

EVALUATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN BLOOD PLASMA WITH LONG-TERM OPIOID THERAPY AND AFTER OPIOID WITHDRAWAL

Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine)

irinamedik75@gmail.com

The paper presents the results of studies of changes in the biochemical parameters of serum of rats with long-term use of nalbuphine and after its withdrawal. Because long-term use of opioids is known to lead to renal impairment, this study is relevant. There is little data in the literature on the dynamics of renal markers of renal impairment changes at a certain dose and duration and after opioid withdrawal.

The aim of the study was to establish some biochemical parameters of the serum of rats with long-term therapeutic doses of nalbuphine and the late withdrawal of the drug.

The study material was 45 white sexually mature male rats weighing 180–260 g. The serum determined total protein, urea, creatinine, calcium, phosphorus according to conventional methods. Statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4–4.

At six-week administration of therapeutic doses of nalbuphine (subgroup N 6) the serum of rats was 64.40 ± 3.57 g/l, at ten-week administration (subgroup N 10) – 74.90 ± 3.81 g/l, at six-week administration followed by four-week withdrawal (subgroup N 6V4) – 65.60 ± 1.58 g/l. Serum creatinine in subgroup N 6 was 107.90 ± 7.40 μ mol/l, N 10 – 94.28 ± 2.98 μ mol/l, N 6V4 – 96.19 ± 1.26 μ mol/l. The serum urea in subgroup N 6 was 7.62 ± 0.73 mmol/l, N 10 – 8.90 ± 0.90 mmol/l, N 6V4 – 5.71 ± 0.13 mmol/l. Serum calcium in the subgroup N 6 was 2.39 ± 0.09 mmol/l, N 10 – 1.98 ± 0.08 mmol/l, N 6V4 – 2.82 ± 0.08 mmol/l. The serum phosphorus index in subgroup N 6 was 2.11 ± 0.12 mmol/l, N 10 – 2.04 ± 0.11 mmol/l, N 6V4 – 2.12 ± 0.07 mmol/l.

Thus, prolonged use of nalbuphine leads to impaired nitrogen function of the kidneys and withdrawal of the drug – to partial restoration of this function. At six-week administration of nalbuphine and its subsequent cancellation, disturbance of reabsorption function of a kidney revealed after the tenth week of drug use is not observed.

Key words: kidney, nephron, biochemical parameters, opioids.

Relationship of the publication with planned research works. The work is a fragment of research work of the Department of Normal Anatomy of Danylo Halytsky Lviv National Medical University «Morpho-functional features of organs in pre- and postnatal periods of ontogenesis, under the influence of opioids, supplements, reconstructive surgery and obesity» (№ state registration 2209U).

Introduction. The use of opioids in treating chronic pain is widespread in medical practice [1, 2]. However, their toxic effects should be borne in mind during long-term use, including albuminuria and changes in biochemical parameters indicating renal impairment [3]. Complex therapy for patients with chronic kidney disease requires treatment of chronic pain [4, 5], and the most commonly used drugs are opioids [1, 2, 3].

In this regard, the need for knowledge about the correct and safe use of these drugs is an important area of research. Some scientific papers are devoted to studying changes in biochemical parameters of the functional state of the kidney with the use of various opioid drugs [6, 7, 8]. However, there is little data in the literature on the dynamics of changes in renal markers, indicating renal dysfunction after opioid withdrawal [9, 10].

The study aimed to establish the biochemical parameters of total protein, urea, creatinine, calcium and phosphorus of rat serum at six- and ten-week therapeutic doses of nalbuphine and the late withdrawal of the drug to compare the dynamics of changes in long-term use and withdrawal.

Object and methods of research. The study material was 45 white sexually mature male rats weighing 180–260 g. Animals were kept in a vivarium. Experimental studies were conducted in compliance with the requirements of humane treatment of experimental animals, regulated by the Law of Ukraine «On Protection of Animals from Cruelty» (№ 3447-IV of 21.02.2006) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, March 18, 1986). Injections of the drug «Nalbuphine» (Nalbuphine injection 20 mg) were performed intramuscularly, daily, once a day, for one period of time for 70 days at a dose of 0.21–0.28 mg/kg, every two weeks injection of the drug «Nalbuphine» «Increased to the maximum single dose [11]. Subgroups N 6 were injected with nalbuphine for six weeks; N 10 – ten weeks; N 6V4 – six weeks, followed by a four-week withdrawal. Saline was administered daily to a control group of animals. Blood samples were taken from the inferior vena cava under anesthesia (diethyl ether), after which the animals were removed from the experiment by an overdose of anesthesia. In the serum of experimental animals determined total protein, urea, creatinine, calcium, phosphorus. Determination of total serum protein was performed by biuret method (Philisit-Diagnostic reagent kit), serum creatinine determination by Jaffe reaction (Philisit-Diagnostic reagent kit), serum urea determination by color reaction with diacetyl-

monooxim (BIO-LACHEMA-TEST set), determination of calcium and serum phosphorus – using photometric determination of total calcium in biological fluids (set of reagents «Phyllisit-Diagnostics») [12]. All data obtained by us were tested for the normality of the distribution using the coefficients of asymmetry and excess and the Shapiro-Wilk test (confidence level $p < 0.1$) and were normal distribution. The mean and standard deviation of $M \pm SD$ were used to present the data. Despite the typical nature of the data distribution, due to the significant difference in the variances of different groups in all indicators according to the results of the test using Levene's test, non-parametric Kraskel-Wallis test H followed by post-hawk analysis using the Dunn's test was used to determine the statistical significance of the difference between the data in multiple comparisons.

The results were considered significant at $p < 0.05$. All statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4–4.

Research results and their discussion. As a result of the study, it was found that the serum protein in subgroup N 6 is 64.40 ± 3.57 g/l and is within the control group and significantly increases in subgroup N 10 and is 74.90 ± 3.81 g/l. After discontinuation of nalbuphine, in the subgroup N 6V4, the serum protein index is 65.60 ± 1.58 g/l and remains the same as in the control and group of animals treated with nalbuphine for six weeks (fig. 1).

