Statistical processing – Klinova S.V., Panov V.G. Preparation of drawings – Panov V.G. Writing the text – Minigalieva I.A., Klinova S.V. Editing – Minigalieva I.A., Privalova L.I., Klinova S.V. Approval of the final manuscript – Minigalieva I.A., Privalova L.I., Gurchich V.B., Sutunkova M.P.

Received: November 25, 2019

Accepted: December 12, 2019

Published: February 27, 2020

Введение

Развитие общей теории и выявление частных особенностей комбинированного вредного действия химических веществ на организм относятся к наиболее актуальным проблемам не только в рамках так называемой токсикологии смесей [1], но и потому, что токсическая экспозиция человека в условиях труда на многих производствах и через среду обитания, загрязнённую эмиссиями этих производств, является многофакторной намного чаще, чем изолированной. Поэтому необходима характеристика общих закономерностей комбинированной токсичности и её типологическая классификация.

Именно этим аспектам рассматриваемой проблемы на протяжении довольно длительного периода был посвящён ряд исследований не только нашей группы [2–10]. Тем не менее мы полагаем по-прежнему целесообразным экспериментальное и математическое моделирование действия всё новых и новых комбинаций токсических веществ потому, что та или иная конкретная комбинация имеет приоритетное практическое значение в определённых условиях труда и/или проживания. Воздействие свинца и кадмия является важным фактором риска для здоровья работающих в металлургическом производстве [7]. Многочисленные эпидемиологические исследования выявили связь между воздействием свинца и кадмия и последующим развитием гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний [11, 12]. Исследования *in vivo* и *in vitro* показали, что хроническое воздействие этих металлов вызывает развитие гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний [11–18].

Комбинированной кардиотоксичности свинца и кадмия посвящено эпидемиологическое исследование, которое Yang и соавт. [19] провели на сформированной в течение 1985–2000 гг. открытой когорте жителей Бельгии (179 человек), у которых на момент включения были определены среднегеометрические показатели содержания свинца в крови и суточной элиминации кадмия с мочой, а в течение 2005–2010 гг. (в среднем спустя 11,9 года) была проведена оценка левожелудочковой активности. Многофакторный регрессионный анализ выявил значимое снижение систолической (но не диастолической) активности с повышением нагрузки тела обоими металлами, однако выявить, какой из них является ведущим, не было возможным.

Целью настоящего исследования являлось сопоставление в субхроническом эксперименте на крысах характера комбинированной кардиотоксичности свинца и кадмия с оценкой системной токсичности.

Материал и методы

Эксперимент проведён на белых аутбредных крысах-самцах собственного разведения с исходной массой тела около 220–225 г. Проведённый эксперимент соответствовал требованиям «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755) и «Международных руководящих принципов биомедицинских исследований на животных», разработанных Советом международных научных медицинских организаций (1985 г.), и были одобрены локальным этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Субхроническая интоксикация моделировалась путём повторных внутривенных инъекций растворов ацетата свинца и хлорида кадмия 3 раза в неделю (всего 18 введений) при однократной дозе 6,01 мг по Pb и 0,377 мг по Cd на кг массы тела. Контрольные животные получали инъекции физиологического раствора. Животные были поделены на 9 групп по 12 особей в каждой: Cd 0,5 от полной дозы; Cd 1,0 полная доза; Pb 0,5 от полной дозы; Pb 1,0 полная доза; Cd 0,5 + Pb 0,5 от полной дозы; Cd 0,5 от полной дозы + Pb 1,0 полная доза; Cd 1,0 полная доза + Pb 0,5 от полной дозы; Cd 1,0 + Pb 1,0 полная доза; контроль.

Токсические эффекты изучаемых веществ на организм крыс во всех группах изучали по функциональным, биохимическим и морфологическим (с морфометрией при оптической микроскопии) показателям.

Для изучения функционального состояния центральной нервной системы использовали наиболее часто применяемый в экспериментальной токсикологии суммационно-пороговый показатель [20]. Высшая нервная деятельность животных характеризовалась показателем исследовательского поведения – «норковый рефлекс», который оценивался числом заглядываний в отверстия («норки») за 3 мин [21].

