OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2019.01.04

Для листування:

м. Львів, вул. Пекарська, 69, 79010
Е-пошта: masna.zz@gmail.com

Стаття надійшла: 03.04.2019

Прийнята до друку: 30.04.2019

Опублікована онлайн: 26.06.2019

© Ростислав Согуйко,
Зоряна Масна, 2019

ORCID iDs

Rostyslav Sohujko:

<https://orcid.org/0000-0001-9293-6321>

Zoriana Masna

<https://orcid.org/0000-0003-2057-7061>

Конфлікт інтересів: Дослідження проводили за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які могли б розглядатися як потенційний конфлікт інтересів.

Внесок авторів:

Ідея: З. Масна

Дослідження і написання статті: Р. Согуйко.

Редагування та остаточне затвердження:

З. Масна

УДК 611.716.4-018.4:612.015.31:615.212.7]-08

Аналіз динаміки мінерального складу кісткової тканини на тлі опіоїдного впливу

Ростислав Согуйко, Зоряна Масна

*Львівський національний медичний університет імені
Данила Галицького, Львів, Україна*

Вступ. Сучасна наукова медична література містить численні дані щодо особливостей структурної перебудови кісткової тканини та динаміки її мінерального складу у віковому аспекті, а також під впливом різноманітних екзо- та ендогенних чинників. Однак даних, які стосуються змін у мінеральному компоненті кісткової тканини за умов тривалого опіоїдного впливу в доступній літературі ми не виявили, хоча широке застосування опіоїдів у клініці як препаратів знеболювальної дії робить проблему особливо актуальною.

Мета дослідження – вивчити динаміку мінерального складу кісткової тканини щура за тривалого впливу опіоїду.

Матеріал і методи. Дослідження виконане на 40 статевозрілих безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г і віком 3,5 місяці.

Опіоїдну залежність моделювали, щоденно (1 раз на добу в однаковий проміжок часу) вводючи наркотичний анальгетик налбуфіну. Налбуфін вводили внутрішньом'язово за такою схемою: 1-й тиждень – 8 мг/кг, 2-й тиждень – 15 мг/кг, 3-й тиждень – 20 мг/кг, 4-й тиждень – 25 мг/кг, 5-й тиждень – 30 мг/кг, 6-й тиждень – 35 мг/кг.

Для визначення мінерального складу кісткової тканини нижньої щелепи щура використовували метод атомно-абсорбційного спектрального аналізу (ААСА), що дало змогу виявити в досліджуваних зразках вміст восьми мінеральних елементів (кальцій, фосфор, магній, натрій, калій, залізо, стронцій, цинк). Концентрацію досліджуваних елементів у зразках кісткової тканини зазначали у мг/г. Дослідження мінерального складу кісткової тканини нижньої щелепи проводили щотижня впродовж 7 тижнів експерименту – 6 тижнів вживання налбуфіну і через тиждень після його відміни (по 5 тварин на кожному терміні експерименту); ще 5 тварин становили контрольну групу.

Результати. Результати атомно-абсорбційного спектрального аналізу кісткової тканини тіла нижньої щелепи щура дали змогу визначити кількісний вміст чотирьох макроелементів (Ca, P, Mg, Na) і чотирьох мікроелементів (K, Fe, Sr, Zn), їхні питомі частки в складі мінерального компонента кісткової тканини в інтактних тварин, на тлі вживання налбуфіну та після його відміни.

На тлі вживання налбуфіну та після його відміни питомі частки досліджуваних макро- та мікроелементів у складі мінерального компонента кісткової тканини нижньої щелепи щура мають виражену динаміку – питомі частки кальцію, заліза стронцію та цинку зростають, залишаються вище норми і після відміни налбуфіну, а питомі частки фосфору, натрію, магнію та калію впродовж семи тижнів експерименту є нижчими, ніж у інтактних тварин.

УДК 611.716.4-018.4:612.015.31:615.212.7]-08

Density and mineral content dynamics of bone tissue on the background of opioid influence

Sohujko R., Masna Z.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Introduction. Modern scientific medical literature contains numerous data on the peculiarities of structural transformation of bone tissue and the dynamics of its mineral content in the age aspect, as well as under the influence of various exo- and endogenous factors. However, data on changes in the mineral component of bone tissue under conditions of long-term opioid exposure have not been identified in the available literature, although the widespread use of opioids in the clinic as drugs with analgesic effect makes this topic especially important.

The aim of our research was to study the dynamics of mineral content of rat bone tissue under prolonged opioid exposure.

Materials and methods. The study was carried out on 40 sexually mature outbred male rats with a body weight of 180-200 g and aged 3.5 months.

Opioid addiction was modeled by the daily (once a day with identical intervals) injections of an opioid analgesic nalbuphine. Nalbuphine was injected intramuscularly using the following pattern: 1st week - 8 mg/kg, 2nd week - 15 mg/kg, 3rd week - 20 mg/kg, 4th week - 25 mg/kg, 5th week - 30 mg/kg, 6th week - 35 mg/kg.

