

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**  
Katedra fyziologie



**Jakub Zámečník**

**Behaviorální projevy bolesti u potkanů**  
*Behavioral expression of pain in rats*

**Bakalářská práce**

Školitel: doc. MVDr. Šimon Vaculín, Ph.D.  
Praha, 2013

**Poděkování:**

Děkuji panu doc. MVDr. Šimonovi Vaculínovi, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích a vypracování bakalářské práce. Mé poděkování patří též mojí rodině a přátelům za podporu během studia.

Jakub Zámečník

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 20. 8. 2013

Podpis:

## **Abstrakt**

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky týkající se behaviorálních projevů bolesti u potkanů. Práce je zaměřena na potkany, jelikož ty jsou jedny z nejvíce užívaných laboratorních zvířat, a mohou se v některých pokusech setkat i s bolestí. Z různých projevů bolesti jsou vybrány právě behaviorální, které jsou poměrně dobře rozpoznatelné a vyhodnotitelné. Nejdříve jsou uvedeny nezbytné základy souvisejícími s fenoménem bolesti, s jeho pojetím u zvířat, s klasifikací, s fyziologií či třeba se způsoby, jakými se u potkanů experimentálně bolest vyvolává. V druhé polovině jsou pak postupně probrány jednotlivé behaviorální projevy bolesti s uvedenými příklady, za jakých podmínek byly sledovány. Hlavním tématem práce je tedy bolest a s ní související únikové reakce, postoj, vzhled a specifické pohyby potkana, dále je probrána vokalizace, změny v konzumaci jídla a vody, změny pohybové aktivity, úzkost, kognitivní funkce a mnoho dalších projevů. Práce může být cenným přínosem pro všechny pracovníky se zvířaty a svým rázem přispívá k welfare zvířat.

## **Klíčová slova**

Bolest u zvířat, Nocicepce, Neuropatie, Potkan, Behaviorální projevy bolesti, Chování, Aktivita, Pohyb, Vokalizace, Úniková reakce, Kognitivní funkce, Úzkost, Welfare

## **Abstract**

The aim of this work is to summarize the current knowledge regarding the behavioral expressions of pain in rat. The work is focused on rats, because they are one of the most used laboratory animals, and may experience pain in some experiments. Behavioral expressions of pain were selected, because they are quite easily recognizable and measurable. The reader will be first acquainted with the necessary basics associated with the phenomenon of pain, with its conception in animals, with classification, physiology and for example with the ways in which are in rats experimentally induced pain. Then in the second part, there are shown individual behavioral expressions with examples in which cases were these manifestations observed. So everyone who is interested can learn something about pain in connection with the avoidance reaction, pose, appearance, specific movements of rat, vocalization, changes in eating and drinking, changes in activity, anxiety, cognitive functions and many other expressions. The work can be valuable contribution for all workers with animals and with its character can contribute to animal welfare.

## **Key words**

Pain in animals, Nociception, Neuropathy, Rat, Behavioral expressions of pain, Behavior, Activity, Locomotion, Vocalization, Avoidance reaction, Cognitive functions, Anxiety, Welfare

# Obsah

Obsah.....	5
Úvod.....	5
1 Bolest u zvířat.....	5
1.1 Definice bolesti .....	6
1.2 Složky bolesti .....	6
1.3 Klasifikace bolesti .....	7
2 Fyziologie bolesti .....	7
2.1 Fyziologie nociceptivní bolesti .....	7
2.2 Fyziologie neuropatické bolesti .....	8
3 Animální modely bolesti .....	8
3.1 Modely nociceptivní bolesti .....	9
3.2 Modely neuropatické bolesti .....	10
4 Projevy bolesti.....	10
4.1 Bolest a stres.....	10
4.2 Práh bolesti .....	10
4.3 Zprostředkování reakce v rámci CNS .....	11
4.4 Typy bolestivých stimulů .....	11
4.5 Behaviorální projevy bolesti .....	12
4.5.1 Úniková reakce a jevy s ní související .....	13
4.5.2 Postoj, vzhled a pohyby těla.....	13
4.5.3 Síla došlapu .....	15
4.5.4 Vokalizace .....	15
4.5.5 Změny v obličeji.....	18
4.5.6 Konzumace jídla a vody, tělesná váha .....	20
4.5.7 Aktivita, lokomoce .....	20
4.5.8 Úzkostnost.....	21
4.5.9 Kognitivní funkce.....	21
4.5.10 Další projevy .....	23
Závěr.....	24
Použitá literatura .....	25

## Úvod

Pokusy na zvířatech jsou věčným zdrojem sporů mezi zastánci a odpůrci bojujícími za práva zvířat. V dnešní době neustále přibývá nových publikací, vzdělávacích programů a zákonů, které napomáhají stále šetrnějšímu zacházení s laboratorními zvířaty. Zvířata jsou však v mnoha pokusech nenahraditelná a proto i nadále budou součástí laboratorních výzkumů. Mezi nejčastěji používaná laboratorní zvířata patří laboratorní potkani. Jejich využití je významné především ve farmakologii, toxikologii, endokrinologii, embryologii či onkologii (Jebavý, 2011). Některé z pokusů prováděných na těchto hlodavcích doprovází bolest, která je právě jedním z nejčastěji diskutovaných témat ohledně pokusů se zvířaty. Cílem této práce je přehledně shrnout a popsat metody a postupy, které nás dovedou k rozpoznání bolestivého stavu potkana, za účelem snížení bolestivých podnětů i stavů. Bolest potkanů můžeme pozorovat na více úrovních – biochemické, fyziologické, elektrofyziologické, behaviorální. V práci se soustředím právě na behaviorální projevy, jejichž diagnostika má často, oproti ostatním druhům projevů, výhodu v rychlosti jejího provedení a malé náročnosti – materiální, finanční a leckdy i časové.

Práce by měla být přínosná především pro nejrůznější pracovníky se zvířaty, obzvláště laboratorní a v první řadě ty, které se v experimentech mohou setkat s bolestí. Z etického hlediska by mělo být v zájmu každého takového pracovníka, aby zvíře zbytečně neprožívalo bolestivé stavy a žilo co nejspokojenější život. Z tohoto pohledu se dá tato rešerše považovat za příspěvek k pracím o welfare zvířat, které je hlavní složkou etického vztahu mezi člověkem a zvířaty.

## 1 Bolest u zvířat

Myšlenka filozofa Reného Descarta ze sedmnáctého století, že zvířata jsou pouhé automaty bez duše a tudíž nemohou cítit bolest, byla již překonána. Avšak dlouho se spekulovalo o tom, zda zvířata opravdu cítí bolest. Důvod ke spekulacím je zřejmý, bolest jako subjektivní prožitek se těžko dokazuje u bytostí, které nejsou schopny verbální komunikace, resp. tyto bytosti nejsou schopny sdělit, že je něco bolí. Dnes však již víme, že živočichové mají nervový systém podobný našemu, a ten vede ke stejným fyziologickým reakcím, jako jsou naše. Budeme-li pak chápat bolest mimo jiné jako fyziologický fenomén, není pochyb o tom, že zvířata bolest pociťují. A co víc, je zcela jasné, že bolest u zvířat doprovází i emocionální prvky – především jako projevy strachu a úzkosti (Singer, 2001).

## 1.1 Definice bolesti

První definici bolesti stanovil Sherrington, který ji označil za imperativní psychický doprovod obranného reflexu. Později byla bolest definována Mezinárodní asociací pro studium bolesti jako: „nepříjemná sensorická a emocionální zkušenost spojená s akutním nebo potencionálním poškozením tkání, nebo je popisována výrazy takového poškození“ (IASP, 1979 in Vaculín, 2005). Avšak u nelidských živočichů je těžké, či nemožné pozorovat emocionální projevy, proto toto pojetí bývá často nahrazeno definicí bolesti u zvířat. Tu vytvořil např. Zimmerman: „bolest je aversivní sensorická zkušenost, způsobená aktuálním či potencionálním poškozením, která vyvolává protektivní motorické a vegetativní reakce, podmiňuje únikovou reakci a může ovlivnit druhově specifické chování, zahrnující mj. sociální chování“ (Gherardi, 2009).

## 1.2 Složky bolesti

Bolest se skládá z více odlišných komponent. Loeser (1982) vytvořil konceptuální model bolesti, v němž rozlišuje 4 základní komponenty bolestivého zážitku – nocicepci, bolest jako sensorický vjem, psychickou reakci na bolest (utrpení) a bolestivé chování.

Podkladem sensorického vjemu bolesti je **nocicepce** – veškeré procesy vyvolané aktivací nocisenzorů. Nocicepce umožňuje detekci nebezpečných podnětů, které by mohli vést ke zranění, a zprostředkovává reflexivní únikovou reakci od tohoto zdroje potenciálního nebezpečí (Sneddon, 2004). Potřeba takového rozpoznání škodlivých podnětů je zásadní pro přežití jedince, a proto se s tímto fenoménem setkáme nejen u všech obratlovců, ale i u mnohých bezobratlých, byť je u nich tento systém na nižší evoluční úrovni a tedy méně dokonalý (Smith, 2009).

Nocicepce sama o sobě však neznamená žádný subjektivní pocit bolesti. Bolest jako vlastní **sensorický vjem** vzniká až reflexí nocicepce ve vědomí (Neradilek, 2012). Je však i možné, že nocicepce nemusí nutně způsobit vnímání bolesti, stejně tak jako se bolest může objevit bez nocicepce (McGonigle, 2006).

Na dalším stupni konceptuálního modelu stojí psychická reakce na bolest – utrpení (**afektivní složka**). Jedná se o psychologický fenomén, resp. o negativní, vnitřní, emoční doprovod nocicepce reflektované ve vědomí. Celková intenzita bolesti je pak tvořena složkou sensorickou a afektivní (Neradilek, 2012).

Posledním stupněm je porucha chování – **bolestivé chování**. Lze je považovat za objektivně pozorovatelný a kvantifikovatelný projev bolesti.

Přestože byl tento konceptuální model bolesti vytvořen pro potřebu rozlišení složek bolesti u člověka, lze ho využít i u zvířat, u kterých můžeme pozorovat stejné složky. Hlavní část této práce se zabývá právě tou poslední složkou – bolestivým chováním.