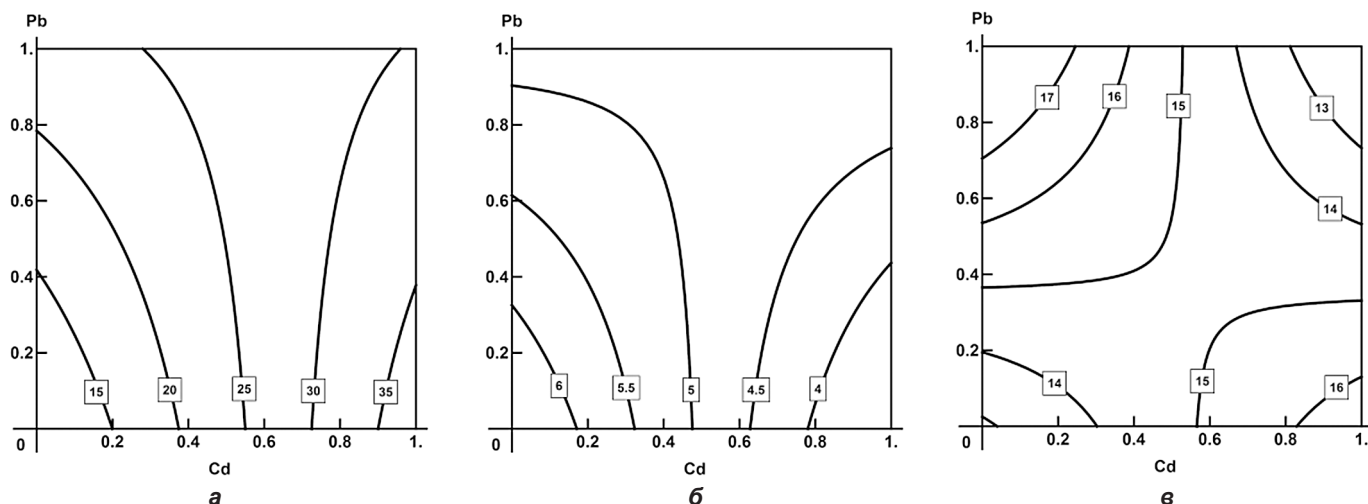


Рис. 1. Некоторые морфометрические показатели состояния печени крыс: *а* – доля безъядерных гепатоцитов (субаддитивность однонаправленного действия при меньших и противонаправленность при больших дозах кадмия); *б* – доля двуядерных гепатоцитов (в принципе так же); *в* – доля клеток Купфера (субаддитивность однонаправленного действия при сочетании наименьших доз кадмия и свинца, супераддитивность – при сочетании наибольших доз обоих металлов; разные варианты противонаправленного действия при сочетаниях доз неодинакового уровня). На осях – дозы металлов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

При умерщвлении крыс были взяты пробы крови для дальнейших анализов. Уровень гемоглобина и эритроцитов определяли с помощью гематологического анализатора «Methic 18» с использованием соответствующих диагностических наборов. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в окрашенных мазках крови [22].

Важным дополнительным функциональным показателем стимуляции эритропоэза является повышенное число ретикулоцитов – молодых эритроцитов, образующихся после потери нормобластами ядер. Характерной особенностью ретикулоцитов является наличие в их цитоплазме зернисто-нитчатой субстанции, которую выявляли методом суправитальной окраски (то есть без предварительной фиксации) бриллиант-крезиловым синим. Количество ретикулоцитов считали на 1000 эритроцитов [22].

Содержание общего белка и соотношение белковых фракций (альбуминов и глобулинов) – альбумин-глобулиновый индекс, активность аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы), содержание билирубина определяли с целью оценки функционального состояния печени. Оценивая липидный обмен, определяли в сыворотке содержание триглицеридов, холестерина высокой (ЛПВП) и низкой (ЛПНП) плотности. Для оценки состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы организма исследовали активность каталазы, содержание восстановленного глутатиона, церулоплазмينا и малонового диальдегида (конечного продукта липид-пероксидации) в сыворотке крови.

