

# ФУНДАМЕНТАЛЬНІ МЕДИЧНІ ДИСЦИПЛІНИ

УДК 616.151-008.82:615.212.7

DOI <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2022.65.17>

**Вільхова Ірина Володимирівна,**

*кандидат медичних наук, доцент,  
доцент кафедри нормальної анатомії,*

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

*irinamedik75@gmail.com*

*<https://orcid.org/0000-0003-1173-6008>*

*м. Львів, Україна*

**Матешук-Вацеба Леся Ростиславівна,**

*доктор медичних наук, професор,  
завідувач кафедри нормальної анатомії,*

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

*lvatseba@gmail.com*

*<https://orcid.org/0000-0002-3466-5276>*

*м. Львів, Україна*

**Логаш Максим Валентинович,**

*кандидат медичних наук,  
асистент кафедри нормальної анатомії,*

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

*maxlohash@gmail.com*

*<https://orcid.org/0000-0003-3978-7616>*

*м. Львів, Україна*

## **Зміни деяких біохімічних показників сироватки крові у разі дво- та шеститижневого застосування терапевтичних доз опіюду та на ранніх термінах відміни препарату**

Актуальним питанням сьогодення є безпека використання опіоїдів для лікування синдрому хронічного болю, що супроводжує низку соматичних захворювань. Більшість наркотиків або їх метаболітів виводяться через нирки і є однією з причин гострого та хронічного пошкодження нирок. Метою дослідження було порівняння деяких біохімічних показників сироватки крові у разі дво- та шеститижневого введення терапевтичних доз налбуфіну та порівняння їх після відміни засобу на ранніх термінах застосування. Це дослідження виконане на 45 білих статево зрілих щурах-самцях масою 180–260 г. У сироватці крові піддослідних тварин визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор. Статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4. Показник білка у досліджуваних групах мав незначні коливання щодо контролю, проте спостерігалась тенденція до зниження через 2 тижні введення налбуфіну та до зростання як з другого по шостий тиждень, так і у разі відміни налбуфіну на ранніх термінах експерименту. Показник креатиніну сироватки зростав з другого по шостий тиждень експерименту як у разі шеститижневого введення засобу (у 2,23 раза перевищував показники контролю), так і у разі двотижневого введення налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (у 1,63 раза перевищував показники контролю). Сечовина сироватки зросла через 2 тижні та 6 тижнів введення налбуфіну, середнє значення становило  $(6,22 \pm 0,47)$  ммоль/л та  $(7,63 \pm 0,74)$  ммоль/л відповідно. Проте після відміни препарату показник знизився до показника контрольної групи. Кальцій сироватки крові щурів знизився через 2 тижні експерименту до значення  $2,16 \pm 0,09$  ммоль/л. Через 6 тижнів застосування налбуфіну, як і після відміни препарату, кальцій сироватки зріс до рівня показника контрольної групи і становив  $2,39 \pm 0,09$  ммоль/л та  $2,46 \pm 0,05$  ммоль/л відповідно. Показник фосфору сироватки зріс через 2 тижні експерименту і становив  $2,42 \pm 0,05$  ммоль/л. Через 6 тижнів введення налбуфіну та після відміни препарату показник знизився до значення  $2,12 \pm 0,12$  ммоль/л і  $2,00 \pm 0,05$  ммоль/л відповідно.

**Висновки.** Застосування терапевтичних доз налбуфіну впродовж двох та шести тижнів, а також після відміни препарату не впливає на концентрацію загального білка сироватки крові щурів. У результаті дво- та шеститижневого застосування засобу виникає порушення азотовидільної функції нирки, а отже, і ураження ниркових тілець, котре спостерігається також упродовж чотирьох тижнів відміни препарату після його двотижневого застосування, про що свідчить тенденція до зростання показників сечовини та креатиніну через два тижні введення налбуфіну та достовірне збільшення показника креатиніну після відміни препарату. Двотижневе введення налбуфіну призводить до гіпокальціємії та гіперфосфатемії, що свідчить про порушення реабсорбційної функції нирок, тоді як подальше чотиритижневе введення препарату та відміна препарату – до нормалізації цих показників, окрім фосфору, котрий є знижений.

