"Percepcija bola kod riba"

Pilić, Vesna

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Dubrovnik / Sveučilište u Dubrovniku**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:155:983730

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the University of Dubrovnik

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
PREDDIPLOMSKI STUDIJ AKVAKULTURA

Vesna Pilić

Percepcija bola kod riba

ZAVRŠNI RAD

Dubrovnik, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU

ODJEL ZA AKVAKULTURU

PREDDIPLOMSKI STUDIJ AKVAKULTURA

Vesna Pilić

Percepcija bola kod riba

ZAVRŠNI RAD

Mentor:

doc. dr. sc. Tatjana Dobroslavić

Dubrovnik, rujan 2018.

Ovaj završni rad izrađen je pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Tatjane Dobroslavić u sklopu preddiplomskog studija Akvakultura na Odjelu za akvakulturu Sveučilišta u Dubrovniku.

SAŽETAK

Percepcija bola kod riba

Iako se dugo godina smatralo da ribe nemaju mogućnost osjeta bola, tijekom posljednjih nekoliko godina sve se češće spominje to pitanje. Novijim istraživanjima dokazano je da brojne vrste poput riba, mekušaca i rakova posjeduju sustave za percepciju bola. Svaki organizam na drugačiji način doživljava bol, što znači da je ona subjektivna, a može se opisati kao svako neugodno osjetilno ili emocionalno iskustvo koje potencijalno može naštetiti organizmu. Zbog malog broja C vlakana kod riba, odgovornih za percepciju bola, smatralo se da ribe ne mogu osjetiti bol. Istraživanja fizioloških reakcija i promjena u ponašanju organizama dokazala su suprotno. Izbjegavanje štetnih stimulansa, uspješno ublažavanje promjena analgeticima i posjedovanje struktura za osjet bola tri su glava kriterija za dokazivanje percepcije bola kod riba. Bilo je potrebno više od desetljeća da se dokaže prisutnost nociceptora kod dužičaste pastrve *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Induciranjem štetnih događaja dokazane su brojne fiziološke promjene kod riba. Ublažavanje takvih promjena postiže se analgeticima, iako mnogi ne ostavljaju željeni učinak. Korištenje analgetika i primjena humanih postupaka nužni su tijekom manipulacije sa živim organizmima jer noviji dokazi sugeriraju na veliku mogućnost percepcije bola. Poželjno je slične prakse uvesti u ribarstvo i akvakulturu, uz prethodno provedena detaljna istraživanja.

Ključne riječi: bol, nocicepcija, nociceptori, A - delta i C vlakna, analgezija

ABSTRACT

Fish pain perception

For a long time, it was considered that fishes cannot feel pain, but in recent years that topic is often discussed. It's proven that some species of fish, molluscs and crustaceans have systems for pain perception. Organisms react on different ways, which means that pain is subjective and can be described as unpleasant sensory or emotional experience that can harm organism. It was tought that fishes cannot feel pain since they have small amount of C fibers that are responsible for pain perception. Researches connducted on physiology and behavioural changes prove otherwise. Avoiding noxious stimulans, reducing pain with analgetics and possesion of structures for pain perception are three main criteria for describing pain perception in fishes. More than a decade was needed to prove presence of nociceptors in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). By inducing noxious stimuli, many physiological changes were spotted. Reducing those changes is achieved using analgetics, although many of them don't have desired effects. Using analgetics and humane procedures are necessary during manipulation with live animals because new evidence suggest large possibility of pain perception. Preferably, similar practice should be used in fisheries and aquaculture, after conducting necessary research.

Key words: pain, nociception, nociceptors, A - delta fibers, C fibers, analgesia

SADRŽAJ

UVOD 1

2. BOL KOD AKVATIČNIH ORGANIZAMA 3

2.1. Ribe 3

2.2. Mekušci 4

2.3.Rakovi 5

3. EVOLUCIJSKI PRISTUP PERCEPCIJI BOLA KOD RIBA 7

4. GRAĐA I FUNKCIJA ŽIVČANOG SUSTAVA KOD RIBA 9

4.1. Živčani sustav 9

4.2. Središnji živčani sustav 9

4.3. Periferni živčani sustav 10

4.3.1. Vid i očni živci 11

4.3.2. Sluh i dodir 12

4.3.3. Miris i okus 13

5. NOCICEPCIJA 14

6. FIZIOLOŠKI ODGOVORI NA ŠTETNE STIMULACIJE 17

7. ANALGEZIJA KOD RIBA 19

7.1. Opioidni lijekovi 19

7.2 Ne-steroidni protuupalni lijekovi 20

7.3. Lokalni anestetici 20

8. ETIKA 21

9. ZAKLJUČAK 23

10. LITERATURA 24

UVOD

Bol je tjelesni osjet izazvan podražajima receptora za bol. Često je opisivana kao „fenomen“ jer se neki aspekti boli još u potpunosti ne mogu definirati. Definicija osjeta boli kod ljudi opisuje bol kao „neugodan osjećaj ili emocija povezani sa stvarnim ili mogućim oštećenjem tkiva“ (Iggo, 1984). Kod životinja, osjet boli opisan je kao „odbojan osjećaj povezan sa stvarnim ili potencijalnim oštećenjem tkiva“ jer kod životinja je odbojnost prema nečemu mjerljiva, dok nelagoda i emocije nisu (Broom, 2001).

Ovaj rad predstavlja sažeti prikaz dosadašnjih istraživanja na temu percepcije boli kod riba. Najveći problem u razumijevanju boli kod životinja je taj što je osjećaj boli subjektivan kao i taj što dio znanstvenika smatra da ribe ne osjećaju bol. Bol se procesuira drugačije kod različitih skupina, tako npr. hrskavičnjače i košutnjače imaju drugačije kapacitete i mehanizme za percepciju boli (Kaijura i sur., 2000; Porcher, 2005). U protekla dva desetljeća ostvaren je značajan napredak u razumijevanju percepcije boli kod životinja. Nedavna istraživanja dokazala su potencijal percepcije boli u različitih vodenih vrsta kao što su ribe, mekušci i rakovi (Sneddon, 2015).

Kako bi organizam ispravno reagirao na štetan događaj, osjetilni sustav pomaže „otkriti“ oštećenja tkiva. Na ovaj način životinje koje reagiraju na oštećenje tkiva imaju veću šansu za preživljavanje i razmnožavanje od onih koje nemaju sposobnost detektirati oštećenja. Odbojnost prema nečemu kod životinja može se prepoznati preko povišenih otkucaja srca ili povišene razine hormona stresa. Iz svake promjene u ponašanju može se donijeti zaključak kako određeni organizam doživljava ozljedu ili bol (Broom, 2001).

Proces boli može se razmotriti kroz niz stadija. Prema Kavaliersu (1998), kod kralješnjaka prvi stadij uključuje detekciju štetnog događaja preko posebnih receptora - nociceptora. U drugom stadiju informacija se nakon detekcije prenosi preko specijaliziranih vlakana (A - delta i C vlakna) do živčanog sustava - leđne moždine. U leđnoj moždini se tijekom trećeg stadija aktiviraju refleksi i mijenjaju fiziološki procesi. U četvrtom stadiju informacija dolazi do mozga u kojem informaciju obrađuju određena područja. Zadnji stadij povezan je s promjenama u ponašanju organizma.