Мочевина, мочевая кислота, креатинин в сыворотке крови и моче, клиренс эндогенного креатинина измерялись для оценки состояния выделительной системы.

Кардиотоксичность оценивалась перед эвтаназией путём цервикальной дислокации, у всех крыс проводилась неинвазивная регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) с помощью системы ecgTUNNEL (емка TECHNOLOGIES, Париж, Франция) и показателей артериального давления с помощью системы CODA-HT8 (Kent Scientific, Торрингтон, США).

Типы комбинированной токсичности изучали с использованием методологии построения поверхности отклика, обобщающей методы ANOVA и математической теории организации эксперимента [23].

Уравнение, описывающее поверхность отклика $Y = Y(x_1, x_2)$, строится подбором его коэффициентов к данным эксперимента:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2,$$

где y – это изучаемый показатель, b_0 – контроль, x_i – доза веществ, входящих в комбинацию, b_i – коэффициент регрессии, а $b_{12}x_1x_2$ – члены общего вида соответствуют дозозависимому влиянию взаимодействия эффектов.

Эта математическая модель позволяет предсказывать величину отклика Y для любой комбинации доз в пределах экспериментального диапазона реально использованных доз для каждого токсиканта. Если провести сечение на поверхности отклика разных уровней, то можно получить изоболы Лёве, которые имеют разные формы, что делает понимание типов комбинированного действия простым и наглядным. Так, например, прямая линия на изоболограмме обозначает аддитивность эффектов, выпуклая – антагонизм, вогнутая – синергизм, а линия, лежащая противоположно прямой линии (обозначающая аддитивность), показывает противонаправленное действие металлов. С точки зрения элементарных функций противонаправленное действие описывается возрастающей кривой, а все случаи однонаправленного – убывающей.

Результаты

Типичные примеры, демонстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия кадмия (Cd) и свинца (Pb) на некоторые морфометрические показатели состояния печени и почек крыс (рис. 1, 2), а также на ряд функциональных показателей интоксикации (рис. 3), в том числе на сдвиги гемодинамики (рис. 4) и электрокардиограммы (рис. 5), представлены изоболами Лёве, построенными с помощью RSM.

Обсуждение

Из результатов математического анализа экспериментальных данных, примеры которого приведены выше, видно, что тип комбинированного действия свинца и кадмия оказался различным в зависимости от того, по какому конкретному эффекту интоксикации он оценивается, а также от уровня этого эффекта и соотношения доз.

Экспериментальные данные, полученные Perry и соавт. [24] при длившейся 30 мес водной экспозиции крыс, косвенно указывают на вероятную аддитивность гипертензивных эффектов свинца и кадмия, впрочем, не подтверждённую математическим анализом. Нельзя исключить возможности того, что найденная нами противонаправленность влияния кадмия и свинца на давление крови, подтверждаемая и RSM-анализом (см. рис. 4), отсутствовала бы при существенно других дозах и длительностях эксперимента.

Если допустить хотя бы частично почечный генез артериальной гипертензии при свинцовой интоксикации, то приобретает особый интерес показанный выше явный антагонизм влияния свинца и кадмия (при их комбинированном воздействии) на диаметр Мальпигиева клубочка (см. рис. 2).