To determine the mineral content of the bone tissue of rat's mandible, the method of atomic absorption spectral analysis (AASA) was used, which made it possible to detect eight mineral elements (calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, iron, strontium, zinc) in the studied samples. The concentration of researched elements in bone tissue samples was specified in mg/g. The research of mineral content of the mandible was performed weekly during 7 weeks of the experiment - 6 weeks of nalbuphine intake, and then one week after its withdrawal (5 animals per each experimental period); 5 other animals were attributed to the control group.

Results. The results of this study allowed to determine the quantitative content of all investigated elements in the bone tissue at each stage of the experiment and indicate the presence of their expressed dynamics.

Results of the atomic absorption spectral analysis of bone tissue of the rat's mandible body allowed to determine the quantitative content of four macro-elements (*Ca, P, Mg, Na*) and four microelements (*K, Fe, Sr, Zn*) and their specific shares in the mineral content of bone tissue in intact animals on the background of nalbuphine intake and after its withdrawal.

On the background of nalbuphine intake and after its withdrawal, specific shares of the studied macro- and microelements in the mineral component of bone tissue of the rat's mandible have expressed dynamics – specific shares of calcium, iron, strontium, and zinc grow and remain higher than in norm after nalbuphine withdrawal, while specific shares of phosphorus, sodium, magnesium, and potassium are lower than in intact animals during seven weeks of the experiment.

OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2019.01.04

For correspondence:

69, Pekarska St., Lviv, 79010
E-powta: masna.zz@gmail.com

Received: Apr 03, 2019

Accepted: Apr 30, 2019

Published online: June 7, 2019

© Rostyslav Sohujko,
Zoriana Masna, 2019

ORCID IDs

Rostyslav Sohujko:
<https://orcid.org/0000-0001-9293-6321>
Zoriana Masna
<https://orcid.org/0000-0003-2057-7061>

Disclosures. The authors have no potential conflicts of interest to disclose.

Author Contributions:

Conceptualization: Z. Masna.
Data curation: R. Sohujko
Writing - original draft: R. Sohujko.
Writing - review & editing: Z. Masna.

Динаміка абсолютних показників досліджуваних мінеральних елементів на тлі вживання налбуфіну та після його відміни є іншою, ніж динаміка їхніх питомих часток. Впродовж шести тижнів вживання налбуфіну абсолютні показники вмісту кальцію, фосфору, магнію, натрію, цинку та заліза зростають, залишаючись вище норми і після його відміни; кількість калію знижується і залишається нижчою від норми і після відміни налбуфіну, а кількість стронцію також знижується, але мінімально, і після відміни налбуфіну має таке саме значення, як і в інтактних тварин.

Висновки. Результати проведеного дослідження дали змогу визначити абсолютний кількісний вміст всіх досліджуваних елементів та їхні питомі частки в кістковій тканині нижньої щелепи на кожному з етапів експерименту та засвідчили наявність вираженої динаміки, різної для кожного з досліджуваних показників.

Ключові слова: мінеральні елементи, нижня щелепа, щур, опіоїди.

Вступ. Сучасна наукова медична література містить численні дані щодо особливостей структурної перебудови кісткової тканини та динаміки її мінерального складу після травм, у процесі регенерації, а також під впливом різних екзо- та ендогенних чинників [5, 9, 10, 11, 12, 13, 21]. Відомо, що обидва аспекти кісткоутворення – структурний і біохімічний – перебувають у тісному морфо-функціональному зв'язку. У цьому випадку механічні властивості кістки перебувають у прямій залежності від ступеня її мінералізації [19]. Хімічний склад кістки сьогодні вивчений доволі ґрунтовно. Результати численних клінічних та експериментальних досліджень свідчать, що структура і якість кісткової тканини зазнають суттєвих змін при системних метаболічних розладах і цукровому діабеті, під дією токсичних речовин та при гіподинамії [5, 8]. Однак даних, які стосуються змін у мінеральному компоненті кісткової тканини за умов тривалого опіоїдного впливу в доступній літературі ми не виявили, хоча широке застосування опіоїдів у клініці як препаратів знеболювальної дії робить проблему особливо актуальною [2, 7, 18, 20].

Тому метою наших досліджень стало вивчити динаміку мінерального складу кісткової тканини щура за тривалого впливу опіоїду.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконане на 40 статевозрілих безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г і віком 3,5 місяці. Дослідних тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Дослідження є частиною планової наукової роботи кафедр нормальної анатомії та оперативної хірургії з топографічною анатомією «Структурна організація, ангіоархитектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо- та ендопатогенних факторів», номер державної реєстрації: 0115U000041, яка виконується у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького згідно з державним планом та програмою впродовж 2015–2020 років.

Всі дослідження проведені згідно з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». На проведення дослідження отримано дозвіл комісії з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 3 від 16 березня 2015 р.).

Опіоїдну залежність моделювали, щоденно (1 раз на добу в однаковий проміжок часу) вводячи наркотичну анальгетику налбуфіну. Налбуфін вводили внутрішньом'язово за такою схемою: 1-й тиждень – 8 мг/кг, 2-й тиждень – 15 мг/кг, 3-й тиждень – 20 мг/кг, 4-й тиждень – 25 мг/кг, 5-й тиждень – 30 мг/кг, 6-й тиждень – 35 мг/кг [16].