**Ключові слова:** нирка, креатинін, сечовина, фосфор, кальцій, загальний білок, щури.

**Vilkhova Iryna Volodymyrivna**, PhD in Medicine, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Normal Anatomy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, irinamedik75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1173-6008>, Lviv, Ukraine

**Mateshuk-Vatseba Lesia Rostyslavivna**, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Normal Anatomy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, lvatseba@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3466-5276>, Lviv, Ukraine

**Logash Maksim Valentynovych**, PhD in Medicine, Assistant of the Department of Normal Anatomy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, maxlohash@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3978-7616>, Lviv, Ukraine

## Changes in some serum biochemical parameters during two- and six-week use of therapeutic doses of opioids and in the early stages of drug withdrawal

An important issue today is the safety of opioids for the treatment of chronic pain syndrome, which accompanies a number of somatic diseases. Most drugs or their metabolites are excreted through the kidneys and are one of the causes of acute and chronic kidney damage. The aim of the study was to compare some serum biochemical parameters of rats at two and six weeks of therapeutic doses of nalbuphine and to compare them after early withdrawal. This study was performed on 45 white sexually mature male rats weighing 180–260 g. In the serum of experimental animals' total protein, urea, creatinine, calcium and phosphorus were determined. Statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4-4. Serum total protein in the study groups had small fluctuations in control, but there was a tendency to decrease after 2 weeks of nalbuphine administration and to increase both from the second to the sixth week and with the withdrawal of nalbuphine in the early stages of the experiment. Serum creatinine increased from the second to the sixth week of the experiment both with six weeks of administration (2.23 times higher than control values) and with two weeks of nalbuphine with the subsequent four-week withdrawal (1.63 times higher than control values). Serum urea increased after 2 weeks and 6 weeks of nalbuphine administration, with mean values  $6.22 \pm 0.47$  mmol/l and  $7.63 \pm 0.74$  mmol/l respectively. However, after drug withdrawal the indicator decreased to the control group. Serum calcium in rats decreased after 2 weeks of the experiment to the value ( $2.16 \pm 0.09$  mmol/l). After 6 weeks of nalbuphine administration, as after drug withdrawal, serum calcium increased to the level of the control group and was  $2.39 \pm 0.09$  mmol/l and  $2.46 \pm 0.05$  mmol/l respectively. The serum phosphorus index increased after 2 weeks of the experiment and was  $2.42 \pm 0.05$  mmol/l. After 6 weeks of nalbuphine administration and after drug withdrawal, the value decreased to  $2.12 \pm 0.12$  mmol/l and  $2.00 \pm 0.05$  mmol/l respectively.

**Conclusions.** The use of therapeutic doses of nalbuphine for two and six weeks, as well as after drug withdrawal does not affect the concentration of serum total protein of rats. As a result of two- and six-week use of the drug, an impaired renal nitrogen excretion is observed, and hence the structure of the renal corpuscles is altered, which also takes place during four weeks of drug withdrawal after two weeks of use, as evidenced by an increase in urea and creatinine after two weeks of nalbuphine and significant increase in creatinine after drug withdrawal. Two-week administration of nalbuphine leads to hypocalcemia and hyperphosphatemia, indicating impaired renal reabsorption function, while a subsequent four-week administration and withdrawal leads to normalization of these parameters, except for phosphorus, which is reduced.

**Key words:** kidney, creatinine, urea, phosphorus, calcium, total protein, rats.

**Вступ.** У лікуванні синдрому хронічного болю широко застосовують опіоїдні препарати, тому питання їх безпечного використання є актуальним у наш час [1 с. 821–837]. Низка клінічних та експериментальних робіт присвячена вивченню структури та функції нирок під дією різних патогенних чинників [2 с. 70–77; 3 с. 576–594], у тому числі опіоїдів та у разі абстинентного синдрому [4, с. 411]. Наслідки застосування опіоїдних засобів залежать як від тривалості, так і від застосованої дози [5 с. 146–154; 6, с. 12–16; 7, с. 39–41]. Відомо, що вживання опіоїдів збільшує ризик виникнення прогресуючої хронічної ниркової недостатності [8 с. 223]. Однак лише поодинокі роботи характеризують зміни морфології та функції нирок у разі визначеної дози та тривалості вживання опіоїдів, а також після відміни препаратів [9, с. 199–203].

