



## EVALUATION DES EFFETS DU CHLORYDRATE DE TRAMADOL SUR LES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES CHEZ LA SOURIS BALB/C

Lekana C.<sup>1,2\*</sup>, Miguel L. M.<sup>1</sup>, Dobhat-Doukakini C. R.<sup>1,2</sup>, Mbemba-bahaboula D. M.<sup>1</sup>, Mbougou- Malonga A. M. E.<sup>1</sup>, Mokondjomobé<sup>1</sup>, Moukassa D.<sup>2,3</sup> and Abena A. A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculté Des Sciences de la santé, Université Marien N'gouabi (Congo-brazzaville).

<sup>2</sup>Faculté Des Sciences Appliquées, Université Denis Sassou N'guessou.

<sup>3</sup>Service D'anatomie-pathologie, Centre Hospitalier de Brazzaville.



\*Corresponding Author: Lekana C.

Faculté Des Sciences de la santé, Université Marien N'gouabi (Congo-brazzaville).

Article Received on 25/10/2024

Article Revised on 15/11/2024

Article Accepted on 05/12/2024

### ABSTRACT

Tramadol, an opioid analgesic, is widely used for treating moderate to severe pain. Although it has a relatively favorable safety profile, it can cause various side effects, particularly affecting hematological and biochemical parameters. This preclinical study evaluated the impact of tramadol hydrochloride on these parameters in BALB/C mice by measuring hematological (red blood cell count, hemoglobin levels, hematocrit) and biochemical (blood glucose, creatinine, urea, ASAT, ALAT) markers. The mice were divided into three groups: a control group treated with distilled water, and two groups treated with 20 mg/kg and 40 mg/kg of tramadol, administered over 49 days. The results showed significant weight loss in the tramadol-treated groups, especially at the 40 mg/kg dose. Hematological analysis revealed a decrease in red blood cell count, hemoglobin levels, and hematocrit, particularly in the high-dose group, suggesting an anemic effect. Biochemical analyses showed significant alterations in metabolic and organ markers. Blood glucose levels significantly decreased, and signs of nephrotoxicity and hepatotoxicity were observed, with increased creatinine, urea, ASAT, and ALAT levels. These effects were more pronounced at the 40 mg/kg dose, highlighting the potential risks of high-dose tramadol use. These findings suggest that tramadol can induce significant adverse effects on hematological, renal, and hepatic systems, emphasizing the need for careful monitoring during long-term use.

**KEYWORDS:** Tramadol hydrochloride, Hematological parameters, Biochemical parameters, BALB/C mice, Pathophysiological effects, Preclinical study, Side effects.

### Résumé

Le tramadol, un analgésique opioïde, est couramment utilisé pour traiter la douleur modérée à sévère. Bien que son profil de sécurité soit relativement favorable, il peut provoquer divers effets secondaires, en particulier sur les paramètres hématologiques et biochimiques. Cette étude préclinique a évalué l'impact du chlorhydrate de tramadol sur ces paramètres chez des souris BALB/C, en mesurant des indices hématologiques (nombre de globules rouges, taux d'hémoglobine, hématocrite) et biochimiques (glycémie, créatininémie, urée, ASAT, ALAT).

Les souris ont été divisées en trois groupes: Un groupe contrôle traité avec de l'eau distillée, et deux groupes traités respectivement avec 20 mg/kg et 40 mg/kg de tramadol, administré pendant 49 jours. Les résultats ont montré que les souris traitées avec les doses de tramadol ont présenté une perte de poids significative, notamment à la dose de 40 mg/kg. En ce qui concerne les paramètres

hématologiques, une diminution du nombre de globules rouges, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite a été observée, particulièrement dans le groupe à forte dose, suggérant un effet anémique.

Les analyses biochimiques ont révélé des modifications importantes des paramètres métaboliques et organiques. La glycémie a diminué de manière significative, et des signes de néphrotoxicité et d'hépatotoxicité ont été notés, avec des augmentations des créatininémie, urée, ASAT et ALAT. Les effets étaient plus prononcés à la dose de 40 mg/kg, soulignant les risques potentiels d'une utilisation à fortes doses. Ces résultats suggèrent que le tramadol peut induire des effets indésirables importants sur les systèmes hématologique, rénal et hépatique, nécessitant une surveillance attentive lors de son utilisation à long terme.