### **1.3 Klasifikace bolesti**

Klasifikací může být několik, a to podle zvolených kritérií. Jedním z kritérií je časové hledisko, podle kterého rozlišujeme **bolest akutní a chronickou**. Akutní bolest trvá sekundy, minuty, hodiny, dny až týdny, má význam varovného signálu, příznaku nemoci, upozorňuje na ohrožení nebo poškození organismu, je tedy v biologickém slova smyslu účelná. Bolest trvající déle než tři měsíce nebo významně déle, než je pro určité onemocnění obvyklé, označujeme za chronickou. Taková bolest pozbývá význam varovného signálu a stává se onemocněním sama o sobě. Zatímco v prvním případě jsou analgetika v léčbě bolesti účinná, v druhém případě někdy nestačí (Kalousová, 2008).

Vedle časového hlediska je také přínosné dělení podle mechanismu vzniku a lokalizace postižení. Bolest může být buď **nociceptivní** či **neuropatická**. Nociceptivní bolest vzniká drážděním nociceptů (nocisenzorů), což jsou nervová zakončení aferentních nervových vláken (Opavský, 2011). Nociceptivní bolest pak může být somatická či viscerální. Somatická bolest je buďto povrchová, když jsou podněty přiváděny ze senzorů v kůži či podkoží, anebo hluboká, kdy podněty vycházejí ze senzorů umístěných ve svalech, šlachách či periostu. Za viscerální naproti tomu označujeme tu bolest, která vzniká drážděním receptorů v orgánech dutiny břišní či hrudní (Slováček, 2012). Neuropatická bolest pak vzniká při poškození struktur nervového systému. Podle toho, o jaký nervový systém se jedná, rozlišujeme periferní neuropatii (poškození periferních nervů či kořenů) a centrální neuropatii (poškození struktur míchy a mozku). Nutno ještě dodat, že neuropatická bolest je dlouhodobější než nociceptivní. (Opavský, 2011).

## **2 Fyziologie bolesti**

### **2.1 Fyziologie nociceptivní bolesti**

Různé typy bolesti jsou zprostředkovány různými mechanismy. Nociceptivní podněty vznikají v nociceptorech, které jsou, jak již bylo řečeno, volnými nervovými zakončeními primárních aferentních neuronů. Podle uložení v organismu se rozeznávají např. nociceptory kožní, svalové, kloubní či viscerální. Podle podnětů, které je přednostně aktivují, se dělí na mechanoceptivní, termoceptivní či chemoceptivní (Opavský, 2011).



Od nociceptorů až po první synapsi v CNS vedou hlavně tenká, slabá vlákna typu A $\delta$  a C, která se od sebe histologicky liší především tím, že vlákna typu A $\delta$  jsou slabě myelinizovaná, zatímco vlákna typu C jsou nemyelinizovaná. Těmito vlákny je signál v podobě impulzní aktivity převáděn do míchy a vyšších oddílů CNS, kde je interpretován jako bolest. Vlákna typu A $\delta$  tedy nesou tzv. „rychlou složku bolesti“, která je přesně lokalizovaná a ostrá, zatímco vlákna typu C nesou tzv. „pomalou složku bolesti“, která je nepřesně místně ohraničená a obvykle má tupý charakter. Primární aferentní vlákna vstupují do míchy v oblasti zadních rohů míšních. Podle míry myelinizace, průměru nervového vlákna a podle kvality bolesti, kterou vedou, se zde přepojují ve specifických Rexedových zónách na druhý neuron (Opavský, 2011). Do zóny 1-3 se projikuje zejména akutní povrchová bolest, zatímco bolest hluboká, viscerální je vedena do Rexedových vrstev 5, 7, 8 a 10. Druhé neurony pak směřují centripetálně na kontralaterální straně – křížení je tedy již na úrovni vstupu do míchy. Existuje několik drah bolesti. Za nejdůležitější dráhy bolesti se považují *tractus spinothalamicus* a *tractus spinoreticulothalamicus* vedoucí bolest do thalamu a dále do mozkové kůry (*gyrus cinguli*, insulární a somatosensorická kůra). Dále byl popsán *tractus spinoparabrachialis*, který vede informaci do hypothalamu a amygdaly. Poměrně nedávno bylo zjištěno, že viscerální bolest může být vedena drahami zadních provazců – *fasciculus gracilis* a *fasciculus cuneatus* (Rokyta, 2012).

## **2.2 Fyziologie neuropatické bolesti**

Neuropatická bolest nevychází z receptorů, nýbrž je iniciována primární lézí nebo dysfunkcí nervového systému. Následkem léze senzitivního nervového systému dochází ke změnám na molekulární a buněčné úrovni, které vedou k tomu, že aferentní, senzitivní neurony se stanou abnormálně citlivé a generují patologickou spontánní aktivitu, která nemusí být omezena jen na místo léze, nýbrž i na sousední nepostížená vlákna či intaktní ganglia zadních kořenů. (Ambler, 2012).

## **3 Animální modely bolesti**

Pro účely studia bolesti, jejího vlivu či její léčby bylo popsáno mnoho modelů, tedy způsobů, jak bolest experimentálně navodit. Modely můžeme dělit podle toho, jakého charakteru bolest je a jak dlouho trvá.

### **3.1 Modely nociceptivní bolesti**

**Termická akutní bolest** se vyvolává v testu zvaném tail flick test (test švihnutí ocasem) (D'Amour, 1941), při plantar testu (Hargreaves, 1988) či hotplate testu (Vaculín, 2012). Principem prvně jmenované metody je působení tepelného zdroje usměrněného na vrchní stranu ocasu fixovaného zvířete, v druhém případě se analogicky působí na plantární plochu končetiny zvířete. V obou případech se pak měří čas do únikové reakce. Jinou metodou je hot plate test, který se od předchozích liší tím, že teplo není usměrněno do určitého místa, nýbrž je zahřívána celá deska, na které potkan stojí. Termickou (chladovou) stimulaci můžeme nejjednodušeji měřit pomocí imerzních testů (Vaculín, 2012), kdy je ocas, či končetina ponořena do ledové (teplé) tekutiny. Popřípadě lze chladovou stimulaci měřit u acetonového testu (Choi, 1994), spočívajícího v kápnutí kapky acetonu na plantární plochu končetiny – aceton se velmi rychle odpařuje a přitom končetinu ochladí.

**Mechanická akutní bolest**, resp. práh pro mechanickou stimulaci je nejčastěji měřen pomocí von Freyových vláken (Vaculín, 2012). Jde o sadu nylonových vláken různého průměru, jimiž se tlačí na libovolné místo na kůži a sleduje se přítomnost únikového reflexu. Jinou metodou je tlakový Randall-Selitto test (Randall, 1957), při němž je stimulace prováděna působením plastového hrotu na končetinu zvířete. Hrot je spojen s lištou s posuvným závažím, jehož posouváním se stimulační tlak zvyšuje nebo snižuje.

**Akutní chemická iritační bolest** se navozuje formalinovým testem (Dubuisson, 1977). Bolest je při tomto testu vyvolána subkutánní injekcí formalinu na plantární plochu zadní končetiny. Okamžitě po injekci se rozvíjí akutní chemická iritační bolest, která přetrvává asi 5 minut, po nich dochází ke klidovému období, v němž se žádné projevy bolesti neobjevují, avšak přibližně po 15 minutách po injekci nastupuje 2. fáze formalinového testu – akutní zánětlivá bolest. Za 1-3 hodiny účinky formalinu kompletně odezní.

**Akutní viscerální bolest** lze sledovat u writhing testu, kdy je pokusnému objektu intraperitoneálně injikována 0,6% kyselina octová, která zpříčiňuje silnou kontrakci břišních svalů, případně převalování z boku na bok. Jiným způsobem vyvolání viscerální bolesti, který více odpovídá skutečnosti, jsou distenzní modely, které spočívají v inzerci gumového balónku do některé z tělních dutin (vagína, děloha, GIT) a jeho následné nafouknutí. Na rozdíl od prvního způsobu, lze v tomto případě bolest velice dobře modulovat (lokalizace, intenzita) a hlavně bolest okamžitě po vyfouknutí balónku odeznívá (Vaculín, 2012).

**Chronická zánětlivá bolest** může být vyvolána podáním kompletního Freundova adjuvans (usmrčené a vysušené bakterie *Mycobacterium tuberculosis* v olejové suspenzi). Podle místa, do kterého je CFA vpraveno se pak rozvíjí zánět různé velikosti a průběhu (Vaculín, 2012). Jiným modelem **chronické viscerální bolesti** je např. ureterální kalkulóza (kameny v močovodu), která se dá uměle navodit tak, že aplikujeme do horní třetiny močovodu malé množství zubního cementu, který po ztvrdnutí vytváří překážku podobnou močovému kameni (Giamberardino, 1995).

### **3.2 Modely neuropatické bolesti**

Experimentální modely neuropatických bolestí můžeme rozdělit podle místa manipulace s nervovým systémem na centrální a periferní, a podle způsobu vyvolání léze na chirurgická poranění nervu podvazem nebo přetětím (v obou případech je místem zákroku např. sedací nerv), diabetickou neuropatii (vyvolává se destrukcí ostrůvků pankreatu pomocí streptozocinu), neuropatii vyvolanou chemoterapeutiky a ischemicky nebo zánětem vyvolanou neuropatii (Vaculín, 2012).

## **4 Projevy bolesti**

### **4.1 Bolest a stres**

Před uvedením jednotlivých projevů bolesti je důležité se zmínit o problematice rozlišování mezi projevy bolesti a stresu. Je velmi náročné rozlišit podle daného abnormálního chování, zdali zvíře prožívá bolest či stres. Je to jednak proto, že projevy bolesti a stresu jsou často velmi podobné až stejné, a hlavně proto, že stres je nedílnou součástí každého prožívání bolesti. Naučit se rozlišovat mezi těmito dvěma stranami si žádá velké množství zkušeností v práci s potkany a znalost jejich individuální povahy, avšak ani zkušený pozorovatel nemůže vždy rozpoznat rozdíl (National Research Council, 1992). Z tohoto důvodu je v této práci stres pojímán jako součást projevu bolesti. A navíc, z etického hlediska a v souladu se zákonem by mělo být v zájmu každého pracovníka se zvířaty, aby se zvíře vyhnulo nejen bolesti, ale i stresu.