Svrha ovog rada je potaknuti razmišljanje o osjećaju boli kod životinja, posebice riba koje su nekad bile simbol za primitivan oblik života. Cilj je odgovoriti na pitanje osjećaju li

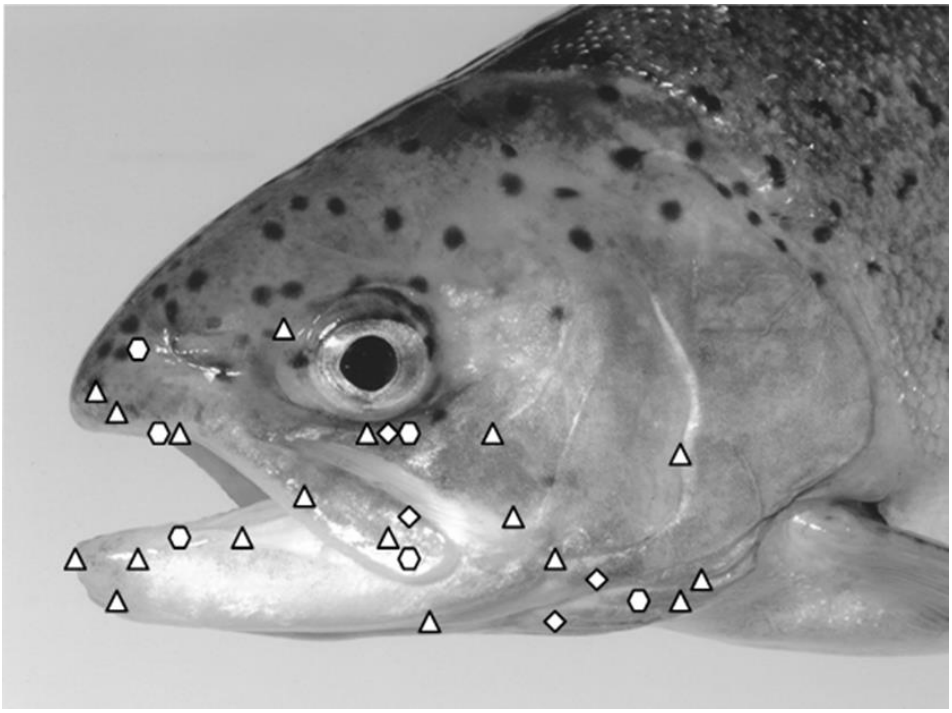
ribe bol ili ne, a stav koji bi svakako trebali zauzeti je da ribe bol osjećaju sve dok se suprotno ne dokaže.

2. BOL KOD AKVATIČNIH ORGANIZAMA

2.1. Ribe

Sve do 2002. vjerovalo se da ribe nemaju mogućnost osjeta boli, jer do tada nisu bili otkriveni receptori koji prepoznaju potencijalno bolne podražaje - nociceptori. Suvremene studije tijekom posljednjih 10 godina pokazale su da ribe koštunjače posjeduju nociceptore koji su slični onima u sisavaca te da pokazuju promjene povezane s boli u fiziologiji i ponašanju te veću aktivnost mozga kada se bolno stimuliraju (Sneddon, 2015).

Kod *O. mykiss* otkrivena su dva tipa živčanih vlakana; A - delta i C vlakna, koja služe kao nociceptori (Sneddon, 2002; Sneddon, 2003a). Nociceptori su podjeljeni na 3 vrste: polimodalni (reagiraju na mehaničke, termičke i kemijske podražaje), mehanotermalni (ne reagiraju na kemijske podražaje) i mehanokemijske (ne ragiraju na temperaturu). Kod *O. mykiss* nociceptori se nalaze na glavi (Sneddon 2003a; Ashley i sur., 2006, 2007; Mettam i sur., 2012) (Slika 1).



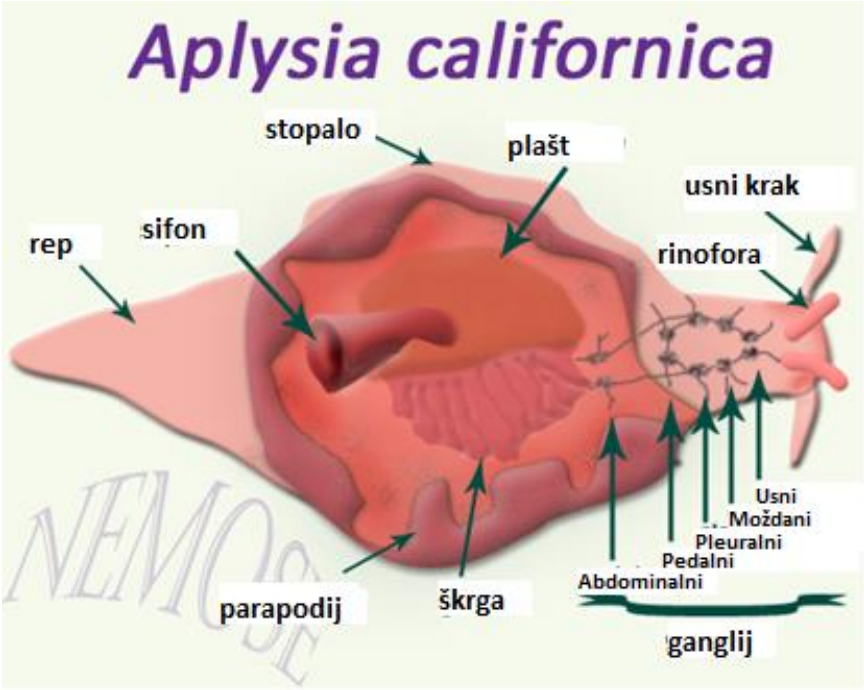
Slika 1. Pozicija polimodalnih, mehanotermalnih i mehanokemijskih nocireceptora na glavi i licu *O. mykiss*: polimodalni - ▲; mehanotermalni - ◆; mehanokemijski - ⬢ (Izvor: Sneddon, 2006)

Elektrofiziološka svojstva nociceptora kod *O. mykiss* mogu se usporediti s onima kod sisavaca. Razlike se očituju kod nociceptora *O. mykiss* koji ne reagiraju na temperature ispod 4 °C zbog evolucijske prilagodbe na niže temperature. Istraživanja jasno prikazuju kako A - delta vlakna kod *O. mykiss* djeluju jednako kao C vlakna kod sisavaca, reagirajući na razne štetne podražaje. C vlakna kod kopnenih životinja pridonose „dugotrajnom" osjećaju boli, dok A - delta vlakna signaliziraju prvi osjet boli jer brže provode podražaj do središnjeg živčanog sustava (Sneddon 2003a; Ashley i sur., 2006, 2007; Mettam i sur., 2012).

Uzimajući u obzir cjelokupno ponašanje i fiziološke odgovore, bez obzira na mali broj C vlakana, mnoštvo je dokaza koji potvrđuju da ribe osjećaju bol, izbjegavaju potencijalno štetne događaje i imaju sposobnost pamćenja (Rose i sur., 2014).

2.2. Mekušci

Mekušci su vrlo raznolika skupina s bitnim odstupanjem u tjelesnoj građi i ekologiji. Dokazi za nocicepciju postoje kod školjkaša, gastropoda i glavonožaca (Crook i Walters, 2011). Kalifornijski morski zekan *Aplysia californica* (J. G. Cooper, 1863.) jedan je od vodećih modela (Slika 2) za proučavanje nocicepcije. Nociceptori pronađeni kod ove vrste pokazuju usporedive elektro - fiziološke značajke s onima kod sisavaca (Illich i Walters, 1997; Walters i Moroz, 2009), a štetne stimulacije rezultiraju refleksnim povlačenjem škrga, sifona, repa i glave, te izbacivanja crnila (Kandel, 2001; Crook i Walters, 2011).