Mots clés: Chlorhydrate de tramadol, Paramètres

hématologiques, Paramètres biochimiques, Souris BALB/C, Effets physiopathologiques, Effets secondaires, Étude préclinique.

## INTRODUCTION

Le tramadol est un analgésique opioïde largement utilisé pour le traitement de la douleur modérée à sévère. Il agit principalement en se liant aux récepteurs opioïdes et en inhibant la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline dans le système nerveux central (Davis et al., 2017). Bien que considéré comme ayant un profil de sécurité relativement favorable par rapport aux opioïdes classiques, le tramadol est associé à une gamme d'effets secondaires, dont des effets sur les paramètres hématologiques et biochimiques. Ces effets peuvent varier en fonction de la dose, de la durée d'exposition et des conditions expérimentales (White et al., 2020).

L'évaluation des effets du tramadol sur la santé animale est cruciale, car elle permet de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents de ses effets indésirables. Des études précliniques sur des modèles animaux, comme la souris BALB/C, sont couramment utilisées pour évaluer les impacts du tramadol sur divers systèmes physiologiques. Les effets du tramadol sur les paramètres hématologiques (tels que le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite) et biochimiques (comme la glycémie, la fonction rénale et les enzymes hépatiques) sont particulièrement pertinents pour évaluer son impact global sur la santé et la fonction organique (Alabdulrazzaq et al., 2017; Kaur et al., 2019).

L'impact du tramadol sur le système hématologique a suscité un intérêt particulier, étant donné les risques potentiels de perturbation de la production et de la fonction des cellules sanguines. Les opioïdes, y compris le tramadol, peuvent altérer la moelle osseuse, inhibant ainsi la production de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes (Chaudhary et al., 2017). De plus, des altérations des paramètres biochimiques tels que la créatininémie, l'urée sanguine et les transaminases hépatiques (ASAT et ALAT) sont souvent observées après administration d'opioïdes, suggérant une possible toxicité rénale et hépatique (Varela et al., 2015; Mikhail et al., 2018).

Le présent travail a pour objectif d'évaluer les effets du chlorhydrate de tramadol sur les paramètres hématologiques et biochimiques chez la souris BALB/C. Nous avons mesuré une série de paramètres incluant la numération des cellules sanguines, les concentrations d'hémoglobine, d'hématocrite, ainsi que des paramètres biochimiques liés à la fonction hépatique (ASAT, ALAT) et rénale (créatininémie, urée). Ces analyses permettront de mieux comprendre les effets physiopathologiques du tramadol et de fournir des informations cruciales pour son utilisation en clinique.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'impact

du tramadol sur l'équilibre hématologique et biochimique chez la souris BALB/C, en mettant particulièrement l'accent sur les effets potentiellement toxiques du médicament à différentes doses administrées. Nous examinerons aussi les relations entre les paramètres hématologiques, les biomarqueurs biochimiques et les doses administrées de tramadol, afin de mieux cerner les risques associés à l'utilisation prolongée ou à forte dose de ce médicament.

## METHODOLOGY

### 1. Matériel expérimental

Cette étude a été réalisée sur des souris BALB/C mâles, âgées de 8 à 10 semaines et pesant entre 20 et 25 g. Les animaux ont été obtenus auprès de l'animalerie du laboratoire de formation, de recherche et d'analyses biomédicales de la faculté des sciences de la santé. Les souris ont été élevées et maintenues dans des conditions standards de laboratoire, avec un cycle jour-nuit de 12 heures, une température ambiante de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $50 \pm 10\%$ . L'alimentation standard (laboratoire A04) et l'eau potable ont été fournies ad libitum. Les animaux ont été acclimatés pendant une semaine avant l'expérimentation.

### 2. Constitution des groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis aléatoirement en trois groupes, chacun comprenant 10 souris, comme suit:

**Groupe 1 (groupe témoin, ED):** Les souris ont été traitées avec de l'eau distillée à raison de 5 ml/kg de poids corporel, administrée par voie orale (administration par gavage). Ce groupe servait de contrôle pour évaluer les effets physiopathologiques du tramadol.

**Groupe 2 (TRA/20 mg/kg):** Les souris ont été traitées avec du chlorhydrate de tramadol à la dose de 20 mg/kg de poids corporel par voie orale, administrée par gavage, selon une méthode bien établie dans les études précliniques (Varela et al., 2015).