### **4.2 Práh bolesti**

Bolest se u vyšších živočichů projevuje na několika úrovních. Při bolestivém podnětu se nejprve dostavuje reflexivní odpověď jakožto úniková reakce, poté, pokud bolest přetrvává, dochází k vokalizaci a nakonec se projeví komplexní a velice organizované typy chování

(útěk, agrese, rezignace) (Le Bars, 2001). Ona reflexivní odpověď (např. ucuknutí končetiny či ocasu, na který působí bolestivý podnět) se dostavuje při přesáhnutí prahu bolesti. Práh bolesti je moment, kdy začíná jedinec určitý podnět vnímat jako bolestivý (Stocking, 2004). Willer (1977) ve své práci poukázal na existenci dvou složek reflexu. První se dostavuje reflex  $R_{II}$ , který je vyvolán stimulací mechanoreceptorů a hraje zásadní roli v procesu ucuknutí stimulované části těla. Po  $R_{II}$  následuje reflex  $R_{III}$ , který má delší latenci a vyšší práh. Práh reflexu  $R_{III}$  je pak stejný jako práh bolesti.

Jinak řečeno, po bolestivém podnětu nejprve dochází k reflexivní odpovědi (ucuknutí) a teprve posléze k uvědomění si bolesti, která může a nemusí nastávat a přetrvávat. Teprve v případě že bolest přetrvává, dochází k jejím dalším příznakům (např. olizování končetiny, držení končetiny ve vzduchu, útěk, agrese apod.)

### **4.3 Zprostředkování reakce v rámci CNS**

Jak bylo naznačeno výše, existují dva hlavní typy reakcí na bolestivý podnět. První typ je zprostředkován centry, které jsou relativně „nízko“ v rámci hierarchie centrálního nervového systému (CNS) a druhý typ, více komplexních reakcí je organizován vyššími centry CNS. První typ může být vyvolán i u decerebrovaných zvířat a byl také nazván Sherringtonem (1906) jako „pseudaafektivní reflex“. Zahrnuje základní motorickou odpověď (ucuknutí, vyskočení, kontrakce ad.), neurovegetativní reakce vedoucí k zvýšení sympatického tonu (tachykardie, arteriální hypertenze, zrychlené dýchání, rozšíření zorniček) a vokalizaci. K druhému typu patří podmíněné motorické reakce. Nejčastěji jsou pozorovány behaviorální reakce (útěk, nedůvěra k předmětům zodpovědných za bolestivý podnět, vyhýbavost, agrese ad.) nebo změny v chování (sociální, alimentární, sexuální, cirkadiální).

Je však třeba poznamenat, že přestože aktivní motorické reakce jsou časté, stejně často se vyskytují i pasivní reakce, jako nehybnost, která umožňuje zvířeti zachovat bezbolestné držení těla (Whishaw, 2005).

### **4.4 Typy bolestivých stimulů**

Jednotlivé typy podnětů, s kterými se mohou zvířata potkat v laboratoři i přirozeném prostředí, můžeme dělit podle více kritérií – jejich povahy (modalita), délky trvání či lokalizace.

Povaha podnětu může být elektrická, mechanická, termální či chemická. Každý z těchto druhů má svoje specifika od doby přetrvávání přes invazivnost až po mechanismy, které vedou k transdukcii podnětu na nervový vzruch. Proto také každý z těchto podnětů může vyvolat

jinou behaviorální odezvu, stejně tak, jako např. různou reakci vyvolá totožný podnět, který se aplikuje do dvou různých míst na těle organismu (Le Bars, 2001). A dokonce i shodný podnět lokalizovaný do stejného místa může vyvolat u různých jedinců (či téhož jedince v různém čase) odlišné odpovědi. Důvodem může být například to, že každý jedinec je jinak citlivý či různě adaptovaný po předchozích podnětech (Shir, 2001).

Délka trvání podnětu je také zásadním faktorem, který určuje, jaké reakce budou u sledovaného zvířete probíhat. Některé reakce se mohou vyskytnout po krátkodobé bolestivé stimulaci, jiné při dlouhodobé bolesti a mnohé se vyskytnou v obou případech. Např. jednorázový tlakový podnět na končetinu potkana povede k ucuknutí, vokalizaci či útěku, ale je jen málo pravděpodobné, že potkan přestane žrát, či se začne chovat asociálně, vůči svým druhům, což jsou situace typické spíše pro dlouhotrvající bolest (Le Bars, 2001).

Z uvedeného plyne, že je velmi náročné, až nemožné, uvádět specifické reakce na konkrétní podněty, protože existuje velké množství faktorů, které se spolupodílí na výsledném projevu. Následující výčet reakcí je tedy nutno brát jako seznam možných odpovědí na bolestivý podnět, které se mohou v různých kombinacích společně vyskytovat po vystavení potkana různým podnětům.

#### **4.5 Behaviorální projevy bolesti**

Bolest u potkanů se může projevovat na více úrovních - biochemické (vyplavování chemických látek či hormonů, oxidační stres), fyziologické (zrychlený tep, zvýšený tlak, pocení), elektrofyziologické (akční potenciál, odpor) nebo třeba behaviorální. Tato práce je zaměřena právě na ty posledně jmenované. Behaviorální projevy mají pro praxi výhodu v tom, že jejich sledování je poměrně jednoduché a často ani není potřeba speciálních nástrojů či technik k jejich rozpoznání a vyhodnocování.

Co si vlastně představit pod pojmem behaviorální? Příkladné jméno behaviorální je odvozené od anglického behavior – chování, které můžeme obecně definovat jako akci či reakci člověka nebo zvířete na vnější či vnitřní podnět. (The American Heritage dictionary of the English language, 2011) V užším slova smyslu můžeme mluvit o chování jakožto o souboru vnějších (pozorovatelných) projevů člověka a živočichů, které zahrnují např. postoj, pohyby, gesta nebo i další projevy či jejich celek.

### 4.5.1 Úniková reakce a jevy s ní související

Úniková reakce je reflexivní odpověď, která chrání organismus před potencionálním poškozením, při pocítění bolestivého podnětu. Je typická při krátkodobé bolestivé stimulaci a nastává v okamžiku překročení prahu bolesti.

Úniková reakce byla sledována při mechanické (Randall, 1957), termické (Roberts, 1974), elektrické (Borszcz, 1995b) i chemické stimulaci (Wheeler-Aceto, 1991).

Mezi únikové reakce patří především **ucuknutí** tou částí těla, na kterou působí bolestivý podnět (noha, ocas), případně **vyskočení** či **třepání** s danou končetinou a snaha dostat se z nebezpečného místa či rukou experimentátora (Randall, 1957). Současně s únikovými reakcemi se může objevovat **vokalizace** (Whishaw, 2005). Po únikové reakci často následuje **olizování** (Roberts, 1974).

Olizování může mít charakter **systematického čištění**, jak ho popsal Roberts (1974) při hot plate testu, kdy zvíře stojí na kovové desce, která je postupně zahřívána. Potkan obvykle začal s lízáním předních končetin, kterými následně několikrát přešel přes obličej a čenich - grooming. Většina z kratších záchvatů čištění se skládala jen z těchto dvou prvků, ale při delších záchvatech čištění se objevilo i lízání podbříšku, boků, zadních nohou a zřídka i ocásku.

Zajímavý poznatek udělal také Borszcz, který popsal projevy bolesti po elektrické stimulaci ocasu (Borszcz, 1995b). Dochází opět k ucuknutí ocasu a dvěma vokalizacím – první probíhá současně s podnětem a druhá následuje po něm. Tyto odpovědi jsou organizovány hierarchicky podle toho, jaká část nervové soustavy se na nich podílí – mícha (ucuknutí), mozkový kmen (první vokalizace), thalamus (druhá vokalizace).

### 4.5.2 Postoj, vzhled a pohyby těla

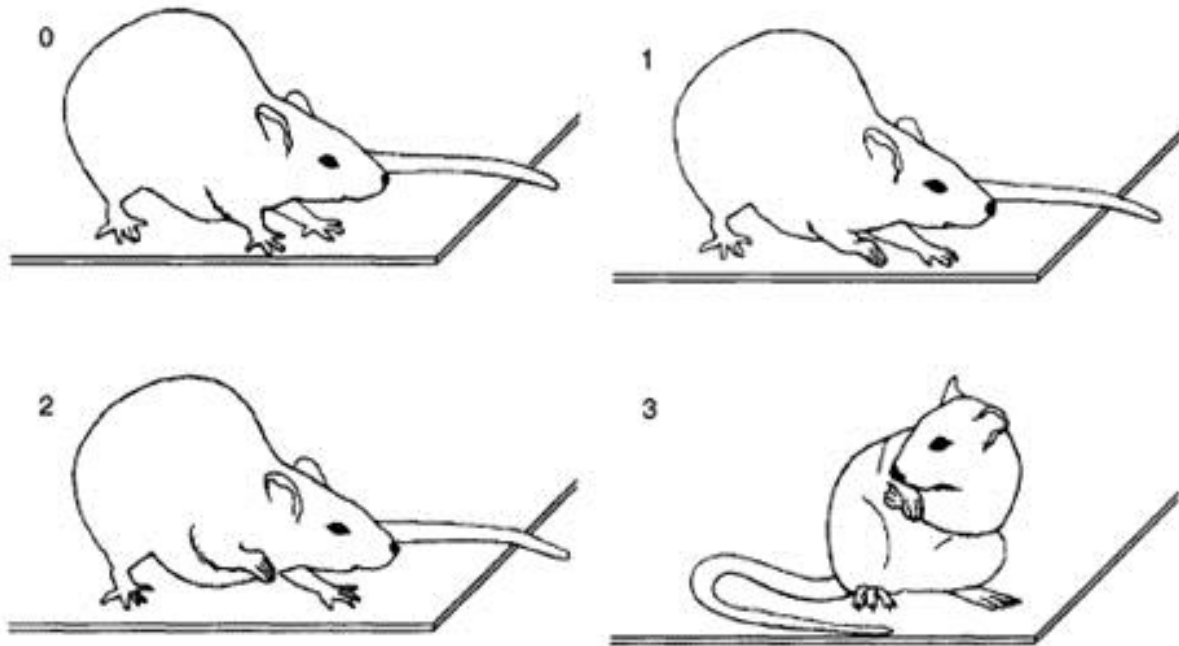
Sledování postoje a pohybů zvířete, držení těla i vzhledu jeho končetin je dalším z vodítek, jak rozeznat u potkanů bolest. V tomto případě se jedná převážně o dlouhodobou bolest.

Dubuisson (1977) popsal čtyřstupňovou škálu **postoje** potkana při formalinovém testu.