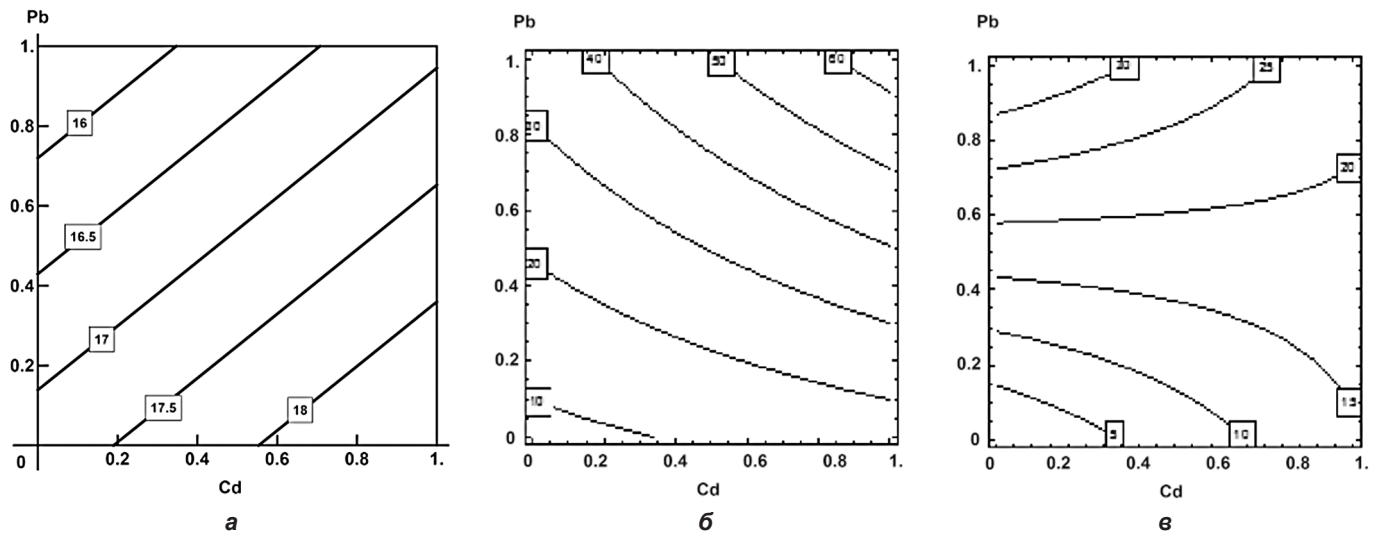


Рис. 2. Некоторые морфометрические показатели состояния почек крыс: *а* – диаметр клубочка (противонаправленное действие во всём диапазоне доз); *б* – потеря щёточной каймки (аддитивность однонаправленного действия во всём диапазоне доз); *в* – десквамация канальцевого эпителия (субаддитивность однонаправленного действия при малых и противонаправленность – при больших дозах свинца). На осях – дозы металлов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