Slika 2. Shematski prikaz građe kalifornijskog morskog zekana, *Aplysia californica,* (J. G. Cooper, 1863) (Izvor: www.molluscs.at)

Glavonošci su skupina koja se izdvaja od ostatka beskralješnjaka prema mnogim osobinama posebice svojom inteligencijom. Nociceptori nedavno su identificirani kod različitih vrsta sipe, hobotnice i lignje. Za razliku od relativno malog broja neurona kod kalifornijskog morskog zekana, glavonošci posjeduju oko 500 milijuna stanica u središnjem živčanom sustavu (Young, 1963). Negativni podražaji, kao što su mehanička oštećenja, izazivaju reakcije povlačenja glave kod glavonožaca, lignja *Doryteuthis* (*Amerigo*) *pealeii* (Lesueur, 1821) reagira na mehanička oštećenja, ali ne i na povišenje temperature (Crook i sur., 2013).

2.3.Rakovi

Rakovi su raznovrsna skupina životinja koja obuhvaća mnogo vrsta. Kao i glavonošci, imaju sposobnost odbacivanja i regeneracije udova. Međutim, nociceptori s preciznim područjem djelovanja kod rakova još nisu pronađeni (Sneddon, 2015). Provedena su razna istraživanja koja donose sljedeće rezultate. Primjenom štetnih kemikalija na ticala, dokazano

je da vrste *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) i *Palaemonetes* sp. ne pokazuju specifičnu neuronsku aktivnost tijekom primjene kiseline i ne daju znakove povećane njege ticala (Puri i Faulkes, 2010). Suprotno tomu, primjenom kiseline na ticala vrste *Palaemon elegans* (Rathke, 1837), povećana je aktivnost njege ticala u trajanju do 5 minuta (Barr i sur., 2008). Neke vrste mogu gotovo u potpunosti promijeniti svoje ponašanje uslijed štetnih djelovanja, te promjene u ponašanju i fiziologiji mogle bi biti dokaz za postojanje nocicepcije kod rakova (Sneddon, 2015).

3. EVOLUCIJSKI PRISTUP PERCEPCIJI BOLA KOD RIBA

Vjerovanje da životinje ne mogu procesuirati bol niti patiti temeljilo se na ideji da samo svjesno biće može osjećati bol. Iako je dugo godina ova tema bila predmet rasprave, nedavna istraživanja potvrdila su da riblji mozak nije tako jednostavan kako se u početku mislilo te da ribe imaju sposobnost osjeta i percepcije boli. Prepoznavanje štetnih događaja i percepcija boli veoma su važni za životinje jer pomažu organizmu da se zaštiti i reagira za vrijeme (Anand i Craig , 1996; Braithwaite i Huntingford, 2004; Sneddon, 2003a).

Key (2016) se u svom istraživanju na temu boli kod riba oslanja na argumente u kojima iznosi vjerovanje da ribe ne osjećaju bol, jer ne posjeduju neuroanatomske strukture, za koje se smatra da su zaslužne za percepciju boli kod ljudi. Njegovi argumetni temelje se na pretpostavci da sve životinje moraju procesuirati bol kao i ljudi kako bi je mogli osjetili. Suprotno tomu Sneddon i sur. (2015) i Brown (2015a) vjeruju da životinje mogu posjedovati percepciju boli kao evolucijsku značajku koja olakšava preživljavanje, detekciju štetnih događaja i izbjegavanja ozljeda. Velik broj životinja uči asocirati bolni stimulans sa specifičnom situacijom i na taj način može izbjeći štetne događaje (Brown 2015b). Zaključci koje iznosi Key (2016) da ribe ne mogu osjetiti bol nisu točni zbog 3 razloga:

1. Ignorira se znanstveno dokazano postojanje homolognih i analognih struktura u središnjem živčanom sustavu riba, uključujući i mozak

2. Zanemaruje se činjenica da su se tijekom evolucije mozga kralješnjaka razvile nove strukture koje su preuzele stare funkcije

3. Key pretpostavlja da je moždana kora kod ljudi odgovorna za percepciju boli, ali to ne znači da sve životinje moraju imati moždanu koru kako bi osjetile bol (van den Heuval i Sporrns, 2013).

Key iznosi dokaze o tome da su moždane strukture glodavaca analogne s ljudskim kortikalnim područjima za percepciju boli. On interpretira to kao dokaz da moždana kora igra ulogu u percepciji boli kod svih kralješnjaka. Na osnovi tih podataka može se pretpostaviti da je moždana kora uključena u percepciju boli kod svih sisavaca (potrebna su daljnja istraživanja) ali ne i kod svih kralješnjaka (Brown, 2015a).

Svjesna percepcija i razne kognitivne funkcije kod ljudi obično uključuju talamokortikalni sustav (Seth i sur., 2005). Većina kralješnjaka, iako nemaju ovaj sustav posjeduju funkcionalni neuroanatomski sustav koji je zaslužan za svjesne percepcije i kognitivne funkcije. Klasičan primjer konvergentne evolucije su ptice, koje ne posjeduju razvijen moždani korteks ali posjeduju dijelove homologne njemu (Medina i Reiner, 2000). Iako se riblji mozak razvija drugačije u usporedbi s drugim kralješnjacima, sve više je dokaza da su iste strukture prisutne kod riba (Rodriguez i sur., 2011).

Lateralna i medijalna pallia (slojevi sive i bijele tvari koji prekrivaju gornji dio mozga) kod riba homologne su s hipokampusom i amigdalom (centar za emocije) kod kopnenih kralješnjaka. Lezije medijalne pallie remete rad srca povezan sa strahom i ometaju učenje izbjegavanja štetnih stimulansa. Prednji mozak koštunjača je uključen u učenje izbjegavanja i nadzire emotivni sustav koji regulira prilagodbu na strah. Ovaj dio mozga prima projekcije iz međumozga (talamusa) koje imitiraju one zabilježene i kod sisavaca. Funkcija C1 i C2 vlakana kod riba jednaka je C vlaknima kod sisavaca. Zanimljivo je da C vlakna nisu pronađena kod prečnoustih, ali slične strukture vjerojatno postoje jer su pronađene kod beščeljusnih riba. Pretpostavlja se da ribe posjeduju isti smjer prijenosa nociceptivnih informacija kao kod sisavaca, od perifernog do središnjeg živčanog sustava. Sve je više znanstvenih dokaza da je prednji mozak riba uključen u percepciju bola. Velik broj istraživanja dokazuje da ribe izbjegavaju štetne stimulanse i prilagođavaju ponašanje kako bi dugoročno ublažili štetne utjecaje, iako se neki od njih mogu okarakterizirati kao refleks (Brown, 2015a).

Gregory (1999) je predložio 3 kriterija za objektivnu procjenu percepcije boli kod riba:

1. mora se ustanoviti posjeduju li ribe iste strukture koje druge životinje koriste za osjet bola
2. mora se dokazati da odgovor na bolni stimulans izaziva promjene u ponašanju koje se mogu ublažiti analgeticima
3. treniranje ribe da izbjegava odbojne stimulanse kroz asocijativno učenje.

Istraživanjima je potvrđen drugi i treći kriterij, a postoji sve više dokaza i za potvrdu prvog kriterija.