**Мета** – порівняти біохімічні показники загального білка, сечовини, креатиніну, кальцію та фосфору сироватки крові щурів у разі дво- та шеститижневого введення терапевтичних доз налбуфіну та на ранніх термінах відміни засобу.

**Матеріали і методи.** Матеріалом дослідження були 45 білих статевозрілих щурів-самців масою 180–260 г. Тварини утримувались 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

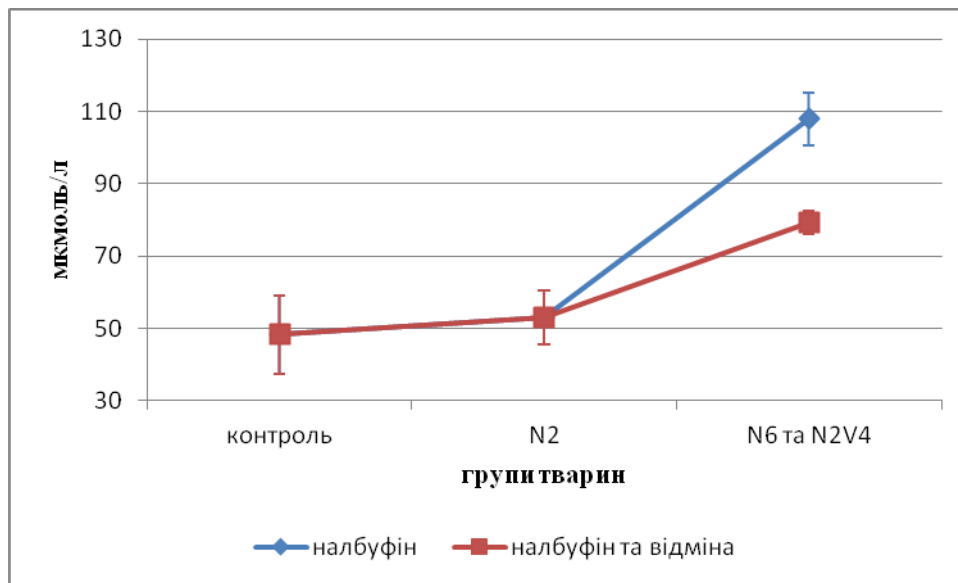
хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.). Піддослідні тварини поділено на такі групи: контрольну групу становили 15 тварин, котрим щоденно дом'язово вводили фізіологічний розчин; підгрупу N2 становили 10 тварин, котрим проводили ін'єкції налбуфіну (Nalbuphine injection 20 mg) щоденно, дом'язово, 2 тижні у дозі 0,21 мг/кг; підгрупу N6 становили 10 тварин, котрим проводили ін'єкції налбуфіну щоденно, дом'язово, 6 тижнів у дозі 0,25 мг/кг; підгрупу N2V4 становили 10 тварин, котрим проводили ін'єкції налбуфіну щоденно, дом'язово, 2 тижні у дозі 0,21 мг/кг з наступною чотиритижневою відміною. Взірці крові забирали з нижньої порожнистої вени у разі застосування наркозу (диетилового ефіру), після чого тварин виводили з експерименту шляхом передозування наркозу. У сироватці крові піддослідних тварин визначали загальний білок, сечовину, креатинін, кальцій, фосфор за загальноприйнятими методиками [10]. 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 у множинних порівняннях було використано непараметричний критерій Н Краскела-Уолліса із подальшим пост-хок аналізом із використанням тесту Дана (Dunn's test). Результати вважалися 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.** Загальний білок сироватки крові мав тенденцію до зниження через 2 тижні введення налбуфіну ( $62,40 \pm 3,81$  г/л) та зростання через 6 тижнів введення налбуфіну ( $64,40 \pm 3,57$  г/л), однак ця динаміка не мала статистичного підтвердження. У підгрупі N2V4 показник білка сироватки крові становив ( $64,50 \pm 1,58$  г/л), що також не мало достовірної різниці з показниками контрольної групи та підгрупи тварин, котрим вводили налбуфін два

та шість тижнів. Однак спостерігалась тенденція до зростання показника білка як з другого по шостий тиждень введення налбуфіну, так і у разі відміни налбуфіну на ранніх термінах експерименту порівняно з підгрупою N2.