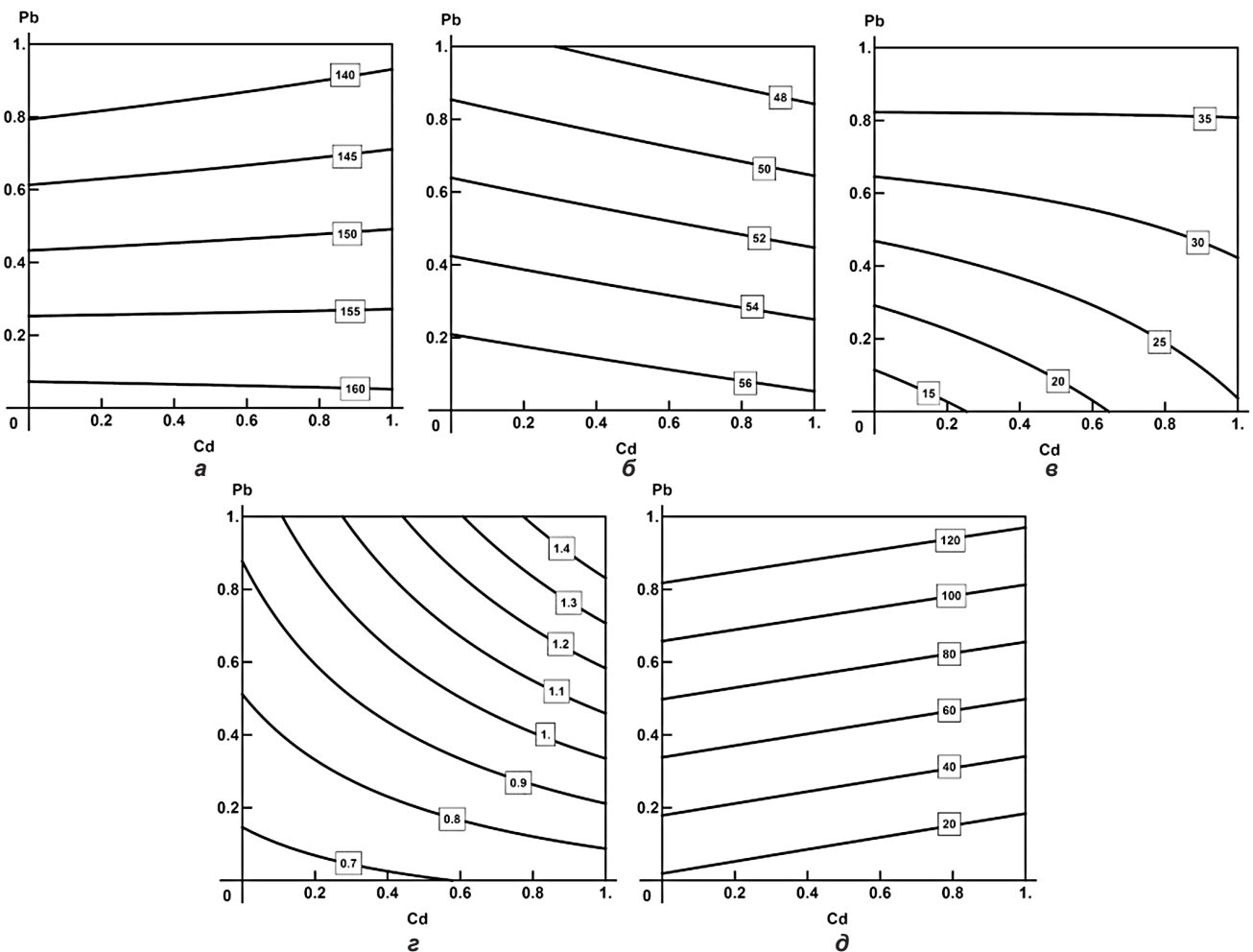


Рис. 3. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия кадмия (Cd) и свинца (Pb) на различные показатели состояния организма: *а* – содержание гемоглобина в крови (преимущественно однофакторный эффект свинца); *б* – гематокрит (аддитивность однонаправленного действия); *в* – пропорция ретикулоцитов (субаддитивность однонаправленного действия с переходом при более высоких дозах свинца в его однофакторный эффект); *г* – число моноцитов (супераддитивность однонаправленного действия с переходом при более высоких дозах свинца и кадмия в аддитивность); *д* – содержание δ -АЛК в моче (противонаправленность действию).