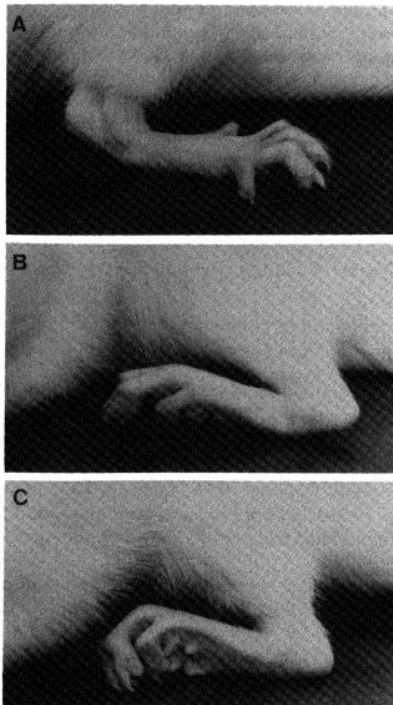
Formalinový test je modelem akutní chemické iritační a zánětlivé bolesti, při němž se subkutánně vpíchne malé množství formalinu do končetiny (Franěk, 2006). Formalin vyvolá bolest, která může být měřena na čtyřstupňové škále, podle polohy postižené končetiny vůči tělu a podložce (viz obrázek 1):

- 0 – znázorňuje normální postoj
- 1 – tlapka spočívá na zemi, avšak nenese zvíře (je odlehčena)
- 2 – tlapka je zvednutá

- 3 – tlapka je zvednutá, potkan ji olizuje, okusuje, příp. s ní třepe (Dubuisson, 1977)



Obrázek 1: Postoj potkana při formalinovém testu (Dubuisson, 1977)



Obrázek 2: Různé polohy končetiny při neuropatické bolesti vyvolané podvázáním 5. a 6. míšního nervu (Na, 1996).

Tento test však nebyl jediný, u kterého se zaznamenávaly abnormality v **držení končetiny**. Např. u potkanů, kterým byla chirurgicky navozena neuropatická bolest (podvázáním 5. a 6. míšního nervu), byly pozorovány 4 různé polohy končetin, podle intenzity bolesti (viz obr. 2):

- A – znázorňuje normální pozici nohy s rozevřenými prsty
- B – prsty jsou ve ventroflexi (sevržené)
- C – tlapka je vytočená tak, že se pouze vnitřní strana tlapky dotýká podložky
- D – tlapka je držena ve zvednuté poloze, olizována a potkan s ní třese (není na obrázku) (Na, 1996).

Roughan a Flecknell provedli mnoho pokusů, kdy pomocí kamery a sofistikovaného softwaru vyhodnotili tělesné projevy potkanů, kterým byla provedena laparotomie.

V postoperačním stádiu zaznamenávali četnost výskytu více než 40 druhů pohybových aktivit a po statistickém vyhodnocení určili, které z nich jsou nejsignifikantněji spojeny s bolestí. Patří mezi ně zvýšení četnosti **svalového spasmu** (vůlí neovlivnitelná svalová kontrakce) v oblasti chirurgického zákroku, **vyklenutí zad** (kočičí hřbet), **vrávoravé pohyby** vyskytující se např. při přechodu z pozice na dvou nohách („sezení“, „panáčkování“, angl. rearing) do skrčené pozice či při započetí groomingu. V neposlední řadě bylo pozorováno **svíjení** a také **olizování** břicha a rány na úkor olizování pacek a s ním často spojeného čištění obličeje (Roughan, 2001).

Po vyvolání zánětu v tlapce potkana bylo také pozorováno její olizování, **škrábání** a **kousání** (De Castro-Costa, 1987). U potkanů, kterým byly mechanicky poškozeny meziobratlové ploténky, byla sledována zvýšená míra čištění hlavy i těla a tzv. „**wet-dog shaking**“ neboli oklepávání celého těla (Olmarker, 2008; Nilsson, 2011).

#### 4.5.3 Síla došlapu

Dále se dá u potkanů měřit **síla došlapu** určité končetiny na podložku, jakožto ukazatel míry bolesti v končetině. K tomuto účelu byl vyvinut speciální nástroj – Stepping Force Analgesic Meter, který se skládá z tunelu vybaveného tlakovými sensory. Zvíře se vloží na začátek tunelu a zaznamenává se tlak při došlápnutích v průběhu průchodu tunelem. Jednotlivé končetiny se pak rozeznávají za pomoci videokamery, která je součástí přístroje (Yam, 2011). Normální váha přenášená na nohy je větší pro zadní končetiny asi o 12%. V pokusu byla potkanům podána subkutánní injekce kompletního Freundova adjuvans do pravé zadní nohy, čímž byla experimentálně navozena artritida. Po měření bylo zjevné, že váha přenášená na tuto nohu byla menší až o polovinu. Výhodou této metody je i určitá možnost kvantifikace výsledků (Yam, 2012).

#### 4.5.4 Vokalizace

Potkani se zvukově projevují v nejrůznějších situacích zahrnujících mj. sociální chování, sexuální chování, stresové a úzkostné podmínky i bolest. Hlasové ústrojí potkanů je velmi malé, proto produkují zvuky převážně na ultrazvukové frekvenci, v rozmezí od 20 do 70 kHz, která je nad hranicí lidské slyšitelnosti (Whishaw, 2005).

U potkanů byly popsány tři základní typy vokalizace.

- 40 kHz vokalizace, která byla popsána u malých potkanů, kteří byli izolováni od matky či svého hnízda a která zpravidla trvá 80-140 ms.



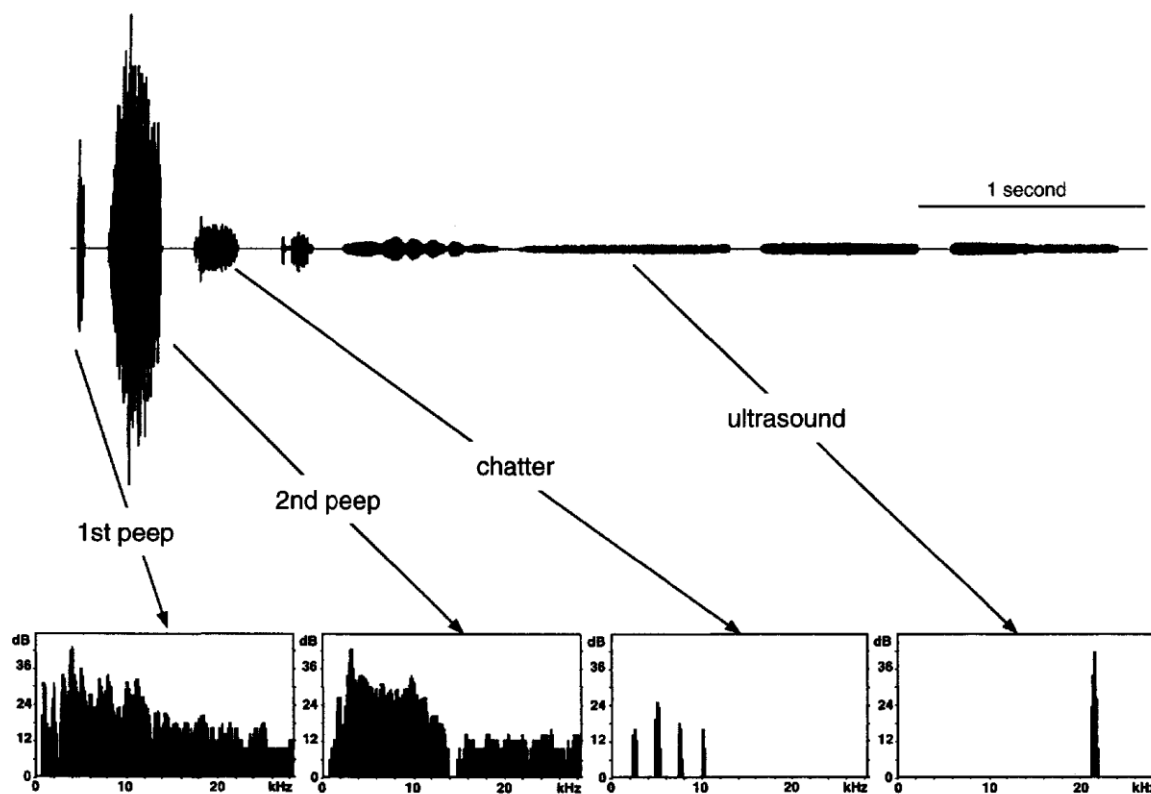
- 22 kHz vokalizace vyskytující se u mladých i dospělých potkanů asociovaná s různými situacemi, zahrnujícími sexuální chování, ejakulaci, agresi, vystavení nebezpečí, obranné či submisivní projevy při vnitropohlavním bojování či bolest. Délka trvání 22kHz vokalizace se zpravidla pohybuje mezi 0,3 – 3 s.
- 50 kHz vokalizace je také emitována mladými a dospělými potkany a trvá mezi 20-80 ms. Nejčastěji je spojena se vzrušením, kopulací, hrou a explorativním či sociálním chováním (Knutson, 2002; Portfors, 2007).

Z uvedeného plyne, že pro měření bolesti je významná hlavně poměrně dlouhá **22 kHz vokalizace**, která je v mnoha výzkumech zabývajících se výhradně bolestí často rozšířena na 22-28 kHz (Jourdan, 2002; Calvino, 1996, Naito, 2008).

Jourdan (1995) popsal komplex vokálních vzorců, které potkani vydávají po krátké bolestivé stimulaci elektrickým proudem. Ve své studii identifikoval tři typy zvuků, které jsou přehledně znázorněny na obrázku č. 3.

1. Dvě odlišná „pípnutí“, jejichž frekvence se pohybovala v širokém rozmezí člověku slyšitelných zvuků. První pípnutí bylo výsledkem aktivace relativně rychle vedoucích A $\delta$  vláken, zatímco druhé následovalo po aktivaci pomalu vedoucích C vláken.
2. „Chatters“ jsou charakteristické harmonickými formanty (lokální maxima, ostré špičky), které představují velmi specifickou odpověď, která je svým charakterem podobná lidským slovům.
3. Ultrazvukové projevy charakteristické řadou mírně modulovaných pulsů s frekvencemi v rozmezí 20-35 kHz, tudíž lidskému uchu neslyšitelné.

Pípání ani chatters nebyly nikdy zaznamenány před aplikací bolestivého stimulu. V těchto vokalizačních vzorcích byly nalezeny určité odlišnosti, avšak po bolestivém podnětu všechna zvířata vydala první pípnutí, které bylo v 61% následované druhým pípnutím (Jourdan, 1995). Zajímavé je, že chatters mohou být vyvolány v souladu s Pavlovovým podmiňováním – Borszcz naučil potkany, že bolest následuje po světelném podnětu a potkani následně vokalizovali již při samotné prezentaci světelného podnětu. Mimo jiné ve své práci ukázal, že amplituda, trvání a počet vokalizačních odpovědí byla přímo úměrná intenzitě bolestivého stimulu (Borszcz, 1995a). Zatímco pípání a chatters mají souvislost převážně s pocitem bolesti, ultrazvukové projevy mohou být sledovány i v jiných souvislostech (viz výše) (Whishaw, 2005).