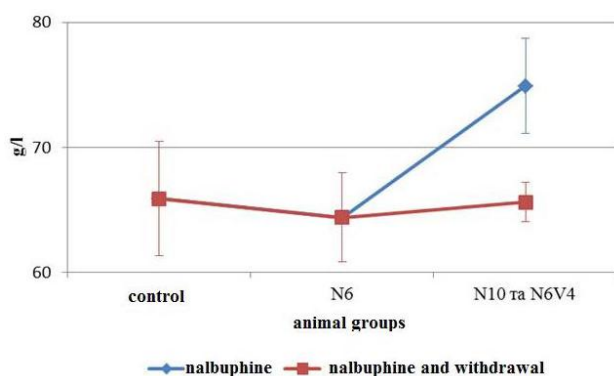


Figure 1 – Changes in rat serum protein at the sixth (subgroup N 6), tenth (subgroup N 10) weeks of therapeutic doses of nalbuphine and at six-week administration of nalbuphine followed by a four-week withdrawal (subgroup N 6V4). The level of error is the standard deviation.

Serum creatinine increases 2.23 times relative to the control with six weeks of nalbuphine and is 107.90 ± 7.40 $\mu\text{mol/l}$. With further administration of nalbuphine until the tenth week, serum creatinine decreases but remains higher than in the control group and is 94.28 ± 2.98 $\mu\text{mol/l}$. After discontinuation of nalbuphine, in the subgroup N 6V4, serum creatinine, as with subsequent administration of the drug, decreases and is 96.19 ± 1.26 $\mu\text{mol/l}$, which is higher than in the control group and does not differ from the subgroup N 10 (fig. 2).

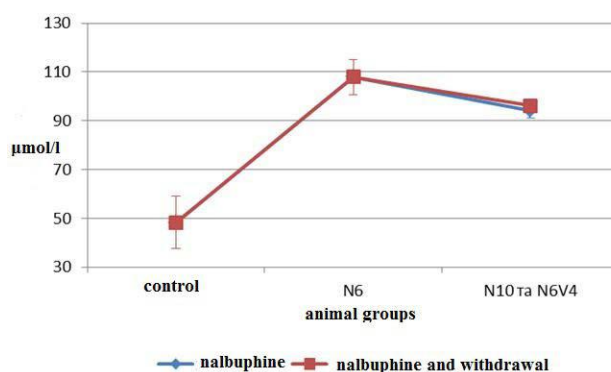


Figure 2 – Changes in rat serum creatinine at the sixth (subgroup N 6), tenth (subgroup N 10) weeks of therapeutic doses of nalbuphine, and at six-week administration of nalbuphine followed by a four-week withdrawal (subgroup N 6V4). The level of error is the standard deviation.

A significant increase in urea is observed after six weeks of nalbuphine use, is 7.62 ± 0.73 mmol/l and is significantly higher than in the control group. The highest value of serum urea was found after ten weeks of nalbuphine administration and is 8.90 ± 0.90 mmol/l. After four weeks of discontinuation after six weeks of administration, the serum urea in the N 6V4 subgroup decreases to the control group, is 5.71 ± 0.13 mmol/l and is significantly lower than the serum urea at six and ten weeks of nalbuphine administration in 1.3 and 1.6 times, respectively (fig. 3). As a result of the long-term use of nalbuphine, there is an increase in the indicators of nitrogen excretory function of the kidneys, namely creatinine and urea, which is a sign of damage to the renal corpuscle. With the withdrawal of nalbuphine in the late stages of its use revealed a pronounced positive dynamics of plasma urea and a lack of dynamics in relation to serum creatinine, which remains at the same level as in the subsequent use of the drug. Therefore, we can assume that the withdrawal of the drug leads to a partial restoration of the nitrogen-releasing function of the kidney and the positive dynamics of morphological changes in the renal corpuscle.

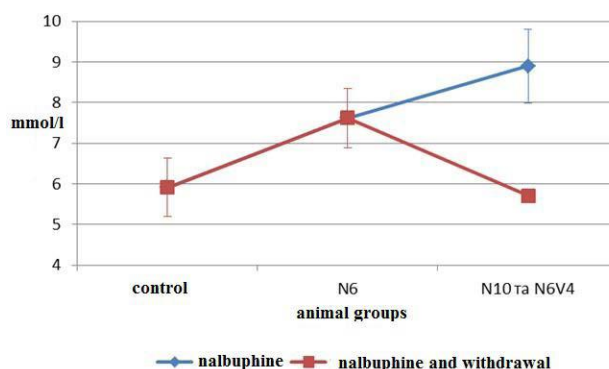


Figure 3 – Changes in rat serum urea at the sixth (subgroup N 6), tenth (subgroup N 10) weeks of therapeutic doses of nalbuphine and at six-week administration of nalbuphine followed by a four-week withdrawal (subgroup N 6V4). The level of error is the standard deviation.

The serum calcium index in subgroup N 6 is 2.39 ± 0.09 mmol/l, which is within the control group of animals.

In subgroup N 10 there is a significant decrease in serum calcium relative to control by 1.18 times and this figure is 1.98 ± 0.08 mmol/l. After four weeks of discontinuation of nalbuphine, in the subgroup N 6V4, the level of serum calcium increases to 2.82 ± 0.08 mmol/l and is 1.2 times higher than in animals of the control group, 1.19 times higher than in the subgroup N 6 and in 1.4 times higher than in subgroup N 10 (fig. 4). Thus, the use of nalbuphine for six weeks does not lead to changes in serum calcium, but its further introduction in the next four weeks leads to a decrease in this indicator relative to control. Four weeks after discontinuation of the drug after six weeks of administration, serum calcium, on the other hand, increased significantly relative to controls and the group of animals treated with nalbuphine for six weeks.

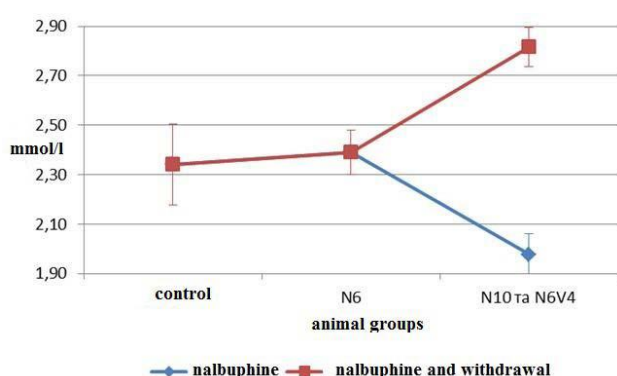


Figure 4 – Changes in rat serum calcium at the sixth (subgroup N 6), tenth (subgroup N 10) weeks of therapeutic doses of nalbuphine and at six-week administration of nalbuphine followed by a four-week withdrawal (subgroup N 6V4). The level of error is the standard deviation.