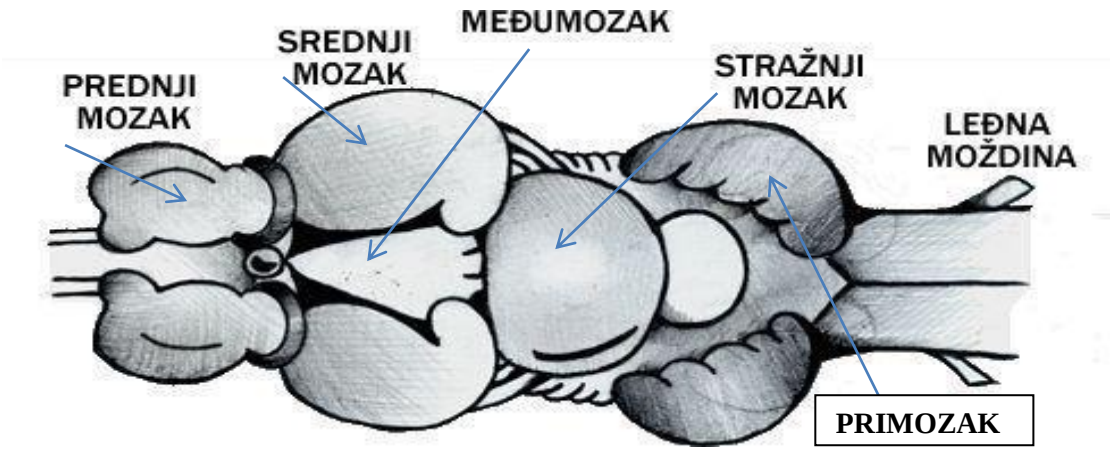
4. GRAĐA I FUNKCIJA ŽIVČANOG SUSTAVA KOD RIBA

4.1. Živčani sustav

Zbog prilagodbe na vodeno stanište živčani sustav riba znatno se razlikuje od svakog kralješnjaka. Živčani sustav kontrolira gotovo sve funkcije u organizmu, prenosi signale između različitih dijelova tijela (www.scribd.com). Živčano tkivo građeno je od dvije vrste stanica: neurona i glija stanica. Glavna funkcija neurona je primanje i prijenos signala, a mogu se podijeliti na motorne, osjetne ili međuneuronske. Glija stanice podupiru i štite neurone i sudjeluju u živčanoj aktivnosti, prehrani i obrambenim procesima u središnjem živčanom sustavu (Junqueira i Carneiro, 2005). Kao i kod svih drugih kralješnjaka sastoji se od dva sustava: cerebrospinalni i autonomni. Cerebrospinalni sustav podijeljen je u dva dijela: središnji živčani sustav, koji se sastoji od mozga i leđne moždine i periferni živčani sustav koji se sastoji od živaca mozga, leđne moždine i osjetilnih organa kao što su oči i uši. Autonomni živčani sustav sastoji se od ganglija, vlakana, simpatičkih i parasimpatičkih dijelova. Autonomni živčani sustav nema veliki značaj kao cerebrospinalni, njegovi parasimpatički i simpatički nastavci zaslužni su za aktivaciju i inaktivaciju tjelesnih mišića. Gangliji sadrže vlakna pomoću kojih povezuju neurone s mišićima i glavna su komponenta ovog sustava (www.scribd.com).

4.2. Središnji živčani sustav

Većina vrsta riba ima dosta mali mozak u odnosu na veličinu tijela s obzirom na druge kralješnjake. Mozak je podijeljen u nekoliko dijelova: prednji mozak (telencephalon), srednji mozak (mesencephalon), međumozak (diencephalon), stražnji mozak (cerebellum), primozak i leđna moždina (Slika 3).



Slika 3. Shematski prikaz mozga ribe (Izvor: www.ribe-hrvatske.com)

Prednji mozak se sastoji od telencefalona i diencefalona. Na telencefalonu nalaze se oflaktorni režnjevi i par struktura koji primaju i obrađuju signale iz nosnica preko dva olfaktorna živca. Olfaktorni režnjevi poprilično su veliki u riba koje love koristeći se njuhom. Diencefalon obavlja brojne funkcije povezane s hormonima i homeostazom. Srednji mozak sadrži dva optička režnja koji su dosta veliki kod vrsta koje love pomoću vida, npr. pastrve ili ciklidi. Stražnji dio mozga ili metencefalon djelomično je uključen u plivanje i ravnotežu. Leđna moždina kontrolira neke od mišića i organa, dok kod koštunjača ima ulogu kontrole disanja i osmoregulacje (www.scribd.com).

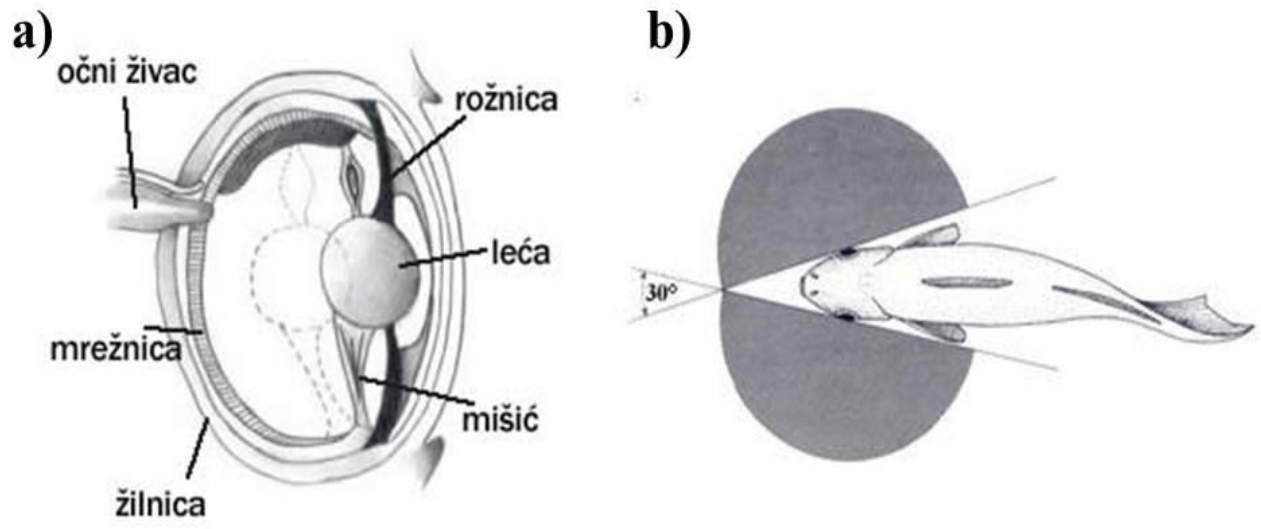
4.3. Periferni živčani sustav

Periferni živčani sustav sastoji se od živaca koji povezuju mozak i leđnu moždinu s raznim organima. Prenosi informacije osjeta od očiju, unutarnjeg uha, nosnica, okusnih pupoljaka i drugih sličnih specijaliziranih organa do ostalih centra u mozgu i leđne moždine. Kod riba pronalazimo dva tipa živaca, moždinski iz leđne moždine i lubanjski iz mozga (www.scribd.com).

4.3.1. Vid i očni živci

Ribe vid koriste zajedno s drugim osjetilima kako bi pronašle hranu, sklonište, partnera te izbjegle predatore. Sposobnost prepoznavanja boja i oblika razlikuje se od vrste do vrste. Te razlike uglavnom su povezane sa staništem pa tako i veličina oka varira zbog dubine i dostupne količine svijetlosti. Na kraju fotičke zone veličina oka opada zbog potpunog nedostatka svijetla. Ribe koje žive u fotičkoj zoni imaju slab vid ili su posve izgubile oči.

Oko je građeno od mrežnice, optičkog živca, leće, rožnice, šarenice i tri para okulomotornih živaca (Slika 4a). Očni živac povezuje oko za vid i očne reflekse a funkcija mu je prijenos vizualnih podražaja. Oko riba evolucijski je oblo kako bi se omogučio vid pod vodom uslijed većeg indeksa loma svijetla. Ribe nemaju mogućnost širenja ili sužavanja zjenica jer je leća izbočena kroz šarenicu. Umjesto širenja, ribe mogu fokusirati predmete pomičući leću naprijed ili nazad. Pokretljivo oko i smještaj leće omogućuju široko vidno polje (Slika 4b). Osim par vrsta morskih pasa, ribe ne posjeduju kapke. Umjesto njih imaju treptajuću membranu koja čisti površinu rožnice i krupni sloj sastavljen od masti koja štiti oko (www.scribd.com).