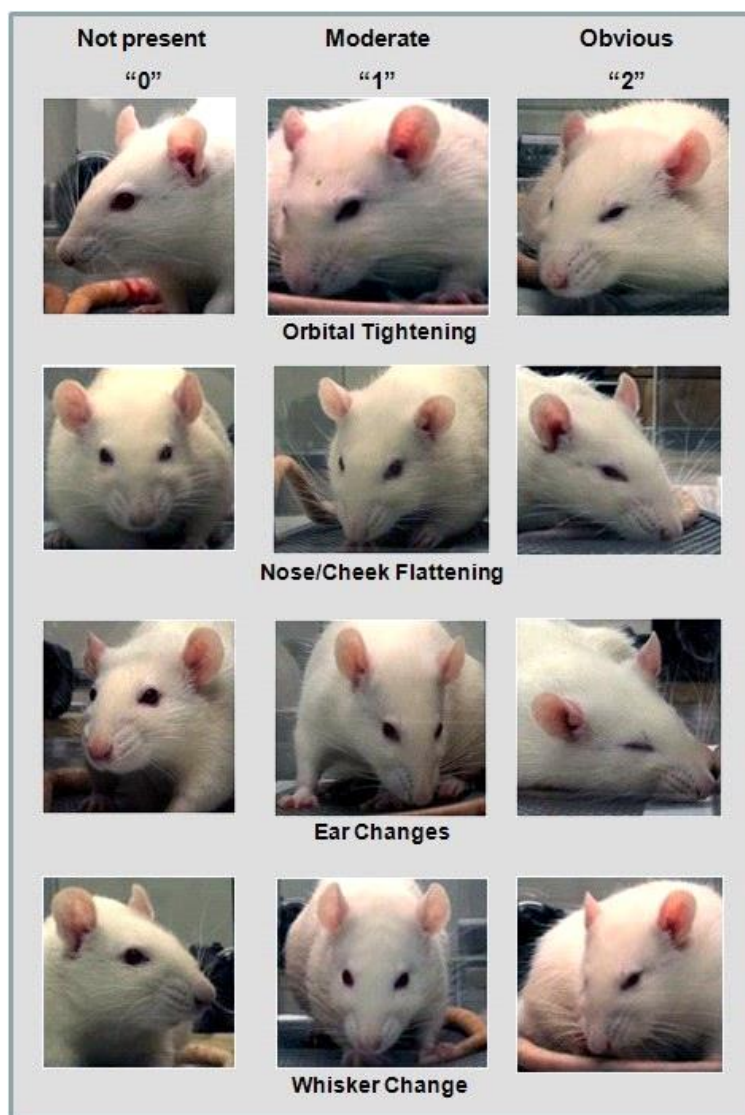
**Obrázek 3: Tři typy zvuků, které potkani vydávají po krátké bolestivé stimulaci elektrickým proudem (Jourdan, 1995).**

Navzdory uvedeným informacím nutno podotknout, že ve vokalizačních projevech spojených s bolestí není zatím tak úplně jasno. O vokalizaci spojené s akutní bolestí se již nepolemizuje, protože byla podložena mnoha výsledky (Tonoue, 1986; Van der Poel, 1989; Jourdan, 1995; Dinh, 1999), avšak u chronické bolesti jsou výsledky sporné. V několika studiích, bylo měřeno množství vokalizací u potkanů, kterým byla vyvolána artritida jako model chronické bolesti. Pokud byli tito potkani v kleci sami, nedocházelo k ultrazvukovým vokalizacím, avšak ve chvíli, kdy se těmto potkanům do klece přidal další (zdravý) jedinec, byli zvukové emise až 10x vyšší. Podobně potkan začal vokalizovat, když se k němu přiblížila např. ruka experimentátora. Z těchto pokusů tedy usoudili, že vokalizace (22-28 kHz) je jakýsi varovný signál, který potkani vydávají, hrozí-li potenciální fyzický kontakt (s experimentátorem či jiným jedincem) (Calvino, 1996; Naito, 2006; Naito, 2008). Oproti tomu Jourdan (2002) provedl obdobné pokusy, kdy potkanům navodil chronickou bolest dokonce třemi různými způsoby (karagenanem vyvolaný zánět, CFA vyvolaný zánět a streptozotocinem vyvolaná neuropatická bolest) a zkoumal, zdali bude vokalizace vyšší u potkanů chovaných samostatně nebo v sociální interakci. Ve svém jeho výzkumu však neprokázal ani v jednom případě vyšší vokalizaci (Jourdan, 2002). Tyto rozporné výsledky se doposud nepodařilo objasnit.

#### 4.5.5 Změny v obličejí

Již Darwin přišel s myšlenkou, že i zvířata vyjadřují své emocionální stavy v člověku podobných obličejových výrazech (Lorenz, 1965). Studium obličejových výrazů potkanů prožívajících bolest se však začalo zabývat teprve nedávno. Sotocinal a její kolegové (2011) vytvořili pomocí počítačového softwaru, který automaticky rozeznává a zaznamenává tvář potkana, škálu výrazů potkanů – Rat Grimace Scale, kterou lze využít nejen k určení, ale i kvantifikaci bolesti. Potkanům byla navozena bolest buď za použití kompletního Freundova adjuvans podaného intraplantárně, kaolinu/karagenanu podaného intrartikulárně, nebo laparotomií. Po vyvolání bolesti byly pořízeny série snímků, po jejichž zhodnocení byly definovány 4 základní obličejové rysy poukazující na bolest (viz obr. 4), mezi které patří:

- **Zúžení očních.** Potkani v bolesti mají sevřené očníce, projevující se jako částečně či úplně zavřené oči. Oproti spící myši můžeme rozlišit pevně sevřené orbitální svaly.
- **Narovnání nosu/tváří.** Vnímání bolesti se u potkanů projevuje zploštěním nosu. Za normálních okolností je nos potkana lehce vyboulen, bolest vede k jeho zploštění. Dále ploška, z které vybíhají vousky, se při bolesti jeví zaobleně a mírně nafoukle. Narovnání nosu pak vede ke ztrátě viditelnosti rýhy, která je mezi tvářemi a těmito vouskovými polštářky. Z frontálního pohledu se nos jeví užší a delší.
- **Změny v pozici, orientaci a tvaru uší.** Základní pozice uší potkana je téměř kolmá k hlavě, natočena dopředu a mají oblý tvar. Původně kolmo postavené uši se při bolesti ohýbají dopředu (úhel mezi hlavou a uchem se zmenšuje). Navíc dochází ke kroucení ucha na bázi – mediální část boltce se stáčí směrem dovnitř ucha. Prostor mezi ušima se může zdát širší v porovnání s původním stavem.
- **Změny u vousků.** Při bolesti lze také pozorovat změnu pozice a orientace vousků. Za normálního stavu jsou vousky uvolněné a svěšené mírně dolů. S rostoucí bolestí dochází k napětí v místě ukotvení vousků, čímž dochází k jejich orientaci šikmo dozadu podél hlavy. Vousky jsou pak blíže sobě a jeví se méně zřetelně (Sotocinal, 2011).



Obrázek 4: Rat Grimace Scale (Sotocinal, 2011)

U potkanů lze také v mnohých případech spojených s bolestí sledovat **chromodacryorrhoeu**, někdy též nazývanou „červené slzy“. Jedná se o vylučování červeného barviva porphyrinu z Harderianových žláz za očnicemi, které se projevuje červeným zbarvením okolí očnic. Barvivo se pak často dostává i do oblastí čenichu a předních tlap vlivem neustálého tření a groomingu hlavy. Tento jev byl pozorován např. při zánětu čelistního kloubu (Harper, 2001), při expozici potkanů elektrickému proudu (Rommereim, 1990) či intestinální resekci (Gillingham, 2001) a při stresu.

#### 4.5.6 Konzumace jídla a vody, tělesná váha

**Konzumace jídla a vody** a s ním spojená změna tělesné hmotnosti je dobrým indikátorem bolesti nejen u hlodavců. Ke snížení konzumace a snížení tělesné váhy dochází při dlouhodobé bolesti (Flecknell, 1991).

Snížení příjmu potravy a tekutin bylo sledováno v mnoha různých případech, nejčastěji bylo popsáno po laparotomii (Liles, 1993b; Shavit, 2005; Cooper, 2005), dále pak i v případech podvázání žlučovodu (Liles, 1993a), jednostranné nefrektomie a kanylace v. jugularis (Flecknell, 1991) či po navození zánětu v končetině (Stein, 1988). Ve všech případech pocíťoval potkan dlouhodobou bolest.

Pokles množství spotřebované potravy a vody je závislý na závažnosti zákroku a s ním spojené velikosti bolesti (Liles, 1993b). Ve výše zmíněných zákrocích poklesl příjem potravy o 24-87% a příjem vody o 20-59%, což jsou poměrně velká čísla na to, aby se dal rozlišit stav normální a stav bolestivý. Ztráta váhy pak byla závislá na délce trvání sníženého příjmu tekutin a potravy.

#### 4.5.7 Aktivita, lokomoce

Velice častým způsobem jak zjistit, zdali potkan prožívá bolest je sledování komplexních vzorců aktivního a pasivního chování. K tomuto účelu bylo vytvořeno mnoho užitečných automatických zařízení a vyhodnocovacích nástrojů, které jsou schopny poměrně přesně vyhodnotit, jakou aktivitu právě potkan provádí. Nejčastěji se jedná o skleněnou či plexisklovou klec vybavenou systémem kamer. Počítač pak sám vyhodnocuje, kolik času potkan strávil horizontální aktivitou (běhání), vertikální aktivitou (sezení na zadních tlapkách, lezení po stěnách, skákání), čištěním či v nepohyblivém stavu.

Obecně lze říci, že bolest vede k **poklesu aktivního chování** (vertikálního i horizontálního), takže potkani prožívající bolest činí méně pohybových aktivit, více odpočívají a spí. Tak to bylo sledováno mj. v četných pokusech s laparotomií (Roughan, 2000; Liles, 1993a), u zánětu v kolenním kloubu (Matson, 2007; Nagase, 2012), zánětu chodidla (Philippe, 1997), pankreatitidy (Zhang, 2004) či po mechanickém poškození meziobratlových plotének (Olmaker, 2008).