Для визначення мінерального складу кісткової тканини нижньої щелепи щура використову-

The dynamics of absolute indices of the researched mineral elements on the background of nalbuphine intake and after its withdrawal differs from the dynamics of their specific shares. During six weeks of nalbuphine intake, absolute levels of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, zinc, and iron increase, remaining above the norm after its withdrawal; the amount of potassium decreases and remains lower than in norm after nalbuphine withdrawal, while the amount of strontium decreases, though minimally, and after nalbuphine withdrawal, it returns to the same level as in intact animals.

Conclusions. Results of the study allowed to determine the absolute quantitative content of all researched elements and their specific shares in the mandible bone tissue at each stage of the experiment and showed expressed dynamics, which is different for each of the researched indices

Key words: Mineral elements, mandible, rat, opioids.

Introduction. Modern scientific medical literature contains numerous data on the peculiarities of structural reconstruction of bone tissue and its dynamics [5, 9, 10, 11, 12, 13, 21]. It is known that both aspects of bone formation - structural (mineral content after trauma, in the process of regeneration, and also under the influence of various exo- and endogenous factors) and biochemical - are in close morpho-functional connection. In this case, the mechanical quality of the bone is in direct dependence from the degree of mineralization [19]. The chemical content of the bone has been studied quite thoroughly today. The results of numerous clinical and experimental studies showed that the structure and quality of bone tissue undergo significant changes at systemic metabolic disorders and diabetes mellitus, under the influence of toxic substances and hypodynamia [5, 8]. However, we did not find data on changes in the mineral content of bone tissue under long-term opioid exposure in available literature, although the widespread use of opioids in the clinic as pain relief agents makes the problem very important [2, 7, 18, 20].

The purpose of our research is to study the dynamics of the mineral content of rat bone tissue at the long-term influence of the opioid.

Materials and methods of research. The study was performed on 40 sexually mature, outbred male rats with a body weight of 180-200 g and age 3.5 months. Experimental animals were kept at the vivarium of the Danylo Halytsky National Medical University.

The research is a part of the planned scientific work of the departments of normal anatomy and operative surgery with topographical anatomy "Structural organization, angioarchitectonics and anthropometric features of organs in the intra- and extrauterine periods of development, under conditions of exo-endopathogenic factors", the state registration number: 0115U000041, which is executed in Danylo Halytsky Lviv National Medical University according to the state plan and program during 2015-2020.

All studies were conducted in accordance with the provisions of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 1986), Council Directive 86/609 / EEC (1986), Law of Ukraine No. 3447-IV "On the Protection of Animals from ill-treatment." The permission of the Ethics Committee of the Danylo Halytsky Lviv National Medical University (protocol No. 3 dated March 16, 2015) was obtained for the study.

Opioid dependence was modeled daily (1 time per day at the same time interval) by injecting narcotic analgesics of nalbuphine. Nalbuphine was injected intramuscularly with the following scheme: week 1 - 8 mg / kg, week 2 - 15 mg / kg, week 3 - 20 mg / kg, week 4 - 25 mg / kg, 5 week - 30 mg / kg, week 6 - 35 mg / kg [16].

To determine the mineral composition of the bone tissue of the rat's mandible, the method of atomic absorption spectral

вали метод атомно-абсорбційного спектрального аналізу (ААСА), що дало змогу виявити в досліджуваних зразках вміст восьми мінеральних елементів (з них чотири макроелементи: кальцій (Ca), фосфор (P), магній (Mg), натрій (Na) та чотири мікроелементи: калій (K), залізо (Fe), стронцій (Sr), цинк (Zn)). Дослідження виконували на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-1N (Carl Zeiss Jena, Німеччина), використовували полум'я пропан-бутан-повітря, сушильної шафи 2В-151 (Україна), аналітичних вагів другого класу точності марки XAS 100/C (RADWAG, Польща).

Концентрацію досліджуваних елементів у зразках кісткової тканини зазначали у мг/г. Дослідження мінерального складу кісткової тканини нижньої щелепи проводили щотижня впродовж 7 тижнів експерименту – 6 тижнів вживання налбуфіну і через тиждень після його відміни (по 5 тварин на кожному терміні експерименту); ще 5 тварин становили контрольну групу.

Отримані результати опрацьовували з використанням стандартних статистичних функцій електронних таблиць Excel (версія 7) і за допомогою пакета прикладних програм для статистичного аналізу даних медико-біологічних обстежень Biostat та Statistica (StatSoft Inc., США). Для кожного параметра визначали середнє арифметичне значення, дисперсію та довірчий інтервал за рівні достовірності $P=95\%$.

Результати. Результати проведеного дослідження мінерального складу кісткової тканини тіла нижньої щелепи щура в нормі, а також впродовж шести тижнів вживання налбуфіну та після його відміни дали змогу визначити кількісний вміст всіх досліджуваних елементів у кістковій тканині на кожному з етапів експерименту та засвідчили наявність їхньої вираженої динаміки.