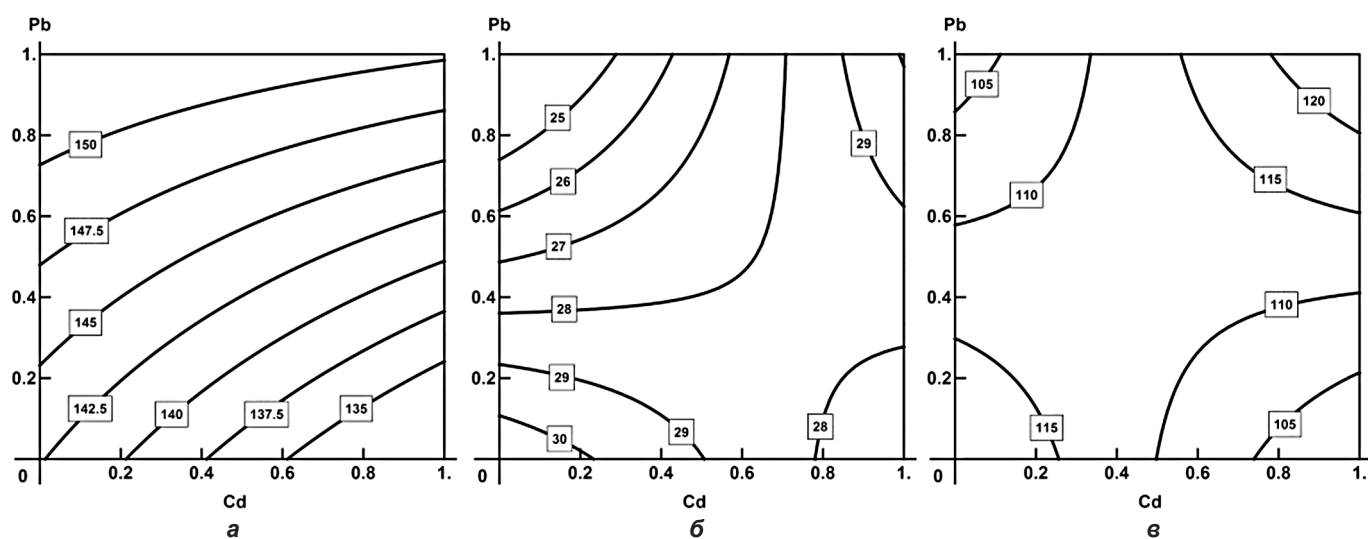


Рис. 4. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия кадмия (Cd) и свинца (Pb) на различные показатели гемодинамики: *а* – на систолическое артериальное давление (противонаправленность действия); *б* – на скорость кровотока в хвосте (разные типы одно- и противоположного действия при разных соотношениях доз); *в* – на объём крови в хвосте (то же самое). На осях – дозы металлов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

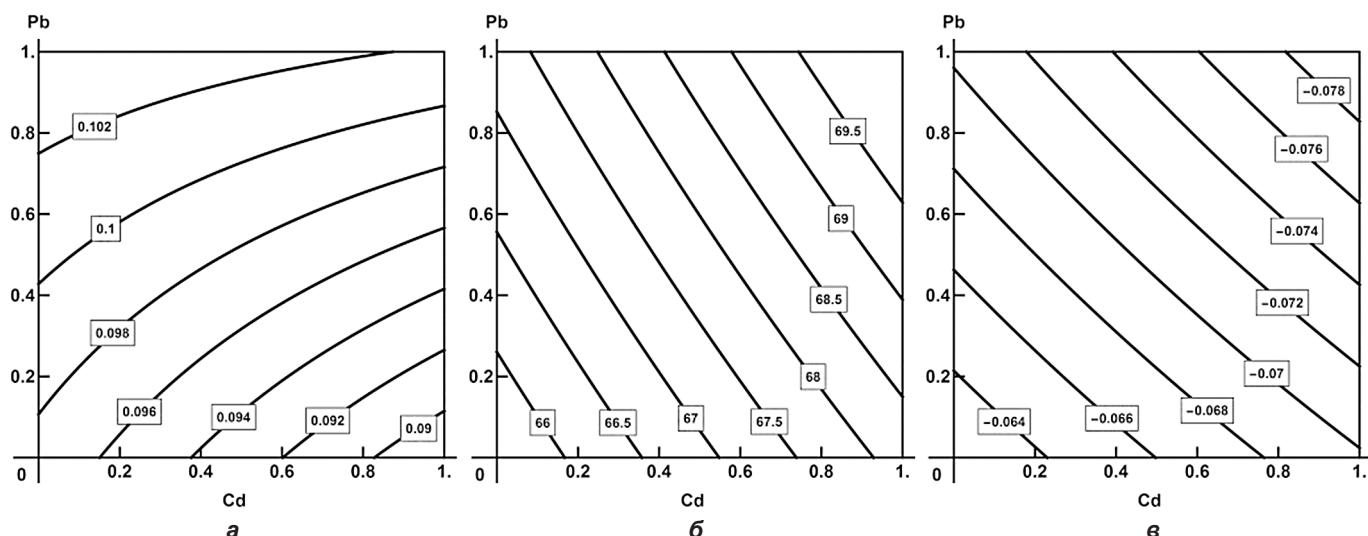


Рис. 5. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие неоднозначность типа комбинированного действия кадмия (Cd) и свинца (Pb) на различные показатели ЭКГ: *а* – на интервал QT (аддитивность однонаправленного действия); *б* – на положение изоэлектрической линии (то же самое); *в* – на амплитуду зубца P (противонаправленное действие). На осях – дозы металлов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