**Groupe 3 (TRA/40 mg/kg):** Les souris ont été traitées avec du chlorhydrate de tramadol à la dose de 40 mg/kg de poids corporel par voie orale, suivant les recommandations des études précédentes qui ont utilisé cette dose pour observer des effets marqués sur les paramètres biologiques (Alabdulrazzaq et al., 2017; Kaur et al., 2019).

Les traitements ont été administrés une fois par jour pendant 49 jours consécutifs.

### 3. Paramètres mesurés

Les effets du tramadol ont été évalués en mesurant les paramètres hématologiques et biochimiques à différentes étapes du traitement. Les analyses ont été effectuées au jour 49, à la fin de la période de traitement.

#### 3.1 Mesures hématologiques

Les échantillons de sang total ont été prélevés par ponction rétro-orbitaire. Les paramètres hématologiques

suiuants ont été mesurés à l'aide d'un analyseur automatique:

- **Numération des globules rouges ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )**
- **Taux d'hémoglobine (g/dL)**
- **Hématocrite (%)**
- **Volume globulaire moyen (VGM)**
- **Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)**

### 3.2 Mesures biochimiques

Les paramètres biochimiques suivants ont été mesurés à partir du sérum des animaux recueilli après centrifugation des échantillons sanguins:

- **Glycémie (g/L):** Mesurée par la réaction enzymatique du glucose avec la glucose oxydase, une enzyme qui catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (Trinder P., 1969).
- **Créatininémie (mg/dl):** Mesurée à l'aide d'un kit colorimétrique standard pour déterminer la concentration de créatinine dans le sérum (Mikhail et al., 2018).
- **Urée (mg/dl):** Mesurée par un test enzymatique en utilisant un réactif de colorimétrie (Saleh et al., 2016).
- **ASAT (UI/l) et ALAT (UI/l):** Dosées par la méthode de cinétique enzymatique en utilisant des réactifs commerciaux adaptés pour la mesure des transaminases (Davis et al., 2017).
- **Triglycérides et cholestérol (HDL, LDL, total):** Mesurés par méthode enzymatique standard à l'aide d'un analyseur de biochimie automatisé (Vazquez et al., 2019).

### 4. Collecte des données

Les données relatives à l'évolution du poids corporel des animaux ont été collectées à intervalles réguliers (jours

0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 et 49) pour suivre les variations pondérales au cours du traitement. Les variations des paramètres hématologiques et biochimiques ont été évaluées à la fin de la période de traitement, au jour 49, pour analyser l'effet cumulatif du traitement à différentes doses.

### 5. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel statistique GraphPad Prism version 9. Les données ont été présentées sous forme de moyennes  $\pm$  écart-type ( $M \pm ET$ ). La comparaison des données entre les groupes a été réalisée en utilisant l'ANOVA à un facteur, suivie d'un test de comparaison post-hoc de **Tukey** lorsque l'ANOVA a montré des différences significatives. Un seuil de significativité de  $P < 0,05$  a été retenu pour toutes les analyses statistiques.

### 6. Considérations éthiques

Cette étude a été menée conformément aux principes éthiques établis pour le traitement des animaux de laboratoire. Les procédures expérimentales ont été réalisées en minimisant la souffrance animale et en assurant une gestion appropriée du bien-être des animaux

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1- Resultats

#### 1.1. Effets du chlorhydrate de tramadol sur l'évaluation pondérale

Le tableau I montre une variation significative du poids des animaux à partir de la première semaine pour les souris traitées avec du chlorhydrate de tramadol à 40 mg/kg de p.c et à partir de la deuxième semaine pour les souris traitées avec du chlorhydrate de tramadol à 20 mg/kg de p.c

**Table I: Effect of tramadol chlorhydrate on weight evolution.**

	Poids (g)		
	ED/5ml/kg	TRA/20mg/kg	TRA/40mg/kg
J0	22,2 $\pm$ 2,0	21,7 $\pm$ 1,9	21,4 $\pm$ 1,9
J7	22,8 $\pm$ 2,2	20,0 $\pm$ 1,7	19,6 $\pm$ 1,9*
J14	22,8 $\pm$ 2,5	20 $\pm$ 1,4	18,9 $\pm$ 1,7***
J21	24,1 $\pm$ 2,4	19,2 $\pm$ 1,6***	18,53 $\pm$ 1,7****
J28	25,9 $\pm$ 2,6	18,5 $\pm$ 1,2****	18,2 $\pm$ 1,6****
J35	26,4 $\pm$ 2,2	17,8 $\pm$ 1,2*****	17,7 $\pm$ 1,4*****
J42	27,8 $\pm$ 2,5	17,5 $\pm$ 1,1*****	17,22 $\pm$ 1,5*****
J49	28,9 $\pm$ 1,9	17,2 $\pm$ 1,0*****	16,8 $\pm$ 1,4*****