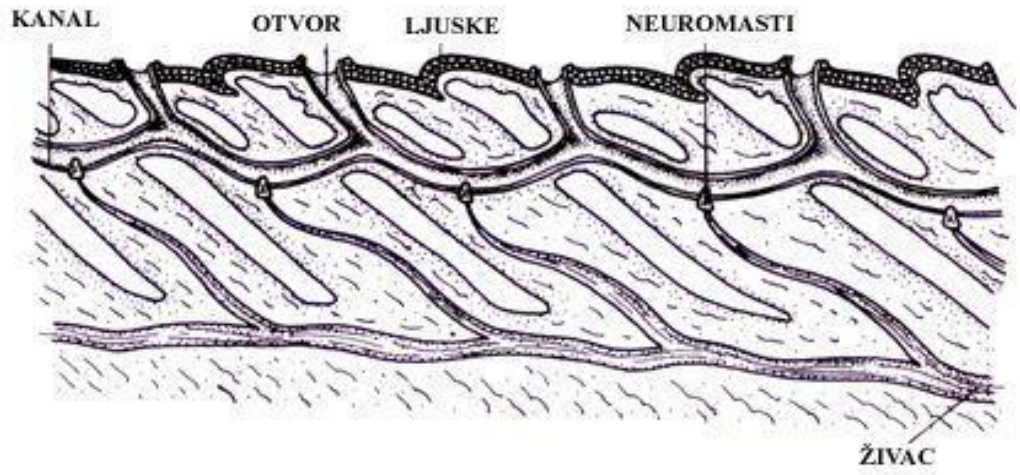


Slika 4. a) Shematski prikaz građe oka, b) vidno polje riba (Izvor: www.ribe-hrvatske.com)

4.3.2. Sluh i dodir

Iako su kod riba uši sakrivene one postoje, a smještene su unutar tijela zajedno s bočnom prugom koja posjeduje mogućnost osjeta. Unutarnje uho služi za osjet zvučnih vibracija koje se iz vode prenose preko tijela sve do uha. Ribe imaju unutrašnje uho u obliku labirinta koje je ispunjeno tekućinom, a dijeli se na dva dijela: parasuperiorni (gornja polovica) i utrikulus (donja polovica). Parasuperiorni dio zaslužan je za ravnotežu, a podijeljen je u tri polukružna kanala u kojima se nalazi tekućina i osjetne dlačice uz pomoć kojih ribe dobivaju informacije o rotaciji i ubrzanju. Utrikulus sadrži otolite, strukture slične kamenčićima, pomoću kojih riba proizvodi i prepoznaje zvuk (www.scribd.com).

Za osjet dodira ribe koriste bočnu prugu koju čine osjetne stanice - neuromasti s osjetnim dlačicama (Slika 5). Velik broj neuromasti u izravnom je kontaktu s vodom te omogućava ribi otkrivanje objekata. Uloga bočne pruge je procjena snage i pravca vodenog toka, izbjegavanje zapreka i hvatanje plijena (www.scribd.com).



Slika 5. Shematski prikaz uzdužnog presjeka bočne pruge (Izvor: www.ribe-hrvatske.com)

4.3.3. Miris i okus

Kao i ljudi, ribe koriste kemorecepciju za osjet okusa i mirisa. Kod većine riba ovaj osjet je na višoj razini naspram ljudske. Ribe uglavnom imaju dvije nosnice koje nisu povezane s grlom, već posjeduju olfaktorni organ za detekciju kemikalija. Veličina tog organa proporcionalna je s osjetom njuha; što je organ veći, to je njuh bolji (www.scribd.com).

Za osjet okusa ribe koriste okusne pupoljke, koji prekrivaju cijelu usnu šupljinu i jezik. Uz sve gore navedeno neke ribe kao što je som *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758) posjeduju i „brkove“. Takve strukture omogućuju im potragu za hranom, kao i osjet okusa prije nego im hrana stigne do usta (www.scribd.com).

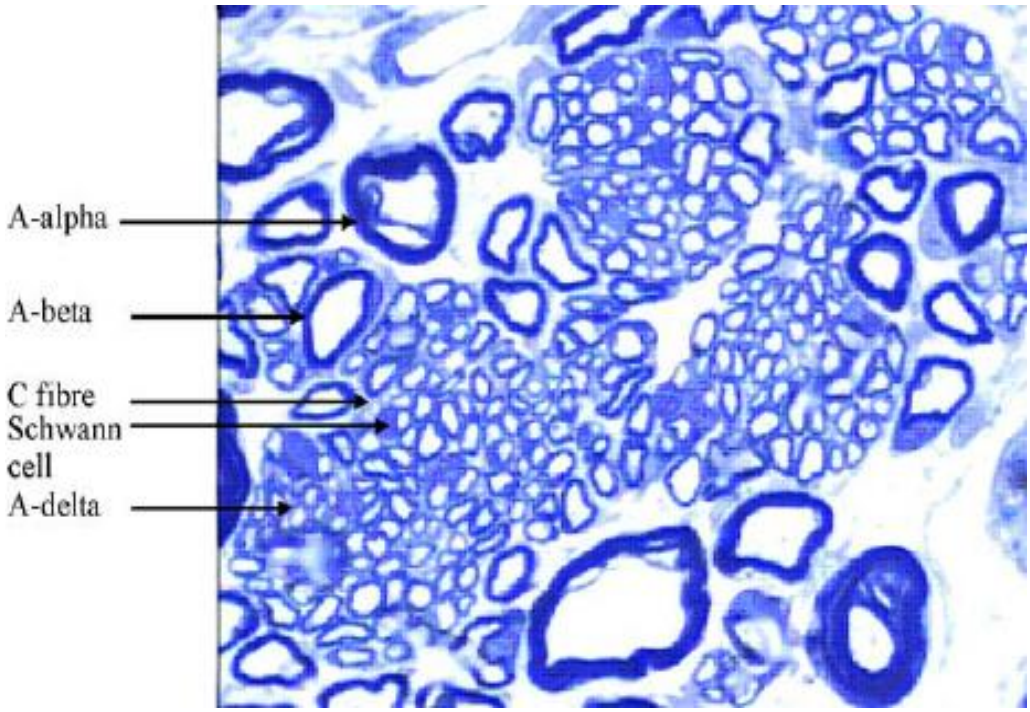
5. NOCICEPCIJA

Nocicepcija je percepcija štetnih događaja i boli. Nociceptori su slobodni živčani završetci koje nalazimo u tkivima poput kože, oralne i nazalne membrane, skeletnih mišića i visceralnih organa. Njihova uloga je detekcija ekstremnih događaja kao što su nepovoljne temperature, mehanička nagnječenja i štetne kemikalije koje mogu oštetiti tkivo. Velik je broj raznih tipova receptora i svi reagiraju na različite oblike štetnih stimulansa. Bimodalni receptori, odnosno oni koji odgovaraju na dvije vrste podražaja su: mehanotermalni nociceptori koji otkrivaju i mehanička oštećenja i nepovoljne temperature te mehanokemijski nociceptori koji odgovaraju na mehaničke i kemijske štetne stimulanse. Polimodalni nociceptori su viša kategorija receptora i odgovaraju na mehaničke, termalne i kemijske stimulanse (Dubin i Patapoutian, 2010). Nociceptori imaju ključnu ulogu u obrani od stimulansa koji mogu uzrokovati oštećenja, a pronađeni su i kod kralješnjaka i kod beskralješnjaka (Evans, 2014).