The serum phosphorus index in subgroup N 6 is 2.11 ± 0.12 mmol/l and is lower than the control group of animals, although the difference is not statistically significant ($p = 0.16$). With further administration of nalbuphine for ten weeks, in subgroup N 10, the phosphorus index is further reduced, is 2.04 ± 0.11 mmol/l and is significantly lower than in the control group. After four weeks of nalbuphine withdrawal, in the N 6V4 subgroup, serum phosphorus levels remained at the level of the nalbuphine group for six weeks at

2.12 ± 0.07 mmol/l, which is lower than in the control group, although the difference is statistically insignificant ($p=0.17$) (fig. 5).

Thus, the use of nalbuphine for six weeks leads to a slight decrease in serum phosphorus, which is more pronounced in the next four weeks of drug administration. With the withdrawal of nalbuphine after six weeks of use, serum phosphorus does not change compared with six weeks of administration and is slightly lower than in the control group, while with subsequent use of nalbuphine from the sixth to tenth week, the rate decreases significantly relative to control.

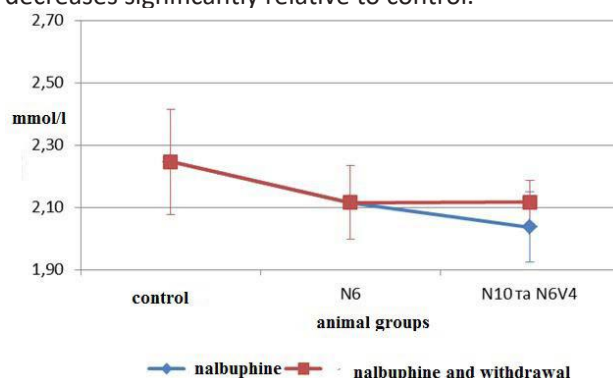


Figure 5 – Changes in rat serum phosphorus at the sixth (subgroup N 6), tenth (subgroup N 10) weeks of therapeutic doses of nalbuphine and at six-week administration of nalbuphine followed by a four-week withdrawal (subgroup N 6V4). The level of error is the standard deviation.

Conclusions. Prolonged use of nalbuphine leads to an increase in urea and serum creatinine, which are markers of impaired renal nitrogen function and possible damage to the renal corpuscle, and withdrawal of the drug – to partial restoration of this function. Changes in serum calcium and phosphorus indicate impaired renal reabsorption and nephron convoluted tubular damage with ten weeks of nalbuphine use and normal function after discontinuation from the sixth week.

Prospects for further research. The data obtained can be used to predict functional and morphological changes in the nephron with long-term use of nalbuphine and drug withdrawal and compare changes in biochemical parameters with other opioids.

References

1. Nuckols TK, Anderson L, Popescu I, Diamant AL, Doyle B, Di Capua P, et al. Opioid prescribing: a systematic review and critical appraisal of guidelines for chronic pain. *Ann Intern Med.* 2014;160:38–47.
2. Novick T, Kuo YF, Raji MA, Chen NW, Hasan H, Goodwin JS. Trends in opioid prescriptions among part D medicare recipients from 2007 to 2012. *Am.J. Med.* 2016;129:21–30.
3. Barbosa-Leiker C, McPherson S, Daratha K, Alicic R, Short R, Dieter B, et al. Association between prescription opioid use and biomarkers of kidney disease in US adults. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41:365–373. DOI: 10.1159/000443436.
4. Coluzzi F, Caputi FF, Billeci D, Pastore AL, Candeletti S, Rocco M, et al. Safe Use of Opioids in Chronic Kidney Disease and Hemodialysis Patients: Tips and Tricks for Non-Pain Specialists. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:821–837. DOI: <https://doi.org/10.2147/TCRM.S262843>.
5. Pham PC, Khaing K, Sievers TM, Pham PM, Miller JM, Pham SV, et al. 2017 update on pain management in patients with chronic kidney disease. *Clin. Kidney J.* 2017;10:688–697. DOI: 10.1093/ckj/sfx080.
6. Sumathi T, Niranjali Devaraj S. Effect of Bacopa monniera on liver and kidney toxicity in chronic use of opioids. *Phytomedicine* 2009;16(10):897–903. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.03.005.
7. Vilkhova I, Mateshuk-Vatseba L, Logash M, Kantser O. Biochemical parameters of the rat's blood under chronic opioid exposure. *World of Medicine and Biology* 2021;3(77):199–203. DOI: 10.26724/2079–8334–2021–3–77–199–203.

8. Atici S, Cinel I, Cinel L, Doruk N, Eskandari G, Oral U. Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: an experimental long term treatment model. *J Biosci.* 2005 Mar;30(2):245–52. DOI: 10.1007/BF02703705.
9. Hassan R, Pike See C, Sreenivasan S, Mansor SM, Müller CP, Hassan Z. Mitragynine Attenuates Morphine Withdrawal Effects in Rats – A Comparison With Methadone and Buprenorphine. *Front. Psychiatry.* 2020;11:411. DOI: 10.3389/fpsyt.2020.00411.
10. Afarinesh MR, Haghpandah T, Divsalar K, Dehyadegary E, Shaikh-Aleslami A, Mahmoodi M. Changes in serum biochemical factors associated with opium addiction after addiction desertion. *Addict Health.* 2014;6(3–4):138–45.
11. Paltov YV, Fik VB, Vilkhova IV, Onys'ko RM, Fit'kalo OS, Kryvko YUYA, vynakhidnyky; L'vivs'kyj nacional'nyj medychnyj universytet imeni Danyla Galyc'kogo, patentovlasnyk. Sposib modeljuvannja hronichnogo opioi'dnogo vplyvu. Patent Ukrainy № 76565. 2013 Sich 10. [in Ukrainian].
12. Zupanets IA, Mysyureva SV, Propysnova VV. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: metody issledovaniya. Khar'kov; 2005. 200 s. [in Russian].