Зокрема, під час дослідження було виявлено, що в усіх зразках кісткової тканини серед чотирьох мікроелементів (Ca, P, Mg, Na) найбільша питома частка належить кальцію (45% в інтактних тварин, 75-72-73-75-71-70% впродовж шести тижнів вживання налбуфіну і 71% після його відміни) (рис. 1-8). У цьому випадку найбільш питомі частки кальцію були впродовж першого та четвертого тижнів експерименту.

Рис. 1. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи інтактного щура за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 2. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через тиждень опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Дещо меншою (38% в інтактних тварин, 16-18-18-17-19-19% впродовж шести тижнів вживання налбуфіну і 20% через тиждень після його відміни) є питома частка фосфору. Найменшими питомі частки фосфору були впродовж першого та четвертого тижнів експерименту (рис. 1-8).

Найменшими серед досліджуваних мінеральних макроелементів є питомі частки натрію та магнію, які в інтактних тварин становлять 8% і 9%, відповідно. Впродовж шести тижнів експерименту питома частка натрію становила 4-5-4-4-4-5%, а магнію – 5-5-5-4-6-6% (рис. 1-8). Після відміни налбуфіну питомі частки натрію та магнію зростають, порівняно з нормою, удвічі і становлять 8% для натрію і 9% для магнію.

Порівняння питомих часток досліджуваних мікроелементів (K, Fe, Sr, Zn) засвідчило, що в інтактних тварин найбільшою була частка калію, яка становила 79%. Частки заліза, стронцію та цинку в інтактних тварин були

analysis (AASA) was used, which allowed to detect the contents of eight mineral elements in the samples studied (of which four macroelements: calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg), sodium (Na) and four microelements: potassium (K), iron (Fe), strontium (Sr), zinc (Zn)). The investigations were carried out on an atomic absorption spectrophotometer AAS-1N (Carl Zeiss Jena, Germany), using propane-butane-air flame, drying cabinet 2B-151 (Ukraine), analytical scales of the second grade of accuracy of the brand XAS 100 / C (RADWAG, Poland).

Concentration of the investigated elements in bone tissue samples was indicated in mg / g. Investigations of the mineral composition of the mandible were performed weekly for 7 weeks of the experiment - 6 weeks of nalbuphine use and one week after its withdrawal (5 animals per experiment period); 5 more animals were in the control group.

The obtained results were processed using the standard statistical functions of the Excel spreadsheets (version 7) and using the application package for the statistical analysis of data from the biomedical surveys Viostat and Statistica (StatSoft Inc., USA). For each parameter, the arithmetic mean value, the variance and the confidence interval at the level of reliability of $P = 95\%$ were determined.

Results. The results of the study of the mineral composition of the bone tissue of the rat mandible body in the norm, as well as during the six weeks of nalbuphine use and after its withdrawal, made it possible to determine the quantitative content of all investigated elements in the bone tissue at each stage of the experiment and indicate the presence of their expressed dynamics.

In particular, during the study, it was found that in all bone tissue samples among the four microelements (Ca, P, Mg, Na), the largest specific share belongs to calcium (45% in intact animals, 75-72-73-75-71-70% for six weeks of nalbuphine use and 71% after its withdrawal) (Fig. 1-8). In this case, the most specific shares of calcium were during the first and fourth weeks of the experiment.

Fig. 1. Specific share of mineral elements in bone tissue of the mandible body of an intact rat according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 2. Specific shares of mineral elements in the bone tissue of the mandible body of the rat after a week of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Somewhat lower (38% in intact animals, 16-18-18-17-19-19% during six weeks of nalbuphine use and 20% in a week after its withdrawal) is a proportion of phosphorus. The least specific shares of phosphorus were during the first and fourth weeks of the experiment (Figs 1-8).

The smallest among of the investigated minerals are the specific shares of sodium and magnesium, which in intact animals make up 8% and 9%, respectively. During the six weeks of the experiment, the specific share of sodium was 4-5-4-4-4-5%, and magnesium 5-5-5-4-6-6% (Fig. 1-8). After the nalbuphine withdrawal, the specific share of sodium and magnesium, in comparison with the norm, is doubled to 8% for sodium and to 9% for magnesium.

Comparison of specific shares of investigated microelements (K, Fe, Sr, Zn) showed that in intact animals the greatest part belongs to potassium, which was 79%. The proportions of iron, strontium and zinc in intact animals

значно меншими і становили 12%, 5% і 4%, відповідно (рис. 9).

Рис. 3. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через два тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 4. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через три тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 5. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через чотири тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 6. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через п'ять тижнів опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 7. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через шість тижнів опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 8. Питомий вміст мінеральних макроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через тиждень після відміни опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 9. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи інтактного щура за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

were significantly smaller – 12%, 5% and 4%, respectively (Fig. 9).