V předchozích i jiných studiích je také často sledován pokles čistících aktivit („grooming“), někdy až do takové míry, že potkan je **viditelně zanedbaný**. Tyto celotělové čistící aktivity však nelze zaměňovat s olizováním rány či bolestivého místa, jak bylo popsáno výše.

### 4.5.8 Úzkostnost

Nejen u potkanů, ale i u většiny dalších vyšších živočichů vyvolává bolest jistou míru **úzkosti**. Tato úzkost se může, podobně jako bolest, projevovat fyziologicky (zvýšení krevního tlaku, pulsů, pocení), což lze poměrně snadno měřit, avšak dnes jsme schopni sledovat i behaviorální projevy úzkosti. K tomuto účelu slouží několik zajímavých testů. Jedná se především o tzv. elevated plus maze (EPM) a open field test (OFT). Tyto testy v podstatě měří, v jaké míře projevuje potkan, či jiné zvíře, průzkumné (nebojácné) chování, které se tedy v tomto případě považuje za protiklad úzkostného chování.

Elevated plus maze je vlastně jakési vyvýšené bludiště ve tvaru kříže s dvěma otevřenými a dvěma krytými rameny. Potkan je do tohoto bludiště vložen a po určitou dobu je sledována jeho aktivita a měřen čas, který stráví v krytých a otevřených ramenech, případně počet vstupů do otevřených ramen. Pokles času stráveného v otevřených ramenech nebo pokles počtu vstupů do otevřených ramen pak indikuje úzkost (Pellow, 1985). Tímto způsobem byla úzkost sledována např. u laboratorně vyvolané bolesti prostřednictvím podvázání sedacího nervu (Roeska, 2009a; Roeska, 2009b; Low, 2012) či chronického plantárního zánětu vyvolaného pomocí CFA (Parent, 2012). Po všech těchto zákrocích klesl čas strávený v otevřených ramenech o více než 50%.

Open field test byl vyvinut před více než 50 lety za účelem měření psychologických fenoménů u zvířat (Walsh, 1976). V průběhu času se však značně vyvinul a zautomatizoval. Dnes se jedná nejčastěji o plexisklovou klec se čtvercovou či kruhovou podstavou s vyznačenou středovou částí, která je vybavená systémem kamer, které zaznamenávají, kolik času potkan tráví ve středové části, kolik času u stěn a kolikrát vstoupí do středové oblasti. Pokles vstupů a celkového času stráveného v centrální oblasti indikuje úzkostnost (Pruet, 2003). Tímto způsobem byla např. zjištěna úzkostnost při bolesti vyvolané ligací L5 nervu (Kontinen, 1999) či po vyvolání plantárního zánětu pomocí CFA (Parent, 2012). V OFT se mimo jiné může, společně s měřením preference středových či okrajových partií klece a pohyblivosti, měřit i **defekace a urinace**, jejichž zvýšení bylo též popsáno v souvislosti s úzkostí a bolestí (Hall, 1934; Kontinen, 1999).

### 4.5.9 Kognitivní funkce

To, že bolest vede ke kvalitativním změnám v kognitivních funkcích u člověka, nikoho nepřekvapí, o tomto tématu byl napsán nespočet studií. U potkanů však toto téma není natolik prozkoumané. Přesto však nalezneme několik, poměrně recentních, výzkumů, které přichází s výsledky prokazujícími tento fenomén i u potkanů (Moriarty, 2011).

Cain et al. (1997) a Lindner et al. (1999) ve svých studiích zjistili, že zánětlivá bolest vyvolaná pomocí CFA vedla k poklesu výkonosti při operantním podmiňování potkanů. Potkani se měli naučit mačkat páčky, jejichž zmáčknutí vedlo k vysypání malého množství potravy - odměny. Tento test především závisí na procesu **učení, paměti a pozornosti**. Pokles výkonosti u zkoumaných potkanů tedy poukazuje na deficit v určitých těchto složkách (Cain, 1997; Lindner, 1999).

Obdobně byl pokles **pozornosti** vyhodnocen v testu 5-CSRTT (5-choice serial reaction time task). Potkani jsou při tomto testu v pokusné kleci, kde je 5 světel. Jedno ze světel se náhodně rozsvítí a dotkne-li se ho potkan čumákem, dostane malou dávku potravy. Měří se pak počet správných a špatných reakcí. V tomto testu dosáhli nízkého skóre jedinci, kterým byla navozena zánětlivá bolest pomocí formalínu (Boyette-Davis, 2008) a CFA (Pais-Vieira, 2009a). Je však důležité mít na paměti, že bolest vede i k snížení potřeby jezení, což může mít značný vliv na výsledek obou předchozích testů. Jsou však i jiné testy, které měří pozornost a nejsou závislé na podávání potravy.

Millecamps et al. (2004) prokázal pokles **pozornosti** vůči novým objektům u potkanů, jimž byla navozena kolitida pomocí 2,4,6-trinitrobenzenu. Kontrolní skupina potkanů strávila signifikantně delší čas zkoumáním nového předmětu, který byl vložen do pokusné klece, než potkani prožívající bolest (Millecamps, 2004). Podobných výsledků bylo dosaženo i u potkanů, jimž byla vyvolána bolest pomocí formalínu (Ford, 2008).

Další výzkum byl inspirován poměrně známým testem, který u lidí měří „gamblerské sklony“, a který nese název Iowa gambling task. Vědci v souvislosti s tímto testem pro lidi vytvořili jeho metodu pro hlodavce, tzv. Rat gambling task, která také měří „gamblerské sklony“ resp. míru riskování, kterou potkan podstoupí resp. tzv. **emocionální rozhodování**. Test spočívá v tom, že potkan má na výběr mezi dvěma páčkami. Zmáčkne-li první, dostane potravu (sladkou granuli) a to s 90% pravděpodobnosti (malé riziko). Zmáčkne-li druhou páčku, dostane sice trojnásobné množství odměny (3 granule), ale pouze s 30% pravděpodobností (velké riziko) (Zeeb, 2009). U potkanů se zánětlivou bolestí pak byla sledována preference „většího rizika“, zatímco kontrolní skupina preferovala „nižší riziko“ (Ji, 2010; Pais-Vieira, 2009b). Tyto výsledky poukazují na to, že bolest ovlivňuje mechanismy rozhodování na nervové úrovni u hlodavců (Pais-Vieira, 2009b). Za zmínku stojí fakt, že podobné výsledky byly změřeny i u lidí, prožívajících chronickou bolest, pomocí Iowa gambling task (Verdejo-García, 2009; Apkarian, 2004).

Dalším kognitivním fenoménem, který byl sledován u potkanů, bylo **prostorové učení a prostorová paměť**. K měření této schopnosti se využívá tzv. Morris water maze. Jedná se o

bazének s vysokými stěnami naplněný vodou, do kterého se potkan vloží, a v kterém se na jednom místě těsně pod hladinou vody nachází stupínek, který potkan nevidí a na kterém může bezpečně stát, aby se vyhnul plavání. Kontrolním skupinám potkanů stačí několik pokusů k tomu, aby si bezpečně zapamatovali, kde stupínek je a při následovném pokusu bez otálení zamířili přímo k němu. Na rozdíl od nich, potkani, kterým byla vyvolána bolest přetětím spinálních nervů v lumbální oblasti, trvalo nalezení ostrůvku signifikantně delší dobu i po několikátém opakování (Hu, 2010; Leite-Almeida, 2009).

#### 4.5.10 Další projevy

První jednoduché testy **sociální interakce** jsou již více jak 30 let staré a za dobu své existence poskytly mnoho užitečných informací na poli psychologie, etologie, farmakologie a v mnoha dalších oborech. Byly využity u četných druhů živočichů a to především pro výzkum anxiogenity různých léčiv a jiných látek (File, 2003). Je proto s podivem, jak malé množství výzkumů se zabývalo změnami v sociální interakci v souvislosti s bolestí u potkanů. Přece jen však některé existují a poukazují na to, že u potkana prožívajícího bolest je aktivní interakce (tj. očichávání se, čištění se, hra, vzájemné stíhání se či honění se) s jinými jedinci značně potlačena. Tomu např. nasvědčuje výzkum, v němž byla potkanům vyvolána zánětlivá bolest pomocí CFA (Parent, 2012).

Bolest vyvolává také **agresivitu** a to nejen agresivitu vůči případnému chovateli či experimentátorovi, ale i mezi jedinci navzájem. Bolestí vyvolanou agresivitu je nutno chápat jako defenzivní, obrannou činnost (Olivier, 2002). Tedy ji můžeme chápat jako jakousi **ostrážitost**. Proto se občas spekuluje, že nelze tvrdit, že bolest vyvolává agresi, nýbrž že vyvolává obranné chování, které se projevuje agresí (Blanchard, 1978). Toto obranné chování bylo sledováno především u modelů krátkodobé bolesti (nejčastěji elektrické šoky do ocasu či tlapek) (Hutchinson, 1965; Hingtgen, 1969; Blanchard, 1978), ale i u modelů dlouhodobé bolesti (Nieminen, 1975). V souvislosti s agresivitou bylo také dokázáno, že na vyšší míru agresivity má přímý vliv vyšší věk, vyšší množství androgenů a vyšší míra sociální interakce (Hutchinson, 1965).

Dalším projevem může být také **automutilace** neboli sebepoškozování. Ta se projevuje lízáním, kousáním, škrábáním, klepáním či třením bolestivé oblasti, přičemž tyto procesy mohou být tak intenzivní, že může dojít až k amputaci distální části končetiny. Automutilace byla pozorována jako součást neuropatické bolesti, např. po jednostranném či oboustranném přetětí zadních míšních kořenů C5 - Th2 (Vaculín, 2005).



V poslední řadě je v několika případech zmínka o **piloerekcii**, tedy naježení srsti v souvislosti s bolestí (Dickson, 2006; Lantéri-Minet, 1995; Scott, 2002).