В то же время аналогичный математический анализ их комбинированного действия на скорость кровотока и кровенаполнение хвоста (см. рис. 4, б, в) позволяет прогнозировать, что при каких-то соотношениях доз действие этих двух металлов на гемодинамику в целом могло бы быть не противо-, а однонаправленным и при этом даже супераддитивным. Поэтому допустимо предположить, что и обнаруженное нами гипотензивное действие кадмия является лишь фазовым, присущим такой слабо выраженной кадмиевой интоксикации, какая была получена в данном эксперименте. Было показано, что при однократном внутривенном введении ацетата кадмия повышение кровяного давления наблюдалось после фазы его падения [25, 26]. Таким образом, фазовость реакции кровяного давления на кадмиевую интоксикацию в принципе действительно возможна.

Тип комбинированного действия свинца и кадмия на ЭКГ по большинству показателей может быть расценён как аддитивность (примеры даны на рис. 5, а, б), но по амплитуде зубца P – как противонаправленность (см. рис. 5, в).

Заключение

1. Анализ типологии комбинированной токсичности свинца и кадмия в ионной форме по этим эффектам, проведенный с помощью построения поверхностей отклика, выявил, как и для многих других ранее изучавшихся комбинаций, её неоднозначность (от синергизма до противонаправленности) в зависимости от эффекта, по которому оценивается тип комбинированного эффекта, а по ряду эффектов – также от их уровня и от соотношения доз.

2. Впервые показано комбинированное действие свинца и кадмия в эксперименте по показателям сердечно-сосудистой токсичности. Оценка сердечно-сосудистой комбинированной токсичности является также далеко не однозначной в отношении разных гемодинамических и электрокардиографических эффектов.

Литература (пп. 1, 2, 4–9, 12–19, 23–26 см. References)

3. Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В., Мамонов М.А., Синицына О.О. Методы оценки комбинированного действия веществ. *Гигиена и санитария*. 2012; 2: 86–9.
10. Киреева Е.П., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Дегтярева Т.Д., Кузьмин С.В., Хрущева Н.А. и соавт. Связь начального повреждения почек с содержанием свинца и кадмия в моче у детей и его биологическая профилактика. *Уральский медицинский журнал*. 2007; 11 (39): 19–24.
11. Трахтенберг И.М., Лубянова И.П., Апыхтина Е.Л. Роль свинца и железа как техногенных химических загрязнителей в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Therapia*. 2010; 07–08 (49): 36–9.
20. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Минздрав СССР. Кишинев; 1980. 47 с.
21. Елизарова О.Н. *Пособие по токсикологии для лаборантов*. Текст. Сост.: Елизарова О.Н., Жидкова Л.В., Кочеткова Т.А. М.: Медицина; 1974. 77 с.
22. Меншиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. *Лабораторные методы исследования в клинике: справочник*. М.: Медицина; 1987. 368 с.