Зростання рівня креатиніну сироватки крові, порівняно із контрольним показником середнього значення, спостерігали вже через 2 тижні, хоча різниця статистично недостовірною ( $p=0,71$ ). Через 6 тижнів застосування налбуфіну встановлено достовірне та значне зростання значення показника креатиніну сироватки крові, котрий становив ( $107,89 \pm 7,36$  мкмоль/л), що у 2,23 раза перевищує показники контролю. У підгрупі N2V4 показник креатиніну сироватки крові вищий у 1,63 раза за показник контрольної групи тварин і становив ( $79,20 \pm 3,14$  мкмоль/л), проте у 1,3 раза нижчий, ніж у підгрупі N6 (рис. 1).



**Рис. 1.** Зміни показника креатиніну сироватки крові щурів на другому (підгрупа N2), шостому (підгрупа N6) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та у разі двотижневого введення налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N2V4). Планка похибки – стандартне відхилення

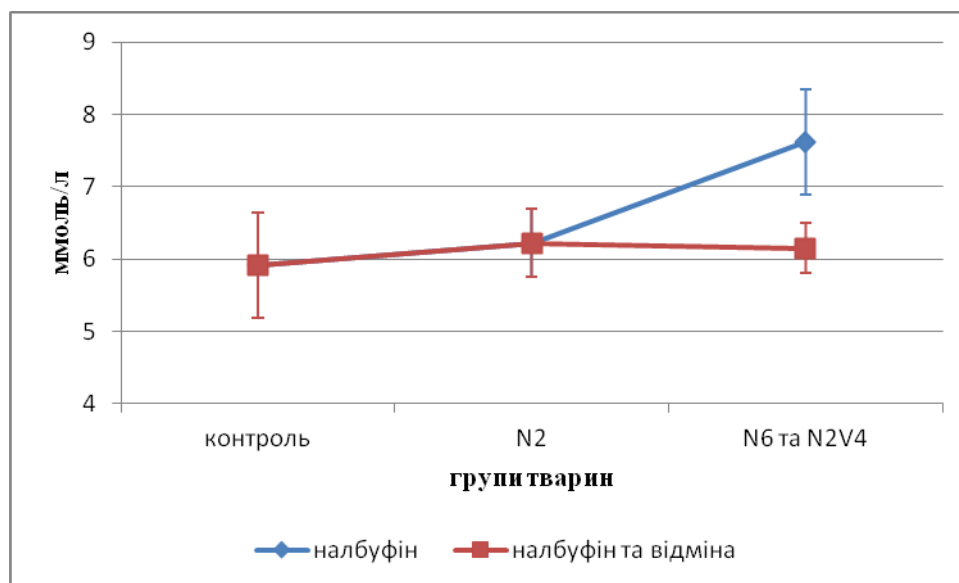
Концентрація сечовини у сироватці крові через 2 тижні експерименту не мала статистично достовірної різниці у разі порівняння із показником контрольної групи. Однак через 6 тижнів експерименту середнє значення зросло до  $7,62 \pm 0,74$  ммоль/л, було статистично значущим порівняно з контролем ( $5,91 \pm 0,73$  ммоль/л;  $p < 0,01$ ). У підгрупі N2V4 показник сечовини сироватки крові щурів становив  $6,15 \pm 0,34$  ммоль/л і не мав достовірної відмінності з показником у підгрупі N2 та контрольної групи та є достовірно нижчим, ніж у підгрупі N6 ( $p < 0,01$ ) (рис. 2).