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ТРИВАЛОМУ ЗАСТОСУВАННІ ОПІОЇДУ ТА ПІСЛЯ ЙОГО ВІДМІНИ

Вільхова І.В.

Резюме. Тривале застосування опіоїдів у лікуванні хронічного болю призводить до токсичної дії на низку органів. Вивчено зміни біохімічних показників функціонального стану нирки при застосуванні різних опіоїдних препаратів, проте, у літературі є мало даних про динаміку змін ниркових маркерів, що вказують на порушення функції нирок, після відміни опіоїдів. Мета дослідження – встановити деякі біохімічні показники сироватки крові щурів при тривалому введенні терапевтичних доз налбуфіну та на пізніх термінах відміни препарату.

Матеріалом дослідження були 45 білих статевозрілих щурів-самців масою 180–260 г, котрим впродовж 70 днів проводили дом'язово ін'єкції препарату «Налбуфін» (Nalbuphine injection 20 mg). У сироватці крові визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор. Отримані дані проходили перевірку на нормальність розподілу із використанням показників коефіцієнтів асиметрії та ексцесу, а також із використанням критерію Шапіро-Уїлка (рівень достовірності $p < 0.1$). Для виявлення статистичної достовірності різниці між даними при множинних порівняннях було використано непараметричний критерій Н Краскела-Уолліса із подальшим апостеріорним (post-hoc) аналізом із використанням тесту Дана (Dunn's test). Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4–4.

Отримані дані свідчать про те, що застосування терапевтичних доз налбуфіну впродовж шести тижнів та після відміни препарату не призводить до змін показників білка сироватки крові щурів. Найвище значення показника креатиніну сироватки спостерігається через шість тижнів введення налбуфіну. При подальшому введенні препарату до десятого тижня показник креатиніну сироватки достовірно знижується, як і при відміні налбуфіну, хоча є майже удвічі вищим за контроль. Достовірне зростання показника сечовини спостерігається через шість тижнів застосування налбуфіну, а найвище значення – через десять тижнів введення налбуфіну. Після відміни препарату показник сечовини сироватки крові знижується до показників контрольної групи. Таким чином, дані проведеного дослідження вказують на те, що тривале застосування налбуфіну призводить до зростання показників сечовини та креатиніну сироватки, що є маркерами порушення азотовидільної функції нирки та ймовірного ураження ниркового тільця, а відміна препарату – до часткового відновлення цієї функції. Зміни показників кальцію та фосфору сироватки крові свідчать про порушення реабсорбційної функції нирки і ураження звивистих каналців нефрона при десятитижневому застосуванні налбуфіну та нормальну функцію після відміни препарату з шостого тижня.

Ключові слова: нирка, нефрон, біохімічні показники, опіоїди.

EVALUATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN BLOOD PLASMA WITH LONG-TERM OPIOID THERAPY AND AFTER OPIOID WITHDRAWAL

Vilkhova I.V.

Abstract. Long-term use of opioids in the treatment of chronic pain leads to toxic effects on a number of organs. Changes in the biochemical parameters of the functional state of the kidney with the use of various opioid drugs have been studied, however, there is little data in the literature on the dynamics of changes in renal markers indicating renal dysfunction after opioid withdrawal. The aim of the study was to establish some biochemical parameters of rat serum with long-term therapeutic doses of nalbuphine and in the late stages of drug withdrawal.

The study was performed on 45 white sexually mature male rats weighing 180–260 g, which were injected intravenously for 70 days with Nalbuphine (Nalbuphine injection 20 mg). Serum total protein, urea, creatinine, calcium and phosphorus were determined. The obtained data were tested for the normality of the distribution using the coefficients of asymmetry and excess, as well as using the Shapiro-Wilk test (confidence level $p < 0.1$). Non-parametric Kruskal-Wallis test H followed by a posteriori analysis using Dunn's test was used to determine the statistical significance of the difference between the data in multiple comparisons. Statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4–4.

The data suggest that the use of therapeutic doses of nalbuphine for six weeks and after withdrawal does not lead to changes in rat serum protein. The highest value of serum creatinine is observed after six weeks of nalbuphine administration. With further administration of the drug until the tenth week, the serum creatinine level is significantly

reduced, as with the withdrawal of nalbuphine, although it is almost twice as high as the control. Significant increase in urea is observed after six weeks of nalbuphine use, and the peak value – after ten weeks of nalbuphine administration. After drug withdrawal, serum urea is reduced to the level of control group. Thus, the data of the study indicate that long-term use of nalbuphine leads to an increase in serum urea and creatinine, which are markers of impaired renal nitrogen function and probable damage to the renal corpuscle, and drug withdrawal leads to partial recovery of this function. Changes in serum calcium and phosphorus indicate impaired renal reabsorption function and nephron convoluted tubular damage with ten weeks of nalbuphine administration and normal function after opioid withdrawal from the sixth week.

Key words: kidney, nephron, biochemical parameters, opioids.

ORCID and contributionship:

Vilkhova I.V.: 0000-0003-1173-6008 ^{ABCDEF}

Corresponding author

Vilkhova Iryna Volodymyrivna

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Ukraine, 79010, Lviv, 69 Pekarska str.

Tel.: +380677778522

E-mail: irinamedik75@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article

Received 22.11.2021

Accepted 20.04.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-126-134

УДК 615.212.7:616.15-071

Вільхова І.В.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ТРИВАЛОМУ ЗАСТОСУВАННІ ОПІОЇДУ ТА ПІСЛЯ ЙОГО ВІДМІНИ

Львівський національний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)

irinamedik75@gmail.com

У роботі представлено результати досліджень змін біохімічних показників сироватки крові щурів при тривалому застосуванні налбуфіну та після його відміни. Оскільки відомо, що тривале застосування опіоїдів призводить до порушення функцій нирки, дане дослідження є актуальним з огляду на те, що у літературі є мало даних про динаміку змін ниркових маркерів порушення функції нирок при визначеній дозі та терміні застосування, а також після відміни опіоїдів.