Bilo je potrebno više od desetljeća da se potvrdi da ribe poput *O. mykiss,* lososa *Salmo salar* (Linnaeus, 1758) i zlatne ribice *Carassius auratus (*Linnaeus, 1758) posjeduju različite vrste epidermalnih nociceptora. Nakon što je, pomoću nocireceptora, štetni stimulans otkriven, informacije o oštećenju prenose se unutar živčanog sustava preko specijaliziranih tipova živčanih vlakana. Kod kralješnjaka postoje dvije vrste vlakana za provođenje nociceptivnih signala; blago mijelinizirana A-delta vlakna i ne mijelinizirana C vlakna (Evans, 2014).

Fiziološki dokazi nocicepcije kod paklare *Petromyzon marinus,* (Linnaeus, 1758) zabilježeni su detekcijom intracelularne aktivnosti u senzornim neuronima kože i usta ali do danas ne postoji njihov opis (Martin i Wickelgreen, 1971).

Istraživanjem glavnog živca, koji inervira glavu i lice kod *O. mykiss* opisane su različite vrste nociceptora i potvrđena je prisutnost C i A – alfa, beta i delta vlakana u maksilarnoj, mandibularnoj i očnoj grani trodijelnog živca (Sneddon, 2002) (Slika 6).



Slika 6. Presjek maksilarne grane trodijelnog živca dužičaste pastrve *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Strelicama su prikazana A - alfa, beta i delta vlakna; C - vlakna i Schwannove stanice (Izvor: Sneddon, 2002)

Nakon niza provedenih testova, zaključeno je da *O. mykiss* posjeduje pet različitih vrsta receptora. Dvije vrste odgovarale su isključivo na mehaničku stimulaciju: **brzo prilagodljivi**, koji odgovaraju par puta nakon čega prestaju i **sporo prilagodljivi** koji su reagirali konstantno tijekom mehaničke stimulacije. Ni jedan od ova dva tipa mehanoreceptora nije reagirao na termalnu ili kemijsku analizu. Treća vrsta su **polimodalni receptori** koji su odgovarali na mehanički, termalni i kemijski stimulans. Pronađeni su i dva tipa bimodalnih receptora, jedan s odgovorom na mehanički ili termalni stres (mehanotermalni nocireceptori) i drugi s odgovorom na mehanički ili kemijski stres (mehanokemijski receptori) (Sneddon, 2003a; Sneddon i sur., 2003; Ashley i sur., 2007).

Promjeri receptivnih polja uglavnom su slični za sve tipove receptora (~ 2,5 mm). Mehanički pragovi polimodalnih receptora (1,02 +/- 0,24g) veći su nego kod brzo prilagodljivih (0,37 +/- 0,1g) ili sporo prilagodljivih (0,32 +/- 0,14g) mehaničkih receptora (Ashley i sur., 2007). Svi receptori, osim mehanotermalnih nociceptora pokazuju veći broj reakcija s povećanjem snage mehaničke stimulacije. Među polimodalnim i mehanokemijskim receptorima nema razlike u pragu osjetljivosti na kemijske stimulacije. Suprotno tomu, razlika

postoji kod termalnog praga, gdje je prag veći za mehanotermalne receptore nego za polimodalne te se može pretpostaviti da su bimodalni nociceptori zaslužni za detekciju štetnih temperatura. Na rožnici i glavi nisu pronađeni nociceptori osjetljivi na hladnoću. Akcijski potencijal, njegovo trajanje i brzina provodljivosti konzistentni su kod različitih vrsta receptora (Ashley i sur., 2006, 2007).

Brzo prilagodljivi elementi kod *O. mykiss* djeluju kao receptori dodira. Kod sisavaca, uobičajeno imaju nizak mehanički prag. Stoga, sporo prilagodljivi receptori potencijalno djeluju kao detektori pritiska. Receptivno polje receptora kod *O. mykiss* slično je onima kod miševa i ptica, ali mehanički prag je niži kod riba (ribe su više osjetljive). Mehanički pragovi polimodalnih i mehanotermalnih receptora kod *O. mykiss* slični su kao kod nociceptora na rožnici sisavaca (Evans, 2014).

6. FIZIOLOŠKI ODGOVORI NA ŠTETNE STIMULACIJE

Tijekom stimulacije nociceptora, informacije se prenose preko A-delta i C vlakana do leđne moždine. Takve informacije pokreću niz odgovora. Neke od njih potiču životinju na povlačenje od izvora ozljede dok druge potiču razne fiziološke promjene povezane sa stresom. Potaknuti efekti djeluju na procese kao što su otkucaji srca, disanje, apetit i pažnja (Evans, 2014). Različite vrste drugačije reagiraju na stres (Tablica 1).

Tablica 1. Mjerenje fizioloških promjena i promjena u ponašanju kao odgovor na potencijalno štetne događaje kod vrsta *O. mykiss*, običnog šarana *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), zebrice *Danio rerio* (Hamilton 1822) i nilske tilapije *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). (↑=povečano, ↓=smanjeno, ↔=nema promjena, √=zabilježene promjene u ponašanju, NM=nije mjereno) (Izvor: Sneddon, 2011).

VRSTA	PLIVANJE	DISANJE	HRANJENJE	PLAZMA KORTIZOL	SKLONOST SVIJETLU	FIZIOLOŠKE PROMJENE ŠKRGA	PROMJENA PONAŠANJA
Oncorhynchus mykiss	↓	↑	↓	↑	NM	NM	√
Cyprinus carpio	↔	↔	↓	NM	NM	NM	√
Danio rerio	↓	↑	↓	NM	NM	NM	√
Oreochromis niloticus	↑	NM	NM	↔	↑	↑	NM

Primjenom električnih šokova dokazano je da ribe imaju sposobnost izbjeći šok jer uče prepoznavati stvari povezane s njime. Tijekom istraživanja dokazano je da vrsta *C. auratus* može naučiti kako izbjeći dijelove akvarija u kojem su stavljeni električni šokovi. Dokazano je da imaju sposobnost pamćenja i da mogu izbjegavati mjesta koja su opasna za njih. Izloženost električnim šokovima podiže razinu kortizola, a njegovi učinci različiti su među

vrstama (Dunlop i sur., 2006). Električni šokovi štetna su stimulacija jer izazivaju refleksne i fiziološke promjene (Evans, 2014).

Velik broj istraživanja iznosi dokaze koji upućuju na to da ribe imaju potrebne receptore i živčana vlakna za procesuiranje nociceptivnih stimulansa. Svi procesi odvijaju se nesvjesno; mozak i viši nivo svjesnih procesa ne treba biti uključen kako bi nocicepcija funkcionirala. Svjesnu informiranost o boli teško je dokazati, no pretpostavka je da većina životinja ipak osjeća bol (Evans, 2014).

7. ANALGEZIJA KOD RIBA

Analgezija je ublažavanje boli bez gubitka svijesti upotrebom lijekova koji se primjenjuju za ublažavanje boli i poboljšanje općeg stanja organizma, kako bi se ubrzao oporavak. Iako se rijetko primjenjuju na ribama analgezijski protokoli dostupni su za većinu životinja. Istraživanja provedena na koštunjačama ukazuju da potencijalno bolni događaji utječu na normalno ponašanje i mogu biti indikator nelagode. Glavne vrste analgetičkih lijekova su opioidi, ne-steroidni protuupalni lijekovi (NSAID), lokalni anestetici i drugi lijekovi s analgezijskim svojstvima. Samo su prve tri vrste lijekova (opioidi, NSAID i lokalni anestetici) korištene u istraživanjima za potencijalno ublažavanje boli kod riba (Sneddon, 2012).

7.1. Opioidni lijekovi

Opioidni lijekovi uzrokuju analgeziju djelujući na tri opioidna receptora (mu, delta i kappa) smještena na staničnoj membrani neurona. Presinaptičko djelovanje opioida inhibira otpuštanje neurotransmitera i na taj način blokira prijenos informacija i aktivnost nociceptora (Sneddon, 2003b).