Fig. 3. Specific shares of mineral macroelements in the bone tissue of the rat's mandible body after two weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 4. Specific shares of mineral macroelements in the bone tissue of the rat's mandible body after three weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 5. Specific shares of mineral macroelements in the bone tissue of the rat's mandible body after four weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 6. Specific share of mineral macroelements of the bone tissue of the rat's mandible body after five weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 7. Specific share of mineral macroelements in the bone tissue of the body of the rat's mandible after six weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 8. Specific shares of mineral macroelements in the bone tissue of the body of the rat's mandible a week after the opioid withdrawal according to the data of the atomic absorption spectral analysis

Fig. 9. Specific shares of mineral microelements in the bone tissue of the body of the mandible of an intact rat according to atomic absorption spectral analysis

Впродовж семи тижнів експерименту динаміка питомих часток досліджуваних мікроелементів була різною і характерною для кожного з них (рис.9-16).

На тлі вживання налбуфіну питома частка калію знижувалась до 53-44-49-21-46-44% і мала найнижче значення впродовж четвертого тижня експерименту. Через тиждень після відміни налбуфіну питома частка калію становила 46% (в інтактних тварин – 79%) (рис. 9-16).

Питома частка заліза, яка в інтактних тварин становила 12%, на фоні вживання налбуфіну значно зростала і становила впродовж шести експериментальних тижнів 27-39-30-63-37-41% з найвищим значенням на четвертому тижні. Після відміни налбуфіну питома частка заліза залишалась більше ніж втричі вищою від нормального показника і становила 38% (рис. 9-16).

Рис. 10. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через тиждень опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 11. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через 2 тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Найменшими у всіх досліджуваних зразках були частки стронцію та цинку, які в нормі становили 5% та 4%, відповідно (рис. 9).

Під час експерименту питома частка стронцію зростала і становила 9-5-8-6-6-6%, з найвищим показником впродовж першого тижня експерименту, а після відміни вживання налбуфіну – 6%, лише незначно перевищуючи показник норми (рис. 9-16).

Питома частка цинку на тлі вживання налбуфіну зростала у 2-3 рази, порівняно з нормою становила 11-12-13-10-11-9%, сягаючи максимального значення впродовж третього тижня експерименту, а після відміни налбуфіну залишалась вдвічі вищою, ніж в інтактних тварин – 10%.

Рис. 12. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через три тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Вивчення динаміки мінерального складу кісткової тканини тіла нижньої щелепи щура впродовж шести тижнів вживання налбуфіну і через тиждень після його відміни дало змогу з'ясувати, що абсолютні показники вмісту досліджуваних макро- та мікроелементів мають виражену динаміку, характерну для кожного елемента зокрема і відмінну від динаміки їхніх питомих часток (рис.17-20).

Рис. 13. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через чотири тижні опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

During the seven weeks of the experiment, the dynamics of the specific shares of the investigated microelements was different and characteristic of each of them (Fig. 9-16).

On the background of the nalbuphine use a specific share of potassium decreased to 53-44-49-21-46-44% and had the lowest value during the fourth week of the experiment. One week after the nalbuphine withdrawal a specific share of potassium was 46% (in intact animals - 79%) (Figures 9-16).

The specific share of iron, which in intact animals was 12%, increased significantly with the use of nalbuphine to 27-39-30-63-37-41% during the six experimental weeks, with the highest values on the fourth week. After the nalbuphine withdrawal, the proportion of iron remained more than three times higher than in norm and was 38% (Figures 9-16).

Fig. 10. Specific share of microelements in the bone tissue of the rat's mandible body after a week of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 11. Specific share of microelements in the bone tissue of the body of the rat's mandible after 2 weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

The smallest specific shares in all studied samples belong to strontium and zinc, which were 5% and 4% in norm, respectively (Fig.

9). During the experiment, the specific share of strontium increased and was 9.5-8-6-6-6%, with the highest index during the first week of the experiment, and after the nalbuphine withdrawal - 6%, only slightly exceeding the norm (Figures 9-16)

The specific share of zinc on the background of the nalbuphine intake increased in 2-3 times, compared with the norm was 11-12-13-10-11-9%, reaching the maximum value during the third week of the experiment, and after the nalbuphine withdrawal remained twice as high as in intact animals - 10%.

Fig. 12. Specific shares of microelements in the bone tissue of the body of the rat's mandible after three weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

The study of the dynamics of the mineral content of the bone tissue of the rat's mandible body during six weeks of nalbuphine use and one week after its withdrawal made it possible to find out that absolute indices of the content of the studied macro- and microelements have an expressed dynamics characteristic for each element and different from their dynamics of their specific shares (Fig. 17-20).

Fig. 13. Specific share of micro elements in the bone tissue of the rat's mandible body after four weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Рис. 14. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через п'ять тижнів опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 15. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через шість тижнів опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Рис. 16. Питомий вміст мінеральних мікроелементів у кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура через тиждень після відміни опіоїдного впливу за даними атомно-абсорбційного спектрального аналізу

Вміст кальцію в кістковій тканині тіла нижньої щелепи різко зростає через тиждень від початку експерименту, сягаючи максимального значення та перевищуючи норму в чотири рази ($58,2333 \pm 0,1242$ мг/г). Впродовж шести тижнів експерименту вміст кальцію залишається в 3-4 рази вищим, ніж у інтактних тварин, а після відміни налбуфіну перевищує норму втричі ($44,3733 \pm 0,1368$ мг/г) (рис. 17).