Метою дослідження було встановити деякі біохімічні показники сироватки крові щурів при тривалому введенні терапевтичних доз налбуфіну та на пізніх термінах відміни препарату.

Матеріалом дослідження були 45 білих статевозрілих щурів-самців масою 180–260 г. У сироватці крові визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор за загальноприйнятими методиками. Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4.

При шеститижневому введенні терапевтичних доз налбуфіну (підгрупа N 6) показник сироватки крові щурів складав 64.40 ± 3.57 г/л, при десятитижневому введенні (підгрупа N 10) – 74.90 ± 3.81 г/л, при шеститижневому введенні з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4) – 65.60 ± 1.58 г/л. Показник креатиніну сироватки у підгрупі N 6 складав 107.90 ± 7.40 мкмоль/л, N 10 – 94.28 ± 2.98 мкмоль/л, N 6V4 – 96.19 ± 1.26 мкмоль/л. Показник сечовини сироватки у підгрупі N 6 складав 7.62 ± 0.73 ммоль/л, N 10 – 8.90 ± 0.90 ммоль/л, N 6V4 – 5.71 ± 0.13 ммоль/л. Показник кальцію сироватки у підгрупі N 6 складав 2.39 ± 0.09 ммоль/л, N 10 – 1.98 ± 0.08 ммоль/л, N 6V4 – 2.82 ± 0.08 ммоль/л. Показник фосфору сироватки у підгрупі N 6 складав 2.11 ± 0.12 ммоль/л, N 10 – 2.04 ± 0.11 ммоль/л, N 6V4 – 2.12 ± 0.07 ммоль/л.

Таким чином, тривале застосування налбуфіну призводить до порушення азотовидільної функції нирки, а відміна препарату – до часткового відновлення цієї функції. При шеститижневому введенні налбуфіну, як і при наступній його відміні, не спостерігається порушення реабсорбційної функції нирки, яка виявлена після десятого тижня використання препарату.

Ключові слова: нирка, нефрон, біохімічні показники, опіоїди.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Морфо-функціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (номер держреєстрації 0120U 002129).

Вступ. Застосування опіоїдів у лікуванні хронічного болю має широке місце у медичній практиці [1, 2]. Проте, слід пам'ятати про їх токсичну дію під час тривалого вживання, зокрема виникнення альбумінурії і змін біохімічних показників, що вказують на порушення функцій нирок [3]. Комплексна терапія пацієнтів із хронічною хворобою нирок потребує лікування хронічного болю [4, 5] і найбільш використовуваними препаратами є опіоїди [1, 2, 3]. У зв'язку з цим потреба у знаннях щодо правильного та безпечного застосування цих препаратів є актуальним напрямком наукових досліджень. Низка наукових робіт є присвячена вивченню змін біохімічних показників функціонального стану нирки при застосуванні різних опіоїдних препаратів [6, 7, 8]. Проте, у літературі є мало даних про динаміку змін ниркових маркерів, що вказують на порушення функцій нирки після відміни опіоїдів [9, 10].

Мета дослідження – встановити біохімічні показники загального білка, сечовини, креатиніну, кальцію та фосфору сироватки крові щурів при шести-, десяти-, шеститижневому введенні терапевтичних доз налбуфіну та на пізніх термінах відміни препарату з метою порівняння динаміки змін цих показників при тривалому застосуванні та відміні препарату.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження були 45 білих статевозрілих щурів-самців масою 180–260 г. Тварини містились в умовах віварію. Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.). Ін'єкції препарату «Налбуфін» (Nalbuphine injection 20 mg) проводили дом'язово, щоденно, 1 раз на добу, в одному проміжку часу протягом 70 діб у дозі 0.21–0.28 мг/кг, кожні два тижні ін'єкції препарату «Налбуфін» збільшували до максимальної разової дози [11]. Підгрупам N 6 вводили ін'єкції налбуфіну шість тижнів; N 10 – десять тижнів; N6V4 – шість тижнів з наступною чотиритижневою відміною. Контрольній групі тварин щоденно дом'язово вводили фізіологічний розчин. Взірці крові забирали з нижньої порожнистої вени при застосуванні наркозу (диетилового ефіру), після чого тварин виводили з експерименту шляхом передозування

наркозу. У сироватці крові піддослідних тварин визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор. Визначення загального білка сироватки крові проводили біуретовим методом (набір реактивів «Філісіт-Діагностика»), визначення креатиніну сироватки крові – за допомогою реакції Яффе (набір реактивів «Філісіт-Діагностика»), визначення сечовини сироватки крові – за кольоровою реакцією з діацетилмоноосимом (набір BIO-LACHEMA-TEST), визначення кальцію та фосфору сироватки крові – за допомогою фотометричного визначення загального кальцію у біологічних рідинах (набір реактивів «Філісіт-Діагностика») [12]. Всі отримані нами дані проходили перевірку на нормальність розподілу із використанням показників коефіцієнтів асиметрії та ексцесу, а також із використанням критерію Шапіро-Уїлка (рівень достовірності $p < 0.1$) та мали нормальний характер розподілу. Для представлення даних було використано середнє та стандартне відхилення у вигляді $M \pm SD$. Попри нормальний характер розподілу даних, через значну відмінність дисперсій різних груп в усіх показників за результатами перевірки із застосуванням тесту Левене, для виявлення статистичної достовірності різниці між даними при множинних порівняннях було використано непараметричний критерій Н Краскела-Уолліса із подальшим пост-хок аналізом із використанням тесту Дана (Dunn's test). Результати вважались значущими при $p < 0.05$. Всі статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4–4.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведеного дослідження встановлено, що показник білка сироватки крові у підгрупі N 6 складає 64.40 ± 3.57 г/л і є в межах контрольної групи та достовірно зростає у підгрупі N 10 і складає 74.90 ± 3.81 г/л. Після відміни налбуфіну, у підгрупі N 6V4, показник білка сироватки крові складає 65.60 ± 1.58 г/л і залишається таким, як у контрольній групі та групі тварин, котрим вводили налбуфін шість тижнів (рис. 1).