Primjenom morfija kod *O. mykiss* ublažavaju se efekti potencijalno štetnog stimulansa i nema prekida u hranjenju. Morfij ublažava poremećaje disanja i ponašanju prikazane kod ne tretiranih riba izloženih štetnom stimulansu. Ne tretirani organizmi pod stresom ne prikazuju strah od induciranih objekata dok su primjenom morfija zadržani normalni odgovori na strah. Zaključeno je da morfij uspješno izaziva analgeziju kod *O. mykiss*. Primjenom morfija na zlatnu ribicu *C. auratus* ne mijenja se prag osjetljivosti na temperaturne promjene ali su zabilježene promjene u ponašanju riba tijekom testiranja što ukazuje na potencijalno analgezijsko djelovanje (Sneddon, 2015).

Bitna razlika u djelovanju morfija, usporedno sa sisavcima, je u stopi izlučivanja (vrijeme poluraspada 37 sati i totalna eliminacija za 56 sati) i zadržavanja morfija dugo nakon primjene. Zbog toga je poželjna upotreba nakon kroničnih stanja ili operativnih zahvata, jer dodatno doziranje možda neće biti potrebno. (Newby, Mendonca, Gamperl i sur., 2006; Newby, Wilkie i Stevens, 2009).

Opiodi kao što su tramadol, dermorphin i beta-kazomorfin dokazano utječu na intenzitet odgovora prilikom elektrošokova kod bakalara *Gadus morhua (*Linnaeus, 1758), *O. mykiss* i *C. carpio* butorfanol i buprenorfin uglavnom nemaju značajno analgezijsko djelovanje (Chervova i Lapshin, 2000; Chervova, Lapshin i Kamenskii (1994).

7.2 Ne-steroidni protuupalni lijekovi

NSAID lijekovi djeluju inhibirajući arahidonat-ciklo-oksigenaza enzime kako bi se smanjila proizvodnja tromboksana i prostaglandina. Na taj način pružaju se protuupalna antipiretska i analgezijska svojstva (Sneddon, 2012). Prostaglandin i tromboksan su lipidi, a djeluju kao hormoni. Prostaglandin utječe na funkcije poput opuštanja glatkih mišića, sužavanje i proširivanje krvnih žila te kontrolu krvnog tlaka. Otpuštanje tromboksana, koje je povezano s prostaglandinom, uzrokuje nakupljanje trombocita i suženje krvnih žila zbog čega ih je potrebno smanjiti (https://www.medicinenet.com). Korištenjem ketoprofena smanjujemo postoperativne indikatore, ali se promjene ponašanja ne ublažavaju. Kod primjene carprofena na *O. mykiss* uočava se ublažavanje reakcija na stresni stimulans. Međutim primjenom doze od 5mg/kg uočen je pad aktivnosti što ukazuje na moguće postojanje nuspojava. Kronična upotreba NSAID lijekova kod sisavaca, ptica i reptila može dovesti do čira na želudcu ili bolesti bubrega, stoga je potrebno provesti dodatna istraživanja o utjecaju na ribe. (Sneddon, 2012).

7.3. Lokalni anestetici

Lokalni anestetici inhibiraju širenje akcijskog potencijala, blokirajući natrijeve kanale te utječu na funkcije membrane što znači da smanjuju bol blokirajući nociceptivni prijenos (Rang, Dale, Ritter i sur.,2003). Anestetik novokain dokazano ublažava refleksne odgovore kod *G. morhua*, dok lidokain pri dozi od 1mg/kg smanjuje sve negativne oblike ponašanja i fiziološke odgovore kod *O. mykiss* (Chervova, (1997).

8. ETIKA

Prihvaćajući činjenicu da ribe osjećaju bol, moramo prihvatiti i činjenicu da je njihova dobrobit ugrožena invazivnim praksama koje uzrokuju oštećenja tkiva. Kao pokusni modeli ribe su izložene mnoštvu škodljivih postupaka kao npr. označivanje, injektiranje, operacije i sl. Takvi postupci ponekad su potrebni kako bi se bolje shvatili i poboljšali razni ekološki uvjeti. Bitno je provesti cost-benefit analizu i zaključiti jesu li postupci opravdani te mogu li dobiveni rezultati dugoročno pomoći u shvaćanju i olakšanju boli. Mnogi procesi u akvakulturi su obavezni iako su invazivni npr. cijepljenje protiv bolesti. Od ekonomskog je značaja da su organizmi u dobrom stanju, stoga je nužno provesti velik broj istraživanja o invazivnim postupcima. Smisao toga je bolje razumijevanje o utjecaju takvih postupaka uz dugoročno poboljšanje uvjeta. Potrebno je poduzeti tri koraka kako bi se ostvarili etički prihvatljivi načini istraživanja:

1. zamjena živih organizama sa staničnim kulturama ili alternativnim organizmima
2. redukcija odnosno smanjenje broja korištenih organizama
3. usavršavanje tj. optimizacija istraživačkih metoda.

Ove su metode primjenjive u industriji do određene mjere što može dovesti do manje invazivnih praksi i poboljšanja tehnike uzgoja (Sneddon, 2006).

S obzirom na činjenice koje jasno prikazuju da ribe imaju sposobnost nocicepcije, znanstvenici bi trebali primjenjivati analgeziju ako ne utječe na rezultate. Trebalo bi primjenjivati humane kriterije prije nego životinja osjeti bol iako to nije moguće ako je bol predmet istraživanja. Potencijalni humani kriteriji su što raniji prekid testiranja nakon bilježenja podataka i pravovremena primjena analgezije. Svi zahvati koji uključuju bušenje ili uklanjanje tkiva moraju biti provedeni pod anestezijom. Potrebno je imati i iskusno osoblje koje će prepoznati promjene u ponašanju i disanje te reagirati na vrijeme (Sneddon 2014).

U svrhu ublažavanja boli i štetnih događaja kod životinja, također je nužno poznavati metode brzog usmrćivanja, te poboljšati ribolovnu tehnologiju. Isto tako akvakulturu je potrebno prilagoditi dobrobiti životinja i smanjiti nasadnu gustoću te manipulaciju svesti na minimum. Transport bi se trebao vršiti na način da se riba zaštiti i što manje izlaže stresu (Ashley i Sneddon, 2007). Primjenom boljih uvjeta za ribe, podiže se cijena za krajnjeg

kupca. Postupanje s životinjama u bilo koje istraživačke svrhe treba biti provedeno na humani način i praćeno smjernicama za humano postupanje s organizmima. Postoje tečajevi koji su obavezni za sve koji rade eksperimente na životinjama (Sneddon, 2006).

9. ZAKLJUČAK

Iako se dugo godina smatralo da ribe nemaju mogućnost osjeta boli, dosadašnja saznanja govore drugačije. Na temelju raznih istraživanja koja su provedena, zabilježeni su rezultati koji potvrđuju prisutnost nociceptora kod određenih morskih vrsta. Takva istraživanja najčešće započinju traženjem dokaza o postojanju nociceptora i prisutnosti A-delta i C vlakana. Sposobnost prepoznavanja potencijalno opasnog ili štetnog događaja, pomaže organizmu da se zaštiti, obrani i umanji rizik od daljnjih oštećenja.

S obzirom na sve navedene činjenice, pretpostavka je da određeni štetni događaji koji izazivaju bol kod ljudi također izazivaju i bol kod životinja. Osnovna razlika je u tome što se u životinja jako teško može procijeniti i izmjeriti intenzitet boli. Budući da je bol izrazito individualnog karaktera, da se zaključiti da ribe ne osjećaju bol na isti način kao i ljudi iako je osjećaju i imaju sposobnost nocicepcije.