Кількість фосфору впродовж експерименту змінюється незначно, сягаючи максималь-

ного значення на шостому тижні вживання налбуфіну ($14,8466 \pm 1,6163$ мг/г) і знижується після його відміни ($12,5900 \pm 13,9378$ мг/г), проте залишається вищою, ніж в інтактних тварин (рис. 17).

Рис. 17. Динаміка вмісту кальцію та фосфору в кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура впродовж шести тижнів опіоїдного впливу та після його відміни

Кількість магнію та натрію в кістковій тканині нижньої щелепи також зростає на тлі вживання налбуфіну, проте динаміка їхнього вмісту нерівномірна. Максимальних показників кількість магнію та натрію сягає на шостому тижні експерименту ($4,4367 \pm 1,4408$ мг/г і $3,6600 \pm 0,2113$ мг/г, відповідно), а після його відміни знижується, залишаючись дещо вищою, ніж у контролі ($3,0467 \pm 2,4226$ мг/г магнію та $2,7333 \pm 0,9246$ мг/г натрію) (рис. 18).

Рис. 18. Динаміка вмісту натрію та магнію в кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура впродовж шести тижнів опіоїдного впливу та після його відміни

Впродовж першого тижня вживання налбуфіну вміст калію знижується більше ніж удвічі, порівняно з інтактними тваринами ($1,2467 \pm 0,0248$ мг/г), а мінімального показни-

Fig. 14. Specific shares of microelements in the bone tissue of the body of the rat's mandible after five weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 15. Specific shares of microelements in the bone tissue of the rat's mandible body after six weeks of opioid intake according to atomic absorption spectral analysis

Fig. 16. Specific shares of microelements in the bone tissue of the rat's mandible body a week after the opioid withdrawal on the data of the atomic absorption spectral analysis

The content of calcium in the bone tissue of the mandible body increases significantly in a week from the beginning of the experiment, reaching the maximum value and exceeding the norm in four times ($58,2333 \pm 0,1242$ mg / g). During the six weeks of the experiment, calcium content is 3-4 times higher than that of intact animals, and after nalbuphine withdrawal exceeds the norm in three times ($44,3733 \pm 0,1388$ mg / g) (Fig. 17).

The amount of phosphorus changes slightly during the experiment, reaching the maximum

value at the sixth week of nalbuphine use ($14,8466 \pm 1,6163$ mg / g) and decreasing after its withdrawal ($12,5900 \pm 13,9378$ mg / g), but remains higher than in intact animals (Fig. 17).

Fig. 17. Dynamics of calcium and phosphorus content in the bone tissue of the rat's mandible body during the six weeks of opioid intake and after its withdrawal

The amount of magnesium and sodium in the bone tissue of the mandible also increases with the use of nalbuphine, but the dynamics of their content is uneven. The maximum amount of magnesium and sodium reaches at the sixth week of the experiment ($4,4367 \pm 1,4408$ mg / g and $3,6600 \pm 0,2113$ mg / g, respectively), and after its withdrawal decreases, remaining slightly higher than in the control group ($3,0467 \pm 2,4226$ mg / g of magnesium and $2,7333 \pm 0,9246$ mg / g of sodium) (Fig. 18).

Fig. 18. Dynamics of the content of sodium and magnesium in the bone tissue of the rat mandible body during six weeks of opioid intake and after its withdrawal

During the first week of nalbuphine use, potassium content decreases twice compared to intact animals (1.2467 ± 0.0248 mg / g), and the minimum index

ка ($0,5600 \pm 0,0497$ мг/г) сягає на четвертому тижні експерименту. Після відміни налбуфіну кількість калію в кістковій тканині досліджуваної ділянки залишається нижчою від норми удвічі ($1,4933 \pm 0,0379$ мг/г) (рис. 19).

Кількість цинку в кістковій тканині на тлі вживання налбуфіну зростає, сягаючи найвищого значення на другому тижні експерименту ($0,4500 \pm 0,0497$ мг/г), а після відміни налбуфіну залишається удвічі вищою, ніж у нормі ($0,3267 \pm 0,2609$ мг/г) (рис. 19).

Рис. 19. Динаміка вмісту калію та цинку в кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура впродовж шести тижнів опіоїдного впливу та після його відміни

Вміст заліза в кістковій тканині впродовж шести тижнів експерименту є вищим, ніж за умов норми, максимального показника ($1,7267 \pm 0,0625$ мг/г), який перевищує норму майже в чотири рази, сягає через чотири тижні вживання налбуфіну, а після його відміни залишається втричі вищим, ніж в інтактних тварин ($1,2333 \pm 0,3126$ мг/г) (рис. 20).

Кількість стронцію на тлі вживання налбуфіну залишається найбільш стабільною серед досліджуваних макро- та мікроелементів, незначно знижуючись лише впродовж третього, четвертого та шостого тижнів експерименту. Мінімального значення ($0,1767 \pm 0,1120$ мг/г) показник вмісту стронцію в кістковій тканині сягає на четвертому тижні вживання налбуфіну, а після його відміни кількість досліджуваного елемента в кістковій тканині є такою ж, як в інтактних тварин ($0,2000 \pm 0,1242$ мг/г) (рис. 20).