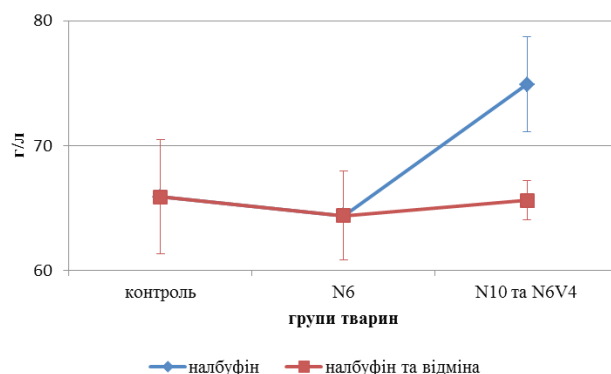


Рисунок 1 – Зміни показника білка сироватки крові щурів на шостому (підгрупа N 6), десятому (підгрупа N 10) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та при шеститижневому введенні налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4). Планка похибки – стандартне відхилення.

Показник креатиніну сироватки крові зростає у 2.23 рази відносно контролю при шеститижневому введенні налбуфіну і складає 107.90 ± 7.40 мкмоль/л. При подальшому введенні налбуфіну до десятого тижня показник креатиніну сироватки крові знижується, проте залишається вищим, ніж у контрольній групі і становить 94.28 ± 2.98 мкмоль/л. Після відміни налбуфіну, у підгрупі N 6V4, показник креатиніну сироватки крові, як і при подальшому введенні препарату, знижується і складає 96.19 ± 1.26 мкмоль/л, що є вищим, ніж у контрольній групі та не відрізняється від показника підгрупи N 10 (рис. 2).

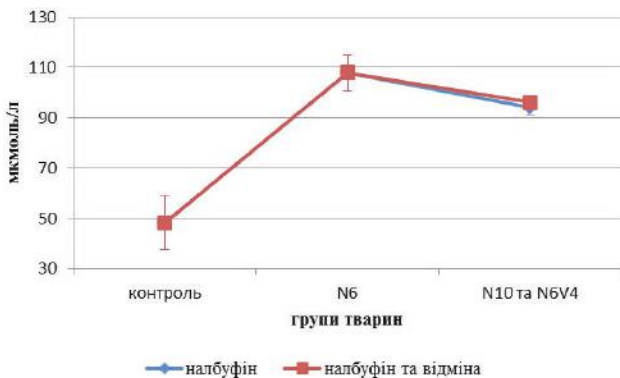


Рисунок 2 – Зміни показника креатиніну сироватки крові щурів на шостому (підгрупа N 6), десятому (підгрупа N 10) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та при шеститижневому введенні налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4). Планка похибки – стандартне відхилення.

Достовірне зростання показника сечовини спостерігається через шість тижнів застосування налбуфіну, складає 7.62 ± 0.73 ммоль/л і є достовірно вищий, ніж у контрольній групі. Найвище значення показника сечовини сироватки встановлено через десять тижнів введення налбуфіну і складає 8.90 ± 0.90 ммоль/л. Через чотири тижні відміни препарату після його шеститижневого введення показник сечовини сироватки крові у підгрупі N 6V4 знижується до показників контрольної групи, складає 5.71 ± 0.13 ммоль/л і є достовірно нижчим показника сечовини сироватки при шести- та десятитижневому введенні налбуфіну у 1.3 та 1.6 рази відповідно (рис. 3). В результаті тривалого застосування налбуфіну спостерігається зростання показників азотовидільної функції нирок, а саме креатиніну та сечовини, що є ознакою ураження ниркового тільця. При відміні налбуфіну на пізніх термінах його використання виявлено виражену позитивну динаміку показника сечовини плазми та відсутність динаміки щодо показника креатиніну сироватки крові, який залишається на рівні, як і при подальшому застосуванні препарату. Тому можна вважати, що відміна препарату призводить до часткового відновлення азотовидільної функції нирки та позитивної динаміки морфологічних змін ниркового тільця.

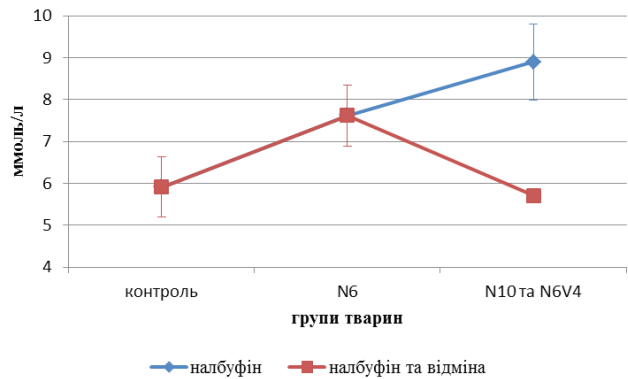


Рисунок 3 – Зміни показника сечовини сироватки крові щурів на шостому (підгрупа N 6), десятому (підгрупа N 10) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та при шеститижневому введенні налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4). Планка похибки – стандартне відхилення.

Показник кальцію сироватки крові у підгрупі N 6 складає 2.39 ± 0.09 ммоль/л, що є в межах показника контрольної групи тварин. У підгрупі N 10 спостерігається достовірне зниження показника кальцію сироватки відносно контролю у 1.18 рази і цей показник складає 1.98 ± 0.08 ммоль/л. Після чотиритижневої відміни налбуфіну, у підгрупі N 6V4, рівень кальцію сироватки крові зростає до показника 2.82 ± 0.08 ммоль/л і є у 1.2 рази вищим, ніж у тварин контрольної групи, у 1.19 рази вищим, ніж у підгрупі N 6 та у 1.4 рази вищим, ніж у підгрупі N 10 (рис. 4). Таким чином, застосування налбуфіну впродовж шести тижнів не призводить до змін показника кальцію сироватки, проте подальше його введення у наступні чотири тижні призводить до зниження цього показника щодо контролю. Через чотири тижні відміни препарату після його шеститижневого введення, показник кальцію сироватки крові навпаки суттєво зростає щодо контролю та групи тварин, котрим вводили налбуфін шість тижнів.