Рівень кальцію крові щурів знизився після двох тижнів експерименту до  $2,16 \pm 0,09$  ммоль/л проти  $2,34 \pm 0,16$  ммоль/л контрольної групи ( $p < 0,01$ ). Через 6 тижнів введення налбуфіну показник кальцію зріс до рівня показника контрольної групи і становив  $2,39 \pm 0,09$  ммоль/л, різниця у порівнянні із контрольною групою не була статистично підтверджена ( $p=0,91$ ). У підгрупі N2V4 показник кальцію сироватки крові щурів зріс до

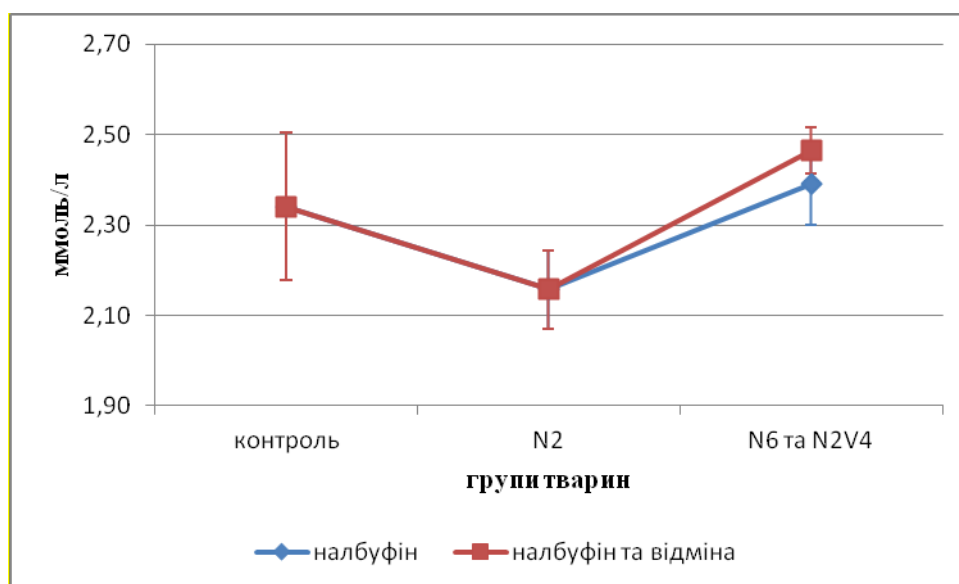
значення  $2,46 \pm 0,05$  ммоль/л і був достовірно вищим, ніж у тварин, котрим вводили налбуфін протягом двох тижнів, та вищим, ніж у контрольній групі та підгрупі N6, проте різниця не була статистично підтверджена ( $p=0,11$  та  $p=0,63$  відповідно) (рис. 3).

Показник середнього значення фосфору зростає через 2 тижні експерименту і становив  $2,42 \pm 0,05$  ммоль/л. Через 6 тижнів введення налбуфіну вже спостерігалось зниження рівня фосфору, проте достовірно не відрізнялось порівняно з контрольною групою ( $2,12 \pm 0,12$  ммоль/л;  $p = 0,18$ ). У підгрупі N2V4 показник фосфору достовірно щодо контролю знизився до середнього значення –  $2,00 \pm 0,05$  ммоль/л (рис. 4).

**Обговорення.** Отримані дані корелюють з результатами досліджень М.Р. Afarinesh та співав., які продемонстрували відсутність змін загального білку сироватки у осіб, які постійно вживали опіоїди більше двох років, порівняно з особами, котрі утримувались від вживання опіоїдів протягом місяця [11 с. 138–145].



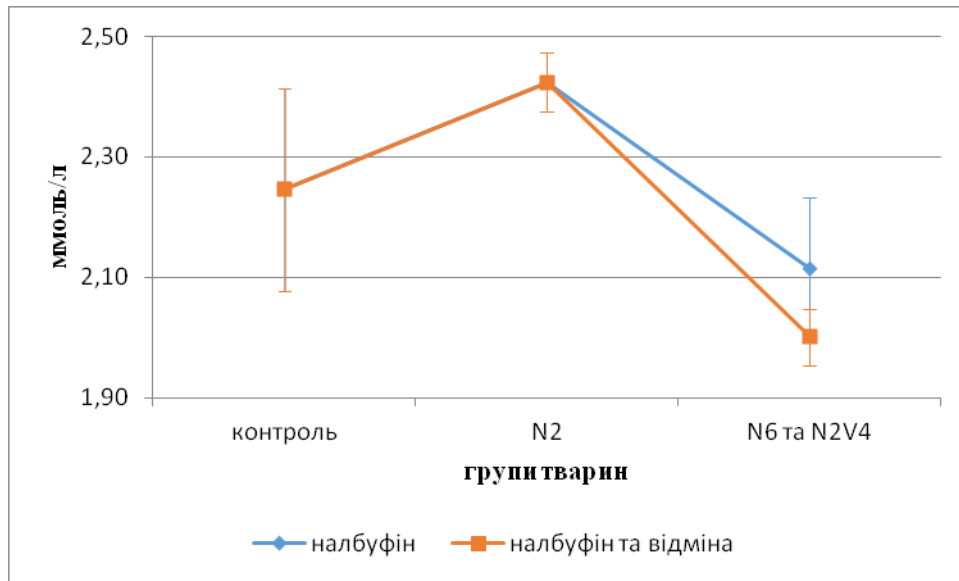
**Рис. 2.** Зміни показника сечовини сироватки крові щурів на другому (підгрупа N2), шостому (підгрупа N6) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та у разі двотижневого введення налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N2V4). Планка похибки – стандартне відхилення



