

## HUMAN EXPERIMENTAL PAIN MODELS

## HUMANI MODELI EKSPERIMENTALNOG BOLA

Gligor Mastilović<sup>1,2</sup>, Uroš Konstantinović<sup>3,4</sup>, Olivera Đorđević<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Klinika za rehabilitaciju "Dr Miroslav Zotović", Beograd, Srbija<sup>2</sup> Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija<sup>3</sup> Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija<sup>4</sup> Univerzitet u Beogradu, Filološki fakultet, Beograd, Srbija**Correspondence:** mastilovic.gligor@gmail.com**Abstract**

Pain is an unpleasant sensory experience, associated with existing or potential tissue damage. It has also strong cognitive and emotional components. Stimuli that causes pain goes through process of nociception, which includes transduction, transmission, modulation and perception of said stimuli. Depending on the type of stimuli, we can classify human experimental pain models into mechanical, electrical, thermal and chemical. Information about pain mechanisms can be obtained from the following: 1) in vitro studies, 2) animal experiments, 3) human experimental pain studies and 4) clinical studies. Chosing the appropriate method for pain evaluation is a key step in the design of pain studies. Combining it with different electro-physiological and imaging methods, it can provide better objectivity and quantification of pain mechanisms.

Focus in experimental pain studies is slowly shifting from static parameters of pain, such as pain threshold and maximum tolerance, to dynamic parameters, which can give us valuable insight in function of endogenous analgesic systems. This can be done using conditioned pain modulation.

Using experimental pain on healthy vounteers is key step in switching from animal models to clinical studies, foremost for validization of data from animals, making them important in translational research. Results from experimental pain studies can help us in understanding nociceptive mechanisms of acute and chronic pain, alongside development of new therapeutic modalities.

**Keywords:**experimental pain,  
healthy volunteers,  
mechanical pain,  
thermal pain,  
electrical pain,  
conditioned pain  
modulation (CPM)

## Sažetak

Bol je neprijatno senzorno iskustvo, povezano sa postojećim ili potencijalnim oštećenjem tkiva. Iako je bol u osnovi senzorni stimulus, on je višedimenzionalno senzorno iskustvo zato što ima snažne kognitivne i emocionalne komponente. Stimulus koji uzrokuje bol prolazi kroz proces