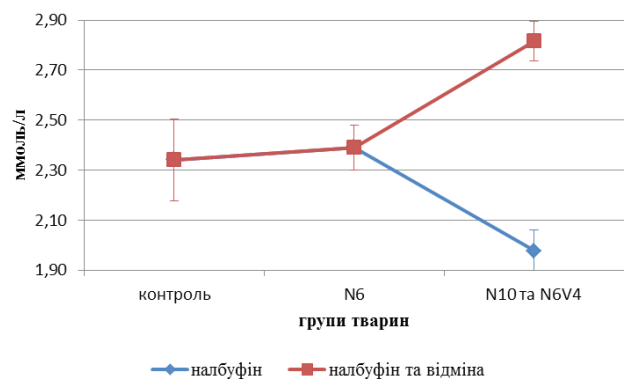


Рисунок 4 – Зміни показника кальцію сироватки крові щурів на шостому (підгрупа N 6), десятому (підгрупа N 10) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та при шеститижневому введенні налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4). Планка похибки – стандартне відхилення.

Показник фосфору сироватки крові у підгрупі N 6 складає 2.11 ± 0.12 ммоль/л і є нижчим за показник контрольної групи тварин, хоча відмінність ста-

тистично недостовірна ($p=0.16$). При подальшому введенні налбуфіну впродовж десяти тижнів, у підгрупі N 10, показник фосфору надалі знижується, складає 2.04 ± 0.11 ммоль/л і є достовірно нижчим, ніж у контрольній групі. Після чотиритижневої відміни налбуфіну, у підгрупі N 6V4, рівень фосфору сироватки крові залишається на рівні значень групи, котрим вводили налбуфін впродовж шести тижнів і складає 2.12 ± 0.07 ммоль/л, що є нижчим за показник контрольної групи тварин, хоча відмінність статистично недостовірна ($p=0.17$) (рис. 5).

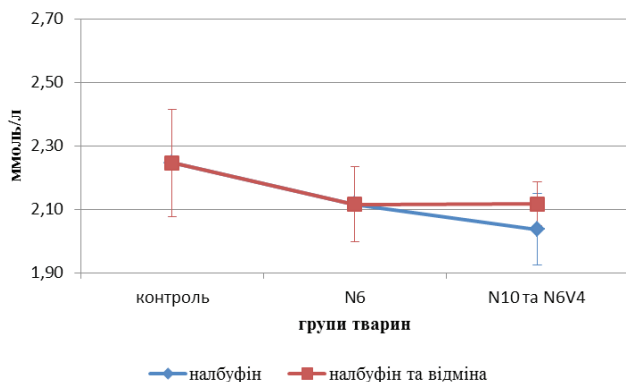


Рисунок 5 – Зміни показника фосфору сироватки крові щурів на шостому (підгрупа N 6), десятому (підгрупа N 10) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та при шеститижневому введенні налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N 6V4). Плоска похибки – стандартне відхилення.

Таким чином, застосування налбуфіну впродовж шести тижнів призводить до незначного зниження показника фосфору сироватки крові, що є більш вираженим у наступні чотири тижні введення препарату. При відміні налбуфіну після шести тижнів його застосування показник фосфору сироватки крові не змінюється у порівнянні з шеститижневим введенням препарату та є незначно нижчим, ніж у контрольній групі, тоді як при подальшому застосуванні налбуфіну, з шостого до десятого тижня, показник достовірно знижується щодо контролю.

Висновки. Тривале застосування налбуфіну призводить до зростання показників сечовини та креатиніну сироватки, що є маркерами порушення азотовидільної функції нирки та ймовірного ураження ниркового тільця, а відміна препарату – до часткового відновлення цієї функції. Зміни показників кальцію та фосфору сироватки крові свідчать про порушення реабсорбційної функції нирки і ураження звивистих канальців нефрона при десятитижневому застосуванні налбуфіну та нормальну функцію після відміни препарату з шостого тижня.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані можуть застосовуватись для прогнозування функціональних і морфологічних змін нефрона при тривалому застосуванні налбуфіну та відміні препарату, а також для порівняння змін біохімічних показників при застосуванні інших опіоїдів.

Література

1. Nuckols TK, Anderson L, Popescu I, Diamant AL, Doyle B, Di Capua P, et al. Opioid prescribing: a systematic review and critical appraisal of guidelines for chronic pain. *Ann Intern Med.* 2014;160:38–47.
2. Novick T, Kuo YF, Raji MA, Chen NW, Hasan H, Goodwin JS. Trends in opioid prescriptions among part D medicare recipients from 2007 to 2012. *Am.J. Med.* 2016;129:21–30.
3. Barbosa-Leiker C, McPherson S, Daratha K, Alicic R, Short R, Dieter B, et al. Association between prescription opioid use and biomarkers of kidney disease in US adults. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41:365–373. DOI: 10.1159/000443436.
4. Coluzzi F, Caputi FF, Billeci D, Pastore AL, Candeletti S, Rocco M, et al. Safe Use of Opioids in Chronic Kidney Disease and Hemodialysis Patients: Tips and Tricks for Non-Pain Specialists. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:821–837. DOI: <https://doi.org/10.2147/TCRM.S262843>.
5. Pham PC, Khaing K, Sievers TM, Pham PM, Miller JM, Pham SV, et al. 2017 update on pain management in patients with chronic kidney disease. *Clin. Kidney J.* 2017;10:688–697. DOI: 10.1093/ckj/sfx080.
6. Sumathi T, Niranjali Devaraj S. Effect of Bacopa monniera on liver and kidney toxicity in chronic use of opioids. *Phytomedicine* 2009;16(10):897–903. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.03.005.
7. Vilkhova I, Mateshuk-Vatseba L, Logash M, Kantser O. Biochemical parameters of the rat's blood under chronic opioid exposure. *World of Medicine and Biology* 2021;3(77):199–203. DOI: 10.26724/2079–8334–2021–3–77–199–203.
8. Atici S, Cinel I, Cinel L, Doruk N, Eskandari G, Oral U. Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: an experimental long term treatment model. *J Biosci.* 2005 Mar;30(2):245–52. DOI: 10.1007/BF02703705.
9. Hassan R, Pike See C, Sreenivasan S, Mansoor SM, Müller CP, Baffano Z. Mitragynine Attenuates Morphine Withdrawal Effects in Rats – A Comparison With Methadone and Buprenorphine. *Front. Psychiatry.* 2020;11:411. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00411.
10. Afarinesh MR, Haghpahan T, Divsalar K, Dehyadegary E, Shaikh-Aleslami A, Mahmoodi M. Changes in serum biochemical factors associated with opium addiction after addiction desertion. *Addict Health.* 2014;6(3–4):138–45.
11. Paltov YV, Fik VB, Vilkhova IV, Onys'ko RM, Fit'kalo OS, Kryvko YUYA, vynakhidnyky; L'vivs'kyj nacional'nyj medychnyj universytet imeni Danyla Galyc'kogo, patentovlasnyk. Sposib modeljuvannja hronichnogo opioi'dnogo vplyvu. Patent Ukrainy № 76565. 2013 Sich 10. [in Ukrainian].
12. Zupanets IA, Mysyureva SV, Propysnova VV. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: metody issledovaniya. Khar'kov; 2005. 200 s. [in Russian].