N=10, ED: Eau distillée; TRA: Chlorhydrate du tramadol; J: jour, (\*):  $P < 0,05$ ; (\*\*\*):  $P < 0,001$ ; (\*\*\*\*):  $P < 0,0001$  et (\*\*\*\*\*):  $P < 0,00001$

#### 1.2. Effet du chlorhydrate de tramadol sur les paramètres hématologiques

Après 49 jours de traitement, nous avons observé des variations significative au niveau du nombre de globules rouges pour les souris traités avec 40 mg/kg du chlorhydrate de tramadol avec un P.value  $< 0,05$ , au niveau du taux d'hémoglobuline pour les souris traités avec 20

mg/kg de pc et 40 mg/kg de pc de chlorhydrate de tramadol respectivement avec P.value  $P < 0,05$  et  $P < 0,001$  et au niveau de l'hématocrite pour les souris traités avec 20 mg/kg de pc et 40 mg/kg de pc de chlorhydrate de tramadol respectivement avec P.value  $P < 0,05$  et  $P < 0,01$  représentés par le tableau II.

**Table II: Effect of tramadol chlorhydrate on hematological parameters.**

	ED/5ml/kg	TRA/20mg/kg	TRA/40mg/kg
Globules rouges x10 <sup>6</sup> /μL	11,04 ± 2,72	8,9 ± 0,95	5,44 ± 1,26**
Hémoglobuline	15,56 ± 0,97	13,74 ± 0,78*	10,12 ± 1,67***
Hématocrite	42,72 ± 4,01	37,14 ± 3,46*	34,58 ± 1,26**
CCMH	36,28 ± 2,42	33,74 ± 1,02	34,42 ± 0,85
Globules Blancs x10 <sup>3</sup> /μL	3,46 ± 1,05	3,86 ± 0,86	3,68 ± 0,18
Granulocytes	0,93 ± 0,36	0,88 ± 0,24	0,88 ± 0,15
Lymphocytes	2,18 ± 0,71	2,66 ± 0,59	2,4 ± 0,21
Monocytes	0,35 ± 0,14	0,32 ± 0,13	0,4 ± 0,16
Plaquettes x10 <sup>3</sup> /μL	1455,2 ± 70,24	1449,2 ± 55,71	1596,8 ± 120,95

N=10, VGM: volume globulaire moyen, CCMH: concentration corpculaire moyenne en hémoglobine, ED: eau distillée, TRA: tramadol, (\*): P<0,05; (\*\*): P<0,01; et (\*\*\*): P<0,001.

### 1.3. Effet du chlorhydrate de tramadol sur les paramètres biochimiques

Le tableau III nous montre des variations significatives avec de P.valeur variant entre P<0.05 et P<0.00001 chez

souris traité avec 20 mg/kg et 40 mg/kg de chlorhydrate de tramadol sur les paramètres suivants: glycémie, créatininémie, urée sanguin, ASAT et ALAT, triglycérides et HDL-cholestérol.

**Table III: Effect of tramadol chlorhydrate on biochemical parameters.**

	ED/5ml/kg	TRA/20mg/kg	TRA/40mg/kg
Glycémie (g/L)	0,68 ± 0,14	0,43 ± 0,04*****	0,34 ± 0,53*****
Creatininémie (mg/dl)	8,12 ± 0,64	11,14 ± 0,98*****	14,52 ± 2,03*****
Urée (mg/dl)	70,76 ± 2,64	78,2 ± 2,45*****	83,8 ± 4,79*****
ASAT (UI/l)	43,06 ± 4,54	138,8 ± 21,21*****	191,92 ± 13,61*****
ALAT (UI/l)	48,43 ± 12,01	101,76 ± 9,35*****	195,12 ± 14,73*****
Cholestérol total (mg/dl)	83,54 ± 5,18	81,7 ± 2,34 <sup>ns</sup>	79,34 ± 2,79 <sup>ns</sup>
Triglycérides (mg/dl)	92,98 ± 3,97	78,34 ± 6,31 <sup>ns</sup>	62,92 ± 6,26*
HDL-Cholestérol (mg/dl)	37,14 ± 2,92	41,02 ± 3,14*	43,12 ± 3,40***
LDL-Cholestérol (mg/dl)	27,80 ± 5,97	25,01 ± 3,24 <sup>ns</sup>	23,64 ± 4,00 <sup>ns</sup>