## Závěr

Behaviorálních projevů bolesti je celá řada. Je však nutno si uvědomit, jak komplexní je děj, který vede od bolestivého podnětu až k samotnému projevu a jaké faktory na něj působí. U žádného z projevů nemůžeme s jistotou říct, že bude následovat po určité stimulaci či naopak, že poukazuje na určitý typ podnětu. Živý organismus není stroj, který by automaticky na danou akci reagoval specifickou a přesně danou reakcí, nýbrž organismus vyhodnocuje celou situaci a na tomto procesu vyhodnocování se významně podílí mnoho proměnných – druh potkana, věk a pohlaví, fyzický a psychický stav, genetické predispozice, dosavadní životní zkušenosti, vztah k experimentátorovi, adaptace, okolní prostředí a mnoho dalších. Po stejném bolestivém podnětu může nastat u dvou podobných potkanů i velice odlišná reakce, stejně tak, jako mohou stejné bolestivé podněty způsobit odlišnou reakci u jednoho potkana v různém čase.

Mimoto ve většině případů nejsou ani dostatečně dostupné informace o tom, jaké souhrnné vzorce chování lze sledovat po daném druhu stimulace. Na dnešní úrovni poznatků nervové soustavy a s pomocí velkého množství zkušeností z praxe lze však často odhadnout, zdali bude např. projev sledovaný po mechanické stimulaci pravděpodobně přítomný i po jiném druhu stimulace. Stejně tak, je-li např. experimentálně dokázáno, že potkan při pankreatitidě projevuje nižší pohybovou aktivitu, lze podobné projevy očekávat i u zánětů jiných orgánů apod.

Uvedený výčet různých behaviorálních projevů je tedy nutno brát jako seznam možných behaviorálních prvků, které se mohou objevit po různé stimulaci či v průběhu různých onemocnění. Znalost či alespoň potuchy o všech těchto projevech nám pak může zvýšit pravděpodobnost rozpoznání bolestivého stavu u potkana bezprostředně po jeho vzniku. A tedy může vést k rychlejšímu řešení příčiny a tím i k citlivějšímu zacházení s laboratorními i jinými potkany.

Tato práce by tedy především měla osvětlit, jaké jsou nejrůznější možné projevy bolesti, jak je rozpoznávat a jak tím pádem předejít zbytečnému utrpení potkanů.

## Použitá literatura

- Ambler, Z. (2012). Neuropatická bolest. In: *Bolest: monografie algeziologie*. (pp. 233-256). Praha: Tigris.
- Apkarian, A., Sosa, Y., Krauss, B., Thomas, P., Fredrickson, B., Levy, R., Harden, R., & Chialvo, D. (2004). Chronic pain patients are impaired on an emotional decision-making task. *Pain*, 108(1), pp. 129-136.
- Blanchard, R., Blanchard, D., & Takahashi, L. (1978). Pain and aggression in the rat. *Behavioral & Neural Biology*, 23(3), pp. 291-305.
- Borszcz, G. (1995a). Pavlovian conditional vocalizations of the rat: A model system for analyzing the fear of pain. *Behavioral Neuroscience*, 109(4), pp. 648-662.
- Borszcz, G. (1995b). Increases in vocalization and motor reflex thresholds are influenced by the site of morphine microinjection: Comparisons following administration into the periaqueductal gray, ventral medulla, and spinal subarachnoid space. *Behavioral Neuroscience*, 109(3), pp. 502-522.
- Boyette-Davis, J., Thompson, C., & Fuchs, P. (2008). Alterations in attentional mechanisms in response to acute inflammatory pain and morphine administration. *Neuroscience*, 151(2), pp. 558-563.
- Cain, C., Francis, J., Plone, M., Emerich, D., & Lindner, M. (1997). Pain-related disability and effects of chronic morphine in the adjuvant-induced arthritis model of chronic pain. *Physiology & Behavior*, 62(1), pp. 199-205.
- Calvino, B., Besson, J., Boehrer, A., & Depaulis, A. (1996). Ultrasonic vocalization (22-28 kHz) in a model of chronic pain, the arthritic rat: effects of analgesic drugs. *NeuroReport*, 7(2), pp. 581-584.
- Choi, Y., Yoon, Y., Na, H., Kim, S., & Chung, J. (1994). Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 59(3), pp. 369-376.
- Cooper, D. (2005). Duration of effects on clinical parameters and referred hyperalgesia in rats after abdominal surgery and multiple doses of analgesic. *Comparative medicine*, 55(4), pp. 344-353.
- D'Amour, F., & Smith, D. (1941). A method for determining the loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*(59), pp. 74-9.
- De Castro-Costa, M. (1987). Scratching behaviour in arthritic rats: a sign of chronic pain or itch?. *Pain*, 29(1), pp. 123-131.

- Dickson, A., Avelino, A., Cruz, F., & Ribeiro-da-Silva, A. (2006). Peptidergic sensory and parasympathetic fiber sprouting in the mucosa of the rat urinary bladder in a chronic model of cyclophosphamide-induced cystitis. *Neuroscience*, 139(2), pp. 671-685.
- Dinh, H., Larkin, A., Gatlin, L., & Piepmeier, E. (1999). Rat ultrasound model for measuring pain resulting from intramuscularly injected antimicrobials. *PDA journal of pharmaceutical science and technology*, 53(1), pp. 40-43.
- Dubuisson, D., & Dennis, S. (1977). The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4, pp. 161-174.
- Flecknell, P., & Liles, J. (1991). The effects of surgical procedures, halothane anaesthesia and nalbuphine on locomotor activity and food and water consumption in rats. *Laboratory animals*, 25(1), pp. 50-60.
- Ford, G., Moriarty, O., McGuire, B., & Finn, D. (2008). Investigating the effects of distracting stimuli on nociceptive behaviour and associated alterations in brain monoamines in rats. *European Journal of Pain*, 12(8), pp. 970-979.
- Giamberardino, M., Valente, R., De Bigontina, P., & Vecchiet, L. (1995). Artificial ureteral calculosis in rats: behavioural characterization of visceral pain episodes and their relationship with referred lumbar muscle hyperalgesia. *Pain*, 61(3), pp. 459-469.
- Gillingham, M., Clark, M., Dahly, E., Krugner-Higby, L., & Ney, D. (2001). A comparison of two opioid analgesics for relief of visceral pain induced by intestinal resection in rats. *Contemporary topics in laboratory animal science*, 40(1), pp. 21-26.
- Hall, C. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18(3), pp. 385-403.
- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., & Joris, J. (1988). A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32(1), pp. 77-88.
- Harper, R., Kerins, C., McIntosh, J., Spears, R., & Bellinger, L. (2001). Modulation of the inflammatory response in the rat TMJ with increasing doses of complete Freund's adjuvant. *Osteoarthritis and cartilage*, 9(7), pp. 619-624.
- Hingtgen, J., & Hamm, H. (1969). Modification of tetrabenazine effects following pain-induced aggression in rats. *Life Sciences*, 8(1), pp. 1-7.

- Hu, Y., Yang, J., Hu, Y., Wang, Y., & Li, W. (2010). Amitriptyline rather than lornoxicam ameliorates neuropathic pain-induced deficits in abilities of spatial learning and memory. *European Journal of Anaesthesiology*, 27(2), pp. 162-168.
- Hutchinson, R., Ulrich, R., & Azrin, N. (1965). Effects of age and related factors on the pain-aggression reaction. *Journal of Comparative Psychology*, 59(3), pp. 365-369.
- Franěk, M., Vaculín, Š. (2006) Animální modely bolesti. In: Rokyta R, Kršiak M, Kozák J. Bolest. Tigris, Praha, pp. 87-92.
- Gherardi, F. (2009). Behavioural indicators of pain in crustacean decapods. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 45(4), pp. 432-438.
- Guy, E., & Abbott, F. (1992). The behavioral response to formalin in preweanling rats. *Pain*, 51(1), pp. 81-90.
- Jebavý, L. (2011). *Chov laboratorních zvířat: [učební text pro vyučovaný předmět Chov laboratorních zvířat]*. V Praze: Česká zemědělská univerzita. s. 50
- Ji, G., Sun, H., Fu, Y., Li, Z., Pais-Vieira, M., Galhardo, V., & Neugebauer, V. (2010). Cognitive impairment in pain through amygdala-driven prefrontal cortical deactivation. *The Journal of Neuroscience*, 30(15), pp. 5451-5464.
- Jourdan, D., Ardid, D., Chapuy, E., Le Bars, D., & Eschalier, A. (1995). Audible and ultrasonic vocalization elicited by single electrical nociceptive stimuli to the tail in the rat. *Pain*, 63(2), pp. 237-49.
- Jourdan, D., Ardid, D., & Eschalier, A. (2002). Analysis of ultrasonic vocalisation does not allow chronic pain to be evaluated in rats. *Pain*, 95(1-2), pp. 165-173.
- Kalousová, J., Rousková, B., & Pachmannová, D. (2008). Bolest u dětí: hodnocení a některé způsoby léčby. *Pediatric pro praxi*, 9(1), pp. 7-11.
- Knutson, B., Burgdorf, J., & Panksepp, J. (2002). Ultrasonic vocalizations as indices of affective states in rats. *Psychological Bulletin*, 128(6), pp. 961-977.
- Kontinen, V., Kauppila, T., Paananen, S., Pertovaara, A., & Kalso, E. (1999). Behavioural measures of depression and anxiety in rats with spinal nerve ligation-induced neuropathy. *Pain*, 80(1-2), pp. 341-346.
- Lantéri-Minet, M., Bon, K., Pommery, J., Menétrey, D., & Michiels, J. (1995). Cyclophosphamide cystitis as a model of visceral pain in rats: model elaboration and spinal structures involved as revealed by the expression of c-Fos and Krox-24 proteins. *Experimental Brain Research*, 105(2).
- Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*, 53(4), pp. 597-652.