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ТРИВАЛОМУ ЗАСТОСУВАННІ ОПІОЇДУ ТА ПІСЛЯ ЙОГО ВІДМІНИ Вільхова І.В.

Резюме. Тривале застосування опіоїдів у лікуванні хронічного болю призводить до токсичної дії на низку органів. Вивчено зміни біохімічних показників функціонального стану нирки при застосуванні різних опіоїдних препаратів, проте, у літературі є мало даних про динаміку змін ниркових маркерів, що вказують на порушення функції нирок, після відміни опіоїдів. Мета дослідження – встановити деякі біохімічні показники сироватки крові щурів при тривалому введенні терапевтичних доз налбуфіну та на пізніх термінах відміни препарату.

Матеріалом дослідження були 45 білих статевозрілих щурів-самців масою 180–260 г, котрим впродовж 70 днів проводили дом'язово ін'єкції препарату «Налбуфін» (Nalbuphine injection 20 mg). У сироватці крові визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор. Отримані дані проходили перевірку на нормальність розподілу із використанням показників коефіцієнтів асиметрії та ексцесу, а також із використанням критерію Шапіро-Уїлка (рівень достовірності $p < 0.1$). Для виявлення статистичної достовірності різниці між даними при множинних порівняннях було використано непараметричний критерій Н Краскела-Уолліса із подальшим апостеріорним (post-hoc) аналізом із використанням тесту Дана (Dunn's test). Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4–4.

Отримані дані свідчать про те, що застосування терапевтичних доз налбуфіну впродовж шести тижнів та після відміни препарату не призводить до змін показників білка сироватки крові щурів. Найвище значення показника креатиніну сироватки спостерігається через шість тижнів введення налбуфіну. При подальшому введенні препарату до десятого тижня показник креатиніну сироватки достовірно знижується, як і при відміні налбуфіну, хоча є майже удвічі вищим за контроль. Достовірне зростання показника сечовини спостерігається через шість тижнів застосування налбуфіну, а найвище значення – через десять тижнів введення налбуфіну. Після відміни препарату показник сечовини сироватки крові знижується до показників контрольної групи. Таким чином, дані проведеного дослідження вказують на те, що тривале застосування налбуфіну призводить до зростання показників сечовини та креатиніну сироватки, що є маркерами порушення азотовидільної функції нирки та ймовірного ураження ниркового тільця, а відміна препарату – до часткового відновлення цієї функції. Зміни показників кальцію та фосфору сироватки крові свідчать про порушення реабсорбційної функції нирки і ураження звивистих каналців нефрона при десятитижневому застосуванні налбуфіну та нормальну функцію після відміни препарату з шостого тижня.

Ключові слова: нирка, нефрон, біохімічні показники, опіоїди.

EVALUATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN BLOOD PLASMA WITH LONG-TERM OPIOID THERAPY AND AFTER OPIOID WITHDRAWAL

Vilkhova I.V.

Abstract. Long-term use of opioids in the treatment of chronic pain leads to toxic effects on a number of organs. Changes in the biochemical parameters of the functional state of the kidney with the use of various opioid drugs have been studied, however, there is little data in the literature on the dynamics of changes in renal markers indicating renal dysfunction after opioid withdrawal. The aim of the study was to establish some biochemical parameters of rat serum with long-term therapeutic doses of nalbuphine and in the late stages of drug withdrawal.

The study was performed on 45 white sexually mature male rats weighing 180–260 g, which were injected intravenously for 70 days with Nalbuphine (Nalbuphine injection 20 mg). Serum total protein, urea, creatinine, calcium and phosphorus were determined. The obtained data were tested for the normality of the distribution using the coefficients of asymmetry and excess, as well as using the Shapiro-Wilk test (confidence level $p < 0.1$). Non-parametric Kruskal-Wallis test H followed by a posteriori analysis using Dunn's test was used to determine the statistical significance of the difference between the data in multiple comparisons. Statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4–4.

The data suggest that the use of therapeutic doses of nalbuphine for six weeks and after withdrawal does not lead to changes in rat serum protein. The highest value of serum creatinine is observed after six weeks of nalbuphine administration. With further administration of the drug until the tenth week, the serum creatinine level is significantly reduced, as with the withdrawal of nalbuphine, although it is almost twice as high as the control. Significant increase in urea is observed after six weeks of nalbuphine use, and the peak value – after ten weeks of nalbuphine administration. After drug withdrawal, serum urea is reduced to the level of control group. Thus, the data of the study indicate that long-term use of nalbuphine leads to an increase in serum urea and creatinine, which are markers of impaired renal nitrogen function and probable damage to the renal corpuscle, and drug withdrawal leads to partial recovery of this function. Changes in serum calcium and phosphorus indicate impaired renal reabsorption function and nephron convoluted tubular damage with ten weeks of nalbuphine administration and normal function after opioid withdrawal from the sixth week.

Key words: kidney, nephron, biochemical parameters, opioids.

ORCID автора та його внесок до статті:

Vilkhova I.V.: 0000-0003-1173-6008 ^{ABCDEF}

Адреса для кореспонденції

Вільхова Ірина Володимирівна

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Адреса: Україна, 79010, Львів, вул. Пекарська 69

Тел.: +380677778522

E-mail: irinamedik75@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 22.11.2021 року
Стаття прийнята до друку 20.04.2022 року