N=10, ED: eau distillée, TRA: tramadol, ASAT: aspartate aminotransferase, ALAT: alanine aminotransferase, HDL: high..., LDL: low... (\*): P<0,05; (\*\*): P<0,01; (\*\*\*\*\*): P<0,00001 et (\*\*\*\*\*): P<0,000001.

## DISCUSSION

Les résultats expérimentaux obtenus dans cette étude montrent l'impact du chlorhydrate de tramadol (TRA) sur plusieurs paramètres physiopathologiques chez la souris, notamment l'évolution du poids corporel, les paramètres hématologiques et les marqueurs biochimiques. Ces données fournissent une meilleure compréhension des effets physiopathologiques du tramadol à différentes doses et peuvent être utiles pour évaluer sa sécurité et ses risques potentiels à long terme.

### 1. Effets sur l'évaluation pondérale

Les résultats relatifs à l'évolution du poids corporel montrent une diminution progressive et significative du poids chez les souris traitées avec du chlorhydrate de tramadol à des doses de 20 mg/kg et 40 mg/kg, dès la première semaine pour la dose élevée et à partir de la deuxième semaine pour la dose de 20 mg/kg. En effet, à la fin de l'étude (49 jours), les souris traitées à 40mg/kg de tramadol ont montré une perte de poids de l'ordre de 4,2 g par rapport aux animaux du groupe contrôle, tandis que les souris traitées à 20 mg/kg ont perdu environ 3,2 g. Ce phénomène est en accord avec des études précédentes suggérant que le tramadol peut entraîner une

perte de poids en raison de son effet sur l'appétit, le métabolisme ou encore les effets secondaires liés à son action analgésique (Alabdulrazzaq et al., 2017; Kaur et al., 2019). Le mécanisme exact reste flou, mais des recherches indiquent que les opioïdes comme le tramadol peuvent interférer avec les circuits de régulation de l'appétit dans le cerveau, provoquant ainsi une réduction de la prise alimentaire (Georgieva et al., 2015).

### 2. Effets sur les paramètres hématologiques

L'analyse des paramètres hématologiques montre des effets significatifs du tramadol sur certains indices du sang, notamment la numération des globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite. Les souris traitées à la dose de 40 mg/kg ont présenté une diminution marquée du nombre de globules rouges (5,44 ± 1,26 x10<sup>6</sup>/μL) par rapport au groupe contrôle (11,04 ± 2,72 x10<sup>6</sup>/μL), ainsi qu'une baisse du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite. Ces changements peuvent être associés à une anémie induite par le traitement, ce qui est compatible avec des rapports sur les effets hématotoxiques des opioïdes, qui peuvent perturber la production de cellules sanguines dans la moelle osseuse (Chaudhary et al., 2017). En particulier, une étude de Varela et al. (2015) a mis en

évidence que le tramadol pourrait interférer avec la synthèse des érythrocytes, possiblement en raison de son action sur le métabolisme des acides aminés essentiels.

### 3. Effets sur les paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques étudiés, notamment la glycémie, la créatininémie, l'urée, ainsi que les enzymes hépatiques (ASAT et ALAT), ont montré des variations significatives en fonction de la dose de tramadol administrée. En particulier, les souris traitées avec du tramadol à 40 mg/kg ont présenté une baisse marquée de la glycémie ( $0,34 \pm 0,53$  g/L), ce qui suggère un effet hypoglycémiant à cette dose, cohérent avec des études rapportant des effets sur le métabolisme glucidique par les opioïdes (Zhao et al., 2021). L'élévation des créatininémie et urée dans les groupes TRA (20 mg/kg et 40 mg/kg) indique une altération de la fonction rénale, un effet déjà bien documenté dans la littérature, où les opioïdes peuvent causer une réduction du débit de filtration glomérulaire, augmentant ainsi ces biomarqueurs rénaux (Mikhail et al., 2018).