Рис. 20. Динаміка вмісту заліза та стронцію в кістковій тканині тіла нижньої щелепи щура впродовж шести тижнів опіоїдного впливу та після його відміни

Обговорення. Незульгати проведеного дослідження засвідчують, що на тлі тривалого вживання препаратів опіоїдної дії виражені зміни відбуваються не лише в тканинах мозку, печінки, підшлункової залози, міокарду, нирок та інших внутрішніх органів [1, 3, 4, 6, 14, 15, 17], як це описано в численних літературних джерелах, а й у кістковій тканині – зокрема в її мінеральному компоненті, що треба брати до уваги для призначення та проведення курсів лікування, застосовуючи препарати цієї групи [20].

Проведений аналіз динаміки щільності кісткової тканини нижньої щелепи та її мінерального складу впродовж семитижневого експериментального періоду дав змогу зробити такі висновки.

1. Результати атомно-абсорбційного спектрального аналізу кісткової тканини тіла нижньої щелепи щура дали змогу визначити кількісний вміст чотирьох макроелементів (*Ca, P, Mg, Na*) та чотирьох мікроелементів (*K, Fe, Sr, Zn*) і їхні питомі частки в складі мінерального компонента кісткової тканини в інтактних тварин, на тлі вживання налбуфіну та після його відміни

2. На тлі вживання налбуфіну абсолютні показники вмісту кальцію, фосфору, магнію, натрію, цинку та заліза зростають, залишаючись вище норми і після його відміни; кількість калію знижується і залишається нижчою від норми і після відміни налбуфіну, а кількість стронцію також знижується, але мінімально, і після відміни налбуфіну має таке саме значення, як і в інтактних тварин.

(0.5600 ± 0.0497 mg / g) reaches at the fourth week of the experiment. After nalbuphine withdrawal, the amount of potassium in the bone tissue of the investigated area remains twice as low (1.4933 ± 0.0379 mg / g) (Fig. 19).

The amount of zinc in bone tissue on the background of the nalbuphine use increases, reaching the highest value in the second week of the experiment (0.4500 ± 0.0497 mg / g), and after the nalbuphine withdrawal remains twice as high (0.3267 ± 0.2609 mg / g) (Fig. 19).

Fig. 19. Dynamics of potassium and zinc content in the bone tissue of the rat's mandible body during the six weeks of opioid intake and after its withdrawal

The content of iron in bone tissue during the six weeks of the experiment is higher than in the norm, the maximum (1.7267 ± 0.0625 mg / g), which exceeds the norm almost in four times, reaches after four weeks of nalbuphine use, and after its withdrawal remains three times higher than in intact animals (1.2333 ± 0.3126 mg / g) (Fig. 20).

The amount of strontium with the nalbuphine use remains the most stable among the studied macro- and microelements, slightly decreasing only during the third, fourth and sixth weeks of the experiment. The minimum value (0.1767 ± 0.1120 mg / g) of the strontium content in the bone tissue reaches at the fourth week of the nalbuphine use, and after its withdrawal, the amount of the element in the bone tissue is the same as in intact animals (0.2000 ± 0.1242 mg / g) (Fig. 20).

Fig. 20. Dynamics of iron and strontium content in the bone tissue of the body of the mandible of the rat during the six weeks of opioid intake and after its withdrawal

Discussion. the results of the study show that, on the backdrop of prolonged use of opioid drugs, expressed changes occur not only in the tissues of the brain, liver, pancreas, myocardium, kidneys and other internal organs [1, 3, 4, 6, 14, 15, 17], as described in numerous literary sources, but also in bone tissue - in particular, in its mineral component, which must be taken into account in the medicine prescriptions and conducting the treatment courses, using drugs of this group [20].

The analysis of the density dynamics of bone tissue of the mandible and its mineral composition during the seven-week experimental period made it possible to draw the following conclusions.

1. Results of atomic absorption spectral analysis of bone tissue of the body of the rat's mandible allowed to determine the quantitative content of four macroelements (Ca, P, Mg, Na) and four microelements (K, Fe, Sr, Zn) and their specific shares in the mineral component of the bone tissue in intact animals, with the use of nalbuphine and after its withdrawal

2. On the background of the nalbuphine use absolute values of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, zinc and iron increase, remaining above the norm and after its withdrawal; the amount of potassium decreases and remains lower than in norm and after the nalbuphine withdrawal, and the quantity of strontium is also reduced, but minimally, and after the nalbuphine withdrawal has the same value as in intact animals.

3. Динаміка питомих часток досліджуваних елементів на тлі вживання налбуфіну та після його відміни є іншою, ніж динаміка його кількісних абсолютних показників – питомі частки кальцію, заліза стронцію та цинку зростають і залишаються вище норми і після відміни налбуфіну, а питомі частки фосфору, натрію, магнію та калію впродовж семи тижнів експерименту нижчі, ніж в інтактних тварин.

3. Dynamics of specific shares of the studied elements on the background of the nalbuphine use and after its withdrawal is different from the dynamics of its quantitative absolute indicators - the specific shares of calcium, iron of strontium and zinc grow and remain higher than norm and after nalbuphine withdrawal, and specific shares of phosphorus, sodium, magnesium and potassium during the seven weeks of the experiment are lower than in intact animals.