References

1. Hernández A.F., Tsatsakis A.M. Human exposure to chemical mixtures: Challenges for the integration of toxicology with epidemiology data in risk assessment. *Food Chem Toxicol*. 2017; 103: 188–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.03.012>
2. Directorate-General for Health and Consumers (European Commission). Toxicity and assessment of chemical mixtures. 2013. 50 p. DOI: <https://doi.org/10.2772/21444>.
3. Zholdakova Z.I., Kharchevnikova N.V., Mamonov R.A., Sinitsyna O.O. Methods for estimating the combined effect of substances. *Gigiena i sanitariya [Hygiene and Sanitation, Russian journal]*. 2012; 2: 86–9. (in Russian)
4. Yuan G., Dai S., Yin Z., Lu H., Jia R., Xu J. et al. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: Acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food Chem Toxicol*. 2014; 65: 260–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.041>.
5. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol*. 2014; 64: 144–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.024>.
6. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Privalova L.I. et al. Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment (a synthesis of results obtained by the Ekaterinburg research team, Russia). *Toxicol Rep*. 2017; 4C: 194–201. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.toxrep.2017.04.002>.
7. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicol*. 2017; 380: 72–93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2017.02.007>.
8. Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food Chem Toxicol*. 2015; 86: 351–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.11.012>.
9. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Shur V.Ya. et al. Experimental research into metallic and metal oxide nanoparticle toxicity in vivo. In: *Bioactivity of Engineered Nanoparticles*. Yan B., Zhou H., Gardea-Torresdey J., eds. Springer; 2017: 259–319.
10. Kireeva E.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Kuzmin S.V., Khrushcheva N.A. et al. The relationship of the initial kidney damage with the content of lead and cadmium in the urine of children and its biological prevention. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal [Ural Medical Journal]*. 2007; 11 (39): 19–24. (in Russian)
11. Trakhtenberg I.M., Lubyanova I.P., Apuytina E.L. The role of lead and iron, as a man-made chemical pollutants in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Therapia*. 2010; 07–08 (49): 36–9. (in Russian)
12. Chen C., Zhang S., Liu Z., Tian Y. et al. Cadmium toxicity induces ER stress and apoptosis via impairing energy homeostasis in cardiomyocytes. *Biosci Rep*. 2015; 35 (3): e00214.
13. Navas-Acien A., Guallar E., Silbergeld E.K., Rothenberg S.J. Lead exposure and cardiovascular disease – a systematic review. *Environ Health Perspect*. 2007; 115: 472–82.
14. Fiorim J., Ribeiro R.F., Silveira E.A., Padilha A.S. et al. Low-level lead exposure increases systolic arterial pressure and endothelium-derived vasodilator factors in rat aortas. *PLoS One*. 2011; 6 (2): e17117.
15. Silveira E.A., Siman F.D., de Oliveira F.T. et al. Low-dose chronic lead exposure increases systolic arterial pressure and vascular reactivity of rat aortas. *Free Radic Biol Med*. 2014; 67: 366–76.
16. Fioresi M., Simões M.R., Furieri L.B., Broseghini-Filho G.B. et al. Chronic lead exposure increases blood pressure and myocardial contractility in rats. *PLoS One*. 2014; 9 (5): 96900.
17. Glenn B.S., Banded-Roche K., Lee B.K., Weaver V.M. et al. Changes in systolic blood pressure associated with lead in blood and bone. *Epidemiol*. 2006; 17: 538–44.
18. Simões M.R., Ribeiro Júnior R.F., Vescovi M.V., de Jesus H.C. et al. Acute lead exposure increases arterial pressure: role of the renin-angiotensin system. *PLoS One*. 2011; 6: e18730.
19. Yang W.Y., Zhang Z.Y., Thijs L., Cauwenberghs N., Wei F.F., Jacobs L. et al. Left ventricular structure and function in relation to environmental exposure to lead and cadmium. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6 (2): e004692.
20. Methodical recommendations on the use of behavioral reactions of animals in Toxicological studies for the purposes of hygienic regulation: Ministry of health of the USSR. Chisinau; 1980. 47 p. (in Russian)
21. Elizarova O. N. *Handbook of toxicology for laboratory text [Posobiye po toksikologii dlya laborantov]*. Comp.: Elizarova O.N., Zhidkova L.V., Kochetkova T.A. Moscow: Medicine; 1974. 77 p. (in Russian)
22. Menshikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotniitskaya R.P. *Laboratory methods of research in the clinic: Reference [Laboratornyye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik]*. Moscow: Meditsina; 1987. 368 p. (in Russian)
23. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Sutunkova M.P. et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). *Toxicol Rep*. 2015; 2: 297–307. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.02.002>.
24. Perry H.M., Erlanger M., Perry E.F. Increase in the Systolic Pressure of Rats Chronically Fed Cadmium. *Environ Health Perspect*. 1979; 28: 251–260. DOI: <https://dx.doi.org/10.1289%2Fehp.7928251>.
25. Suzuki Y., Chao S.H., Zysk J.H., Cheung W.Y. et al. Stimulation of calmodulin by cadmium ion. *Arch Toxicol*. 1985; 57: 205–11.
26. Puri V.N. Cadmium induced hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 1999; 21 (1–2): 79–84.