**Рис. 3.** Зміни показника кальцію сироватки крові щурів на другому (підгрупа N2), шостому (підгрупа N6) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та у разі двотижневого введення налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N2V4). Планка похибки – стандартне відхилення

У літературі представлено суперечливі дані щодо змін деяких біохімічних показників у разі вживання опіоїдів та їх відміни. Згідно з даними літератури, хронічне використання морфіну призводить до зростання рівня сечовини, сечової кислоти та креатиніну у сироватці крові. Значно вищі показники креатиніну та сечовини сироватки крові щурів встановлено у разі використання високих доз морфіну протягом короткого періоду або за нижчих доз у разі тривалого використання протягом 30 діб [12, с. 245–252; 13, с. 897–903]. Інші джерела вказують на те, що у осіб, котрі вживали опіоїди більше двох років, знижені показники сечовини, креатиніну та кальцію сироватки, а у осіб, котрі утриму-

вались від вживання опіоїдів протягом місяця, суттєво не відрізнялись від показників сироватки крові контрольної групи [11, с. 138–145]. Згідно з експериментальними дослідженнями на щурах, у разі відміни морфіну, котрий вводили у дозі 10–50 мг/кг двічі на добу протягом 6 днів, гематологічні та біохімічні показники крові (у тому числі сечовини, креатиніну, кальцію та фосфору) після відміни морфіну були також у межах нормального референтного діапазону [4, с. 411; 14]. У представленому дослідженні визначено, що введення терапевтичних доз налбуфіну впродовж двох тижнів призводить до незначного зростання показників креатиніну та сечовини сироватки крові, проте через шість



**Рис. 4.** Зміни показника фосфору сироватки крові щурів на другому (підгрупа N2), шостому (підгрупа N6) тижнях введення терапевтичних доз налбуфіну та у разі двотижневого введення налбуфіну з наступною чотиритижневою відміною (підгрупа N2V4). Планка похибки – стандартне відхилення

тижнів – до збільшення у 2,23 та у 1,3 раза відповідно. Це свідчить про негативний вплив налбуфіну на функцію нирок щурів, зокрема на порушення азотовидільної функції нирок та ймовірне ураження ниркових тілець, уже з другого тижня його застосування. Після двотижневого застосування препарату у наступні чотири тижні відміни засобу порушення азотовидільної функції нирок зберігається, хоча рівень сечовини нормалізується.

Згідно з даними літератури, рівень деяких електролітів, таких як натрій, калій, магній, цинк, залізо, знижується у споживачів героїну [15, с. 135–139; 16, с. 153–162]. Результати проведеного дослідження вказують на зниження показника кальцію та зростання фосфору сироватки щурів у разі двотижневого застосування опіоїду та нормалізацію цих показників у разі його шеститижневого введення. Відміна засобу також нормалізує показник кальцію, а показник фосфору знижується.