Les niveaux d'ASAT et d'ALAT, deux enzymes hépatique utilisées comme indicateurs de lésions hépatiques, ont augmenté de façon significative dans les groupes TRA, notamment à la dose de 40 mg/kg, ce qui suggère une hépatotoxicité. Cela est en ligne avec d'autres études qui ont rapporté des effets hépatotoxiques du tramadol à doses élevées, en raison de son métabolisme hépatique et de ses effets oxydants (Saleh et al., 2016; Asl et al., 2020).

Concernant les lipides sanguins, une baisse significative des triglycérides a été observée dans le groupe traité à 40 mg/kg ( $62,92 \pm 6,26$  mg/dl), ce qui peut être interprété comme un effet favorable du tramadol sur le métabolisme lipidique. Ce résultat est en accord avec des études précédentes qui ont observé des modifications du métabolisme des lipides en réponse à l'administration d'opioïdes, bien que les mécanismes exacts restent à élucider (Vazquez et al., 2019). De plus, une élévation du HDL-cholestérol a été notée dans les groupes TRA, en particulier à la dose de 40 mg/kg ( $43,12 \pm 3,40$  mg/dl), ce qui pourrait avoir des implications positives sur la santé cardiovasculaire, mais davantage de recherches sont nécessaires pour confirmer ce bénéfice clinique potentiel.

### CONCLUSION

Les résultats obtenus suggèrent que le chlorhydrate de tramadol exerce des effets notables sur plusieurs paramètres physiopathologiques, notamment la perte de poids, l'anémie, des signes de néphrotoxicité et d'hépatotoxicité, ainsi que des modifications du métabolisme lipidique et glucidique. Ces effets sont d'autant plus prononcés avec l'augmentation de la dose, en particulier à la dose de 40 mg/kg. Ces données mettent en évidence les risques potentiels du tramadol à doses élevées, en particulier en ce qui concerne la

fonction rénale et hépatique. Cependant, ces résultats soulignent également la nécessité de poursuivre les recherches pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de ces effets et d'évaluer les implications cliniques à long terme de l'utilisation du tramadol.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alabdulrazzaq, M., et al. "Effects of tramadol on body weight and metabolic functions in experimental rats." *Journal of Clinical Pharmacology*, 2017; 57(3): 381-388.
2. Asl, M., et al. "The hepatotoxic effects of tramadol on liver enzymes and function." *Journal of Pharmacological Sciences*, 2020; 45(4): 300-310.
3. Chaudhary, A., et al. "Opioid-induced anemia: Mechanisms and management." *Hematology Research*, 2017; 42(2): 149-156.
4. Davis, M. P., et al. "Tramadol: Pharmacology and therapeutic use in chronic pain management." *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2017; 18(5): 515-525.
5. Georgieva, R., et al. "The effect of tramadol on appetite regulation: A behavioral and neurobiological study." *Neuropharmacology*, 2015; 93: 53-60.
6. Kaur, P., et al. "Opioid-induced metabolic changes and their clinical implications." *Pharmacological Reviews*, 2019; 71(4): 457-471.
7. Mikhail, S., et al. "Renal dysfunction associated with opioid use: A clinical review." *Journal of Nephrology*, 2018; 31(6): 1033-1042.
8. Saleh, S., et al. "Hepatotoxicity of tramadol: A case study and review of the literature." *Toxicology Reports*, 2016; 3: 64-68.
9. Trinder, P. "Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen." *Journal of Clinical Pathology*, 1969; 22(2): 158-161.
10. Varela, P., et al. "Tramadol administration and its effects on erythropoiesis: A review of experimental data." *Journal of Experimental Hematology*, 2015; 43(4): 288-296.
11. Vazquez, M., et al. "Effects of opioids on lipid metabolism and cardiovascular risk." *Journal of Lipid Research*, 2019; 60(8): 1484-1491.
12. White, T. L., et al. "Safety and pharmacology of tramadol: A comprehensive review." *Journal of Pain Research*, 2020; 13: 1385-1397.
13. Zhao, Y., et al. "The role of opioids in glucose metabolism and insulin resistance." *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 2021; 20(1): 121-132.