Etičko pitanje o korištenju životinja u istraživačke svrhe još uvijek je u potpunosti ne odgovoreno. Međutim zna se da su životinjski modeli nužni u istraživanjima za dobrobit ljudske populacije, zbog toga se u velikoj mjeri i koriste. Takva istraživanja trebala bi se provoditi sukladno zakonima i propisima, uz pravilno korištenje analgezije i human pristup prema životinjama.

10. LITERATURA

Anand, K.J.S., Craig K.D. 1996. New perspectives on the definition of pain. Pain 67: 3-6

Ashley, P.J., Sneddon, L.U., McCrohan, C.R. 2006. Proporties of corneal receptors in teleost fish. Neuroscience Letters 410: 165-168.

Ashely, P.J., Sneddon, L.U., McCrohan. C.R. 2007. Nociception in fish: Stimulus-response propetries of receptors on head of trout (*Oncorhynchus mykiss*). Brain research 1166: 47-54

Ashley, P.J., Sneddon, L.U. 2007. Pain and fear in fish. In fish welfare, ed. E. Branson, pp 49-77. Wiley Blackwell Publishing, London, U.K.

Barr, S., Laming, P.R., Dick, J.T.A., Elwood, R.W. 2008. Nociception or pain in a decapod crustacean? Animal Behaviour 75, 745-751.

Braithwaite, V.A., Huntingford, F.A. 2004. Fish and welfare: can fish perceive pain and suffering? Animal Welfare 1: S87-S92

Braithwaite, V.A. 2010. Do fish feel pain? Oxford University Press, Oxford, U.K.

Broom, D.M. 2001. The evolution of pain. Vlaams diergeneeskundig Tijdschrift 70: 17-21

Brown, C. 2015a. Fish intelligence, sentience and ethics. Animal Cogniton 18,1-17

Brown, C. 2015b. Comparative evolutionary approach to pain perception in fishes. Animal Sentience 2016.

Chervova, L.S., Lapshin, D.N., Kamenskii, A.A. 1994. Pain sensitivity of trout and analgesia induced by intranasal administration of dermorphine. Doklady Biological Sciences 338:424-425.

Chervova, L.S., Lapshin, D.N. 2000. Opioid modulation of pain threshold in fish. Doklady Biological Sciences 375:590-591.

Crook, R.J., Walters, E.T. 2011. Nociceptive behavior and physiology of molluscs: animal welfare implications. ILAR Journal 52, 185-195.

Crook, R.J., Hanlon, R.T., Walters, E.T. 2013. Squid have nociceptors that display widespread long-term sensitization and spontaneous activity after bodily injury. The Journal of Neuroscience. 33, 10021-10026.

Dubin, A.E., Patapoutian, A. 2010. Nocireceptors: The sensors of the pain pathway. Journal of Clinical investigation 120: 3700-3772.

Dunlop, R., Millsopp, S., Laming, P. 2006. Avoidance learning in goldfish (*Carrassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) and implications for pain perception. Applied Animal Behaviour Science 97: 255-271.

Evans D.H., Claiborne J.B., Currie S. 2014. The phisiology of fishes;fourth edition, CRC Press, 10, 327-343.

Gregory, N. 1999. Do fish feel pain? Aust N Z Counc Care Animal Research. Teach News 12:1-12

Iggo, A. 1984. Pain in Animals. Universities Federation for Animal Welfare, Hertfordshire, U.K.

Illich, P.A., Walters, E.T. 1997. Mechanosensory neurons innervating Aplysia siphon encode noxious stimuli and display nociceptive sensitization. The Journal of Neuroscience 17, 459-469.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. 2005. Osnove histologije, udžbenik i atlas prema 10. američkom izdanju. Školska knjiga. Zagreb. str. 161 – 191

Kajiura, S.M., Sebastian, A.P., Tricas, T.C. 2000. Dermal bite wounds as indicators of reproductive seasonality and behaviour in the Atlantic stingray, Dasyatis sabina. Environmental Biology of Fishes 58, 23-31

Kandel, E.R. 2001. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. Science **2**94,1030-1038.

Kavaliers, M. 1998. Evolutionary aspects of the neuromodulation of nociceptive behaviors. American Zoologist 29:1345-1353.

Key, B. 2016. Why fish do not feel pain. Animal Sentience 2016.003.

Martin, A.R., Wickelgren, W.O. 1971. Sensory cells in the spinal cord of the sea lamprey. Journal os Physiology 212: 65-83.

Medina, L., Reiner, A. 2000. Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? Trends Neurosciences 23, 1–12.

Mettam, J.J., McCrohan, C.R., Sneddon, L.U 2012. Characterisation of chemosensory trigeminal receptors in the rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Responses to chemical irritants and carbon dioxide. Journal of Experimental Biology 215: 329-333.

Newby, N.C., Wilkie, M.P., Stevens, E.D. 2009. Morphine uptake, disposition, and analgesic efficacy in the common goldfish (*Carassius auratus*) Canadian Journal of Zoology 87:388-399.

Nordgreen, J., Garner, J.P., Janczak, A.M. i sur. 2009. Thermonociceptionin fish: effects of two different doses of morphine on thermal threshold and post-test behaviour in goldfish (*Carassius auratus*). Applied Animal Behaviour Science 119:101-107,

Porcher, I.F. 2005. On the gestation period of the blackfin reef shark, Carcharhinus melanopterus, in waters off Moorea, French Polynesia. Marine Biology 146, 1207-1211.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. i sur. 2003. Pharmacology. Fifth Edition, London, Churchill Livingstone, p 797.

Rodríguez, R., Broglio, C., Durán, E., Gómez, A., Salas, C. 2011. Neural mechanisms of learning in teleost fish. In Cognition and Behavior 2nd Edition (pp. 243-277). Oxford: Wiley-Blackwell.

Rose, J.D., Arlinghaus, R., Cooke, S.J., Diggles, B.K., Sawynok, W., Stevens, E.D., Wynne, C.D.L. 2014. Can fish really feel pain? Fish Fisheries 15, 97-133.

Seth, A., Baars, B.J., Edelman, D.B. 2005. Criteria for consciousness in humans and other mammals. Consciousness and Cognition 14, 119–139

Sneddon, L.U. 2002. Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. Neuroscience letters 319, 167-171.

Sneddon, L.U. 2003a. Trigeminal somatosensory innervation of the head of a teleost fish with particular reference to nociception. Brain research 972, 44-52.

Sneddon, L.U. 2003b: The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. Applied Animal Behaviour Science 83:153 - 162.

Sneddon, L.U., Braithwaite, V.A., Gentle, M.J. 2003. Novel object test: examining nociception and fear in the rainbow trout. The journal of pain: official journal of the American Pain Society 4:431-440.

Sneddon, L.U. 2006: Ethics and welfare: pain perception in fish. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 26:6-10.

Sneddon, L.U: 2009. Pain perception in fish: indicators and endpoints. ILAR Journal 50:338-342.

Sneddon, L.U. 2011. Pain perception in fish: evidence and implications for the use of fish. Journal of Consciousness Studie 18, 209-229.

Sneddon, L.U., Elwood, R.W., Adamo, S., Leach, M.C. 2014. Defining and assessing animal pain. Animal Behaviour 97, 201-212.

Sneddon, L.U. 2015. Pain in aquatic animals. Journal of Experimental Biology 218, 967-976.

Van den Heuvel, M.P., Sporns, O. 2013. Network hubs in the human brain. Trends in Cognitive Science 17, 683-696.

Internet izvori:

www.scribd.com - pristup 12.08.2018.

www.molluscs.at - pristup 02.08.2018.

www.ribe-hrvatske.com - pristup 15.08.2018.

S punom odgovornošću izjavljujem da sam završni rad izradila samostalno, služeći se navedenim izvorima podataka i uz stručno vodstvo mentorice doc. dr. sc. Tatjane Dobroslavić.

Vesna Pilić