- Leite-Almeida, H., Almeida-Torres, L., Mesquita, A., Pertovaara, A., Sousa, N., Cerqueira, J., & Almeida, A. (2009). The impact of age on emotional and cognitive behaviours triggered by experimental neuropathy in rats. *Pain*, 144(1-2), pp. 57-65.
- Lilels, J., & Flecknell, P. (1993a). The influence of buprenorphine or bupivacaine on the post-operative effects of laparotomy and bile-duct ligation in rats. *Laboratory animals*, 27(4), pp. 374-380.
- Liles, J., & Flecknell, P. (1993b). The effects of surgical stimulus on the rat and the influence of analgesic treatment. *British Veterinary Journal*, 149(6), pp. 515-525.
- Lindner, M., Plone, M., Francis, J., & Cain, C. (1999). Chronic morphine reduces pain-related disability in a rodent model of chronic, inflammatory pain. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 7(3), pp. 187-197.
- Loeser, J. (1982). Concepts of pain. In Stanton-Hicks, M., & Boas, R. *Chronic Low Back Pain*. (pp. 146). New York: Raven Press.
- Lorenz, C. (1965). *The expression of the emotions in man and animals*. Chicago: University of Chicago Press.
- Low, L., Millecamps, M., Seminowicz, D., Naso, L., Thompson, S., Stone, L., & Bushnell, M. (2012). Nerve injury causes long-term attentional deficits in rats. *Neuroscience Letters*, 529(2), pp. 103-107.
- Matson, D., Broom, D., Carson, S., Baldassari, J., Kehne, K., & Corthright, D. (2007). Inflammation-induced reduction of spontaneous activity by adjuvant: A novel model to study the effect of analgesics in rats. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 320(1), pp. 194-201.
- McGonigle, B., Caplin, M., & Kovach, P. (2006). *Vše o léčbě bolesti: příručka pro sestry*. Praha: Grada.
- Millecamps, M., Etienne, M., Jourdan, D., Eschalier, A., & Ardid, D. (2004). Decrease in non-selective, non-sustained attention induced by a chronic visceral inflammatory state as a new pain evaluation in rats. *Pain*, 109(3), pp. 214-224.
- Moriarty, O., McGuire, B., & Finn, D. (2011). The effect of pain on cognitive function: A review of clinical and preclinical research. *Progress in Neurobiology*, 93(3), pp. 385-404.
- Na, H., Yoon, Y., & Chung, J. (1996). Both motor and sensory abnormalities contribute to changes in foot posture in an experimental rat neuropathic model. *Pain*, 67(1), pp. 173-178.

- Nagase, H. (2012). Establishment of a novel objective and quantitative method to assess pain-related behavior in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rat knee. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 65(1), pp. 29-36.
- Naito, H., Okumura, T., Inoue, M., & Suzuki, Y. (2006). Ultrasonic vocalization response elicited in adjuvant-induced arthritic rats as a useful method for evaluating analgesic drugs. *Experimental Animals*, 55(2), pp. 125-129.
- Naito, H., & Inoue, M. (2008). Quantitative analysis of the ultrasonic vocalization responses elicited in adjuvant-induced arthritic rats for screening analgesic drugs. *Experimental Animals*, 57(4), pp. 419-422.
- National Research Council. (1992). *Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Neradilek, F. (2012). Bolest jako syndrom. In Rokyta, R., Kršiak, M., & Kozák, J. *Bolest: monografie algeziologie*. (pp. 27-31). Praha: Tigris.
- Nieminen, L., & Mottonen, M. (1975). The pain aggression induced by bronopol in the rat. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 37(3), pp. 237-241.
- Nilsson, E. (2011). Pain Behavior Changes Following Disc Puncture Relate to Nucleus Pulposus Rather than to the Disc Injury Per Se: An Experimental Study in Rats. *The Open Orthopaedics Journal*, 5(1), pp. 72-77.
- Olivier, B., & Young, L. (2002). Animal models of Aggression. In: Davis, K. *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress : an official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. (pp. 1699-1708). Philadelphia: Lippincott Williams.
- Olmarker, K. (2008). Puncture of a Lumbar Intervertebral Disc Induces Changes in Spontaneous Pain Behavior. *Spine*, 33(8), pp. 850-855.
- Opavský, J. (2011). *Bolest v ambulanci praxi: od diagnózy k léčbě častých bolestivých stavů*. (394 s.) Praha: Maxdorf.
- Pais-Vieira, M., Lima, D., & Galhardo, V. (2009a). Sustained attention deficits in rats with chronic inflammatory pain. *Neuroscience Letters*, 463(1), pp. 98-102.
- Pais-Vieira, M., Mendes-Pinto, M., Lima, D., & Galhardo, V. (2009b). Cognitive impairment of prefrontal-dependent decision-making in rats after the onset of chronic pain. *Neuroscience*, 161(3), pp. 671-679.
- Parent, A., Beaudet, N., Beaudry, H., Bergeron, J., Bérubé, P., Drolet, G., Sarret, P., & Gendron, L. (2012). Increased anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain. *Behavioural Brain Research*, 229(1), pp. 160-167.

- Pellow, S., Chopin, P., File, S., & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 14(3), pp. 149-167.
- Philippe, L., Gegout-Pottie, P., & Guinqamp, C. (1997). Relations between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *American journal of physiology*, 273(4), pp. 1550-1556.
- Portfors, C. (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 46(1), pp. 28-34.
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), pp. 3-33.
- Randall, L., & Selitto, J. (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*(4), pp. 409-419.
- Roberts, W., & Mooney, R. (1974). Brain areas controlling thermoregulatory grooming prone extension, locomotion, and tail vasodilation in rats. *Journal of Comparative Psychology*, 86(3), pp. 470-480.
- Roeska, K., Ceci, A., Treede, R., & Doods, H. (2009a). Effect of high trait anxiety on mechanical hypersensitivity in male rats. *Neuroscience Letters*, 464(3), pp. 160-164.
- Roeska, K., Doods, H., Arndt, K., Treede, R., & Ceci, A. (2008). Anxiety-like behaviour in rats with mononeuropathy is reduced by the analgesic drugs morphine and gabapentin. *Pain*, 139(2), pp. 349-357.
- Rokyta, R. (2012). Transmise bolesti a její centrální projekce. In: *Bolest: monografie algeziologie*. (pp. 66-67). Praha: Tigis.
- Rommereim, D., Rommereim, R., Sikov, M., Buschboom, R., & Anderson, L. (1990). Reproduction, growth, and development of rats during chronic exposure to multiple field strengths of 60-Hz electric fields. *Fundamental and Applied Toxicology*, 14(3), pp. 608-621.
- Roughan, J., & Flecknell, P. (2001). Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain*, 90(1-2), pp. 65-74.

- Roughan, J., & Flecknell, P. (2000). Effects of surgery and analgesic administration on spontaneous behaviour in singly housed rats. *Research in Veterinary Science*, 69(3), pp. 283-288.
- Scott, D., Wright, C., & Angus, J. (2002). Actions of intrathecal  $\omega$ -conotoxins CVID, GVIA, MVIIA, and morphine in acute and neuropathic pain in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 451(3), pp. 279-286.
- Shavit, Y. (2005). The effects of perioperative pain management techniques on food consumption and body weight after laparotomy in rats. *Anesthesia and analgesia*, 101(4), 1112-6, table of contents.
- Sherrington, C. (1906). *The integrative action of the nervous system*. (411 s.) New York: Charles Scribner's Sons.
- Shir, Y., Zeltser, R., Vatine, J., & Carmi, G. (2001). Correlation of intact sensibility and neuropathic pain-related behaviors in eight inbred and outbred rat strains and selection lines. *Pain*, 90(1-2), pp. 75-82.
- Singer, P. (2001). *Osvobození zvířat*. (Vyd. 1., 259 s.) Praha: Práh.
- Slováček, L. (2012). Viscerální bolest v onkologii. *Onkologie*, 6(1).
- Smith, E., & Lewin, G. (2009). Nociceptors: a phylogenetic view. *Journal of Comparative Physiology A*, 195(12), pp. 1089-1106.
- Sotocinal, S., Sorge, R., Zaloum, A., Tuttle, A., Martin, L., Wieskopf, J., Mapplebeck, J., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J., King, O., & Mogil, J. (2011). The Rat Grimace Scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7(1), pp. 55-58.
- Stein, C., Millan, M., & Herz, A. (1988). Unilateral inflammation of the hindpaw in rats as a model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 31(2), pp. 445-451.
- Stocking, S., & Gubili, J. (2004). *Mosby's dental dictionary*. (xii, 763 p.) St. Louis, Mo.: Mosby.
- The American Heritage dictionary of the English language*. (2011). (5th ed., xxvii, 2084 p.) Boston: Houghton Mifflin Harcourt.
- Tonoue, T., Ashida, Y., Makino, H., & Hata, H. (1986). Inhibition of shock-elicited ultrasonic vocalization by opioid peptides in the rat: a psychotropic effect. *Psychoneuroendocrinology*, 11(2), pp. 177-184.
- Vaculín, Š. (2005). Bolest a pokusná zvířata. *Sanquis*(41), pp. 16.



- Vaculín, Š., & Rokyta, R. (2005). Automutilace jako projev spontánní neuropatické bolesti u zvířat. *Československá fyziologie*, 54(1), pp. 32-36.
- Vaculín, Š. (2012). Animální modely bolesti. In: *Bolest: monografie algeziologie*. (pp. 94-99). Praha: Tigris.
- Van der Poel, A., Noach, E., & Miczek, K. (1989). Temporal patterning of ultrasonic distress calls in the adult rat: effects of morphine and benzodiazepines. *Psychopharmacology*, 97(2), pp. 147-148.
- Verdejo-García, A., López-Torrecillas, F., Calandre, E., Delgado-Rodríguez, A., & Bechara, A. (2009). Executive function and decision-making in women with fibromyalgia. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 24(1), pp. 113-122.
- Walsh, R., & Cummins, R. (1976). The Open-Field Test: A Critical Review. *Psychological Bulletin*, 83(3), pp. 482-504.
- Wheeler-Aceto, H., & Cowan, A. (1991). Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology*, 104(1), pp. 35-44.
- Whishaw, I., & Kolb, B. (2005). *The behavior of the laboratory rat: a handbook with tests*. (xvi, 504 p.) New York: Oxford University Press.
- Willer, J. (1977). Comparative study of perceived pain and nociceptive flexion reflex in man. *Pain*(3), 69–80.
- Yam, M., Por, L., Peh, K., Ahmad, M., Asmawi, M., Ang, L., Yin, D., Ong, S., Abdulkarim, M., Abdullah, G., Salman, I., Ameer, O., Mohamed, E., Hashim, M., Farsi, E., & Hor, S. (2011). Development of a Stepping Force Analgesic Meter for a Rat Arthritic Model. *Sensors*, 11(5), pp. 5058-5070.
- Yam, M., Ahmad, M., Por, L., Ang, L., Basir, R., & Asmawi, M. (2012). Screening of Stepping Forces in an Arthritic Rat Model Using a Novel Analgesic Meter and Data Acquisition System. *Sensors*, 12(7), pp. 9603-9612.
- Zeeb, F., Robbins, T., & Winstanley, C. (2009). Serotonergic and Dopaminergic Modulation of Gambling Behavior as Assessed Using a Novel Rat Gambling Task. *Neuropsychopharmacology*, 34(10), pp. 2329-2343.
- Zhang, L. (2004). Restoration of spontaneous exploratory behaviors with an intrathecal NMDA receptor antagonist or a PKC inhibitor in rats with acute pancreatitis. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 77(1), pp. 145-153.