Література/References

1. Brock C., Olesen S.S., Olesen A.E., Frokjaer J.B., Andresen T., Drewes A.M. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and management. *Drugs*. 2012;72(14):1847-1865.
2. Brummett C.M., Harbaugh C., Nalliah R.P. Third Molar Extraction and Persistent Use of Opioids-Reply. *JAMA*. 2018;320(22):2377-2378. doi: 10.1001/jama.2018.17203.
3. Colameco S., Coren J.S. Opioid-Induced Endocrinopathy, *J Am Osteopath Assoc*. 2009;109(1):20-25.
4. Dorn S., Lembo A., Cremonini F. Opioid-induced bowel dysfunction: epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and initial therapeutic approach. *Am J Gastroenterol*. 2014;2(1):31-37.
5. Fujita Y., Goto S., Ichikawa M., Hamaguchi A., Maki K. Effect of dietary calcium deficiency and altered diet hardness on the jawbone growth: A micro-CT and bone histomorphometric study in rats. *Arch Oral Biol*. 2016;72:200-210. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.08.036.
6. Hresko N.I. Changes of colon angioarchitectonics under conditions of 2-4-week opioid effect in the experiment *Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald*. 2017;(5):43-48.
7. Isirdia-Espinoza M.A., Sánchez-Prieto M., Tobías-Azúa F., Reyes-García J.G. Pre-emptive analgesic effectiveness of meloxicam versus tramadol after mandibular third molar surgery: a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70(1):31-36. doi: 10.1016/j.joms.2011.03.039.
8. Kordiyak O.Y., Masna Z.Z., Pupin T.I. Morphological signs of destruction and regeneration of the periodontal tissue of rats in experiment *Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald*. 2017;(6):70-74.
9. Korenkov A. V. Evaluation of healing of the skeleton long bone experimental defect after implantation of osteoplastic material «Calc-i-oss®» into its cavity by the method of computerized tomography *The New Armenian Medical Journal*, 2014; 8(4):23-27.
10. Korenkov A.V., Sikora V.Z. Computed tomographic evaluation of the healing of experimental defect of a long bone of the skeleton after implantation into its cavity osteoplastic material «Cerabone®» *Georgian medical news*. 2015;238(1):89-93.
11. Korenkov A.V. Morphological features of healing of experimental defect of long bones diaphysis under the conditions of implantation of biphasic osteoplastic material en *Osteologia*. 2016; 12(1): 21-26.
12. Korenkov A.V. Healing of the defect of a long bone after the implantation into its cavity of osteoplastic material based on B-tricalcium phosphate *World Journal of Medical Sciences*. 2016;13(2): 133-138.
13. Korenkov A.V. Influence of β -tricalcium phosphate on the biomechanical dynamics of healing of experimental defect of the compact bone *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*. 2017; 6(1):25-32.
14. Mateshuk-Vatseba L.R., Zinko A.V. Ultrastructural organization of corpus callosum under the effect of nalbuphine in the experiment. *Actual Issues Of Morphology*. 2015;1:83-88.
15. Mateshuk-Vatseba L., Pidvalna U., Kost A. Peculiarities of vascular tunic microstructure of the white rat eyeball under the effect of opioid *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2015;1.56(3):1057-1062.
16. Onis'ko R.M., Pal'tov YEV., Fik V.B., Vil'khova I.V., Kryvko YUYA, Yakymiv NYA, vynakhidnyky; Danyla Halyts'koho, patentovlasnyk. *Revolutsiynnyy modelyuvannya fizychnoyi opioyidnoyi yim u shchuriv*. Patent Ukrayiny № 76564. 2013 Sich 10.
17. Seltenshammer M.H., Marchart K., Paula P., Kordina N., Klupp N., Schneider B. et al. Micromorphological changes in cardiac tissue of drug-related deaths with emphasis on chronic illicit opioid abuse. *Addiction*. 2013;108(7):1287-1295.
18. Sullivan M.D., Edlund M.J., Zhang L., Unützer J., Wells K.B. Association between mental health disorders, problem drug use, and regular prescription opioid use. *Archives of internal medicine*. 2006;166(19): 2087-2093.
19. Tatara M.R., Łuszczewska-Sierakowska I., Krupski W. Serum Concentration of Macro-, Micro-, and Trace Elements in Silver Fox (*Vulpes vulpes*) and Their Interrelationships with Morphometric, Densitometric,

- and Mechanical Properties of the Mandible. *Biol Trace Elem Res.* 2018;185(1):98-105. doi: 10.1007/s12011-017-1221-x.
20. Volkow N.D., McLellan A.T. Opioid abuse in chronic pain – misconceptions and mitigation strategies. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:1253-1263.
21. Zandi M., Dehghan A., Amini P., Rezaeian L., Doulati S. Evaluation of mandibular fracture healing in rats under zoledronate therapy: A histologic study. *Injury.* 2017;48(12):2683-2687. doi: 10.1016/j.injury.2017.10.026.