**Висновки.** Застосування терапевтичних доз налбуфіну впродовж двох та шести тижнів, а також

після відміни препарату не впливає на концентрацію загального білка сироватки крові щурів. У результаті дво- та шеститижневого застосування засобу виникає порушення азотовидільної функції нирки, а отже, й ураження ниркових тілець, котре спостерігається також упродовж чотирьох тижнів відміни препарату після його двотижневого застосування, про що свідчить тенденція до зростання показників сечовини та креатиніну через два тижні введення налбуфіну та достовірне збільшення показника креатиніну після відміни препарату. Двотижневе введення налбуфіну призводить до гіпокальціємії та гіперфосфатемії, що свідчить про порушення реабсорбційної функції нирок, тоді як подальше чотиритижневе введення препарату та відміна препарату – до нормалізації цих показників, окрім фосфору, котрий є знижений. Отримані дані можуть слугувати для порівняння зі змінами біохімічних показників у разі тривалого застосування налбуфіну та на пізніх термінах відміни препарату.

**Інформація про конфлікт інтересів.** Конфлікту інтересів немає.

**Інформація про фінансування.** Автори гарантують, що вони не отримували жодних винагород у будь-якій формі, здатних вплинути на результати роботи.

**Особистий внесок кожного автора у виконання роботи:**

- І.В. Вільхова – концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, аналіз отриманих результатів;
- Л.Р. Матешук-Вацеба – оформлення тексту роботи;
- М.В. Логаш – статистична обробка даних, оформлення графіків.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Coluzzi F., Caputi F.F., Billeci D., Pastore A.L., Candeletti S., Rocco M., Romualdi P. 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>.
2. Vasylenko V., Korol L., Kuchmenko O., Stepanova N. The oxidative status in patients with chronic kidney disease. *Ukr Biochem. J.* 2020; 92(5): 70–77. DOI: 10.15407/ubj92.05.070.
3. Petejova N., Martinek A., Zadrzil J., Teplan V. Acute toxic kidney injury. *Ren Fail.* 2019; 41(1): 576–594. DOI: 10.1080/0886022X.2019.1628780.

4. Hassan R., Pike See C., Sreenivasan S., Mansor S.M., Müller C.P. and Hassan Z. Mitragynine Attenuates Morphine Withdrawal Effects in Rats – A Comparison With Methadone and Buprenorphine. *Front. Psychiatry*, 11: 411. 2020. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00411.
5. Logash M., Pokotylo P., Zboina B., Stępień R.B. Nalbuphine: some aspects of the research and applications. *Medical Studies/Studia Medyczne*. 2017; 33(2): 146–154. DOI: <https://doi.org/10.5114/ms.2017.68710>.
6. Vilkhova I. Biochemical parameters of blood and urine of rats at six-week administration of Nalbuphine. *Reports of Morphology*. 2021; 27(1): 12–16. DOI: [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2021-27\(1\)-02](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2021-27(1)-02).
7. Ilesanmi O., Odewale T. Effect of classic soft drink Coca-Cola as a solvent in the administration of tramadol and diazepam on biochemical and histological changes in liver and kidney. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*. 2020; 3(67): 33–41. DOI: [https://doi.org/10.31450/ukrjnd.3\(67\).2020.06](https://doi.org/10.31450/ukrjnd.3(67).2020.06).
8. Mallappalli M., Sabu J., Friedman E., Salifu M. What Do We Know about Opioids and the Kidney? *Int J Mol Sci*. 2017; 18(1): 223. DOI: 10.3390/ijms18010223.
9. 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.
10. Zupanets I.A., Mysyureva S.V., Propysnova V.V. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: metody issledovaniya. Khar'kov. 2005. 200 s. [in Russian].
11. Afarinesh M.R., Haghpanah 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): 138–145.
12. 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.
13. Sumathi T., Niranjali D.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.
14. He Q., Su G., Liu K., Zhang F., Jiang Y., Gao J., Liu L., Jiang Z., Jin M., Xie H. Sex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One*. 2017 Dec 20; 12(12): e0189837. DOI: 10.1371/journal.pone.0189837. PMID: 29261747; PMCID: PMC5738108.
15. Kouros D., Tahereh H., Mohammadreza A., Minoos M.Z. Opium and heroin alter biochemical parameters of human's serum. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2010; 36(3): 135–9. DOI: 10.3109/00952991003734277.
16. Elnimr T., Hashem A., Assar R. Heroin dependence effects on some major and trace elements. *Biol Trace Elem Res*. 1996; 54(2): 153–62. DOI: 10.1007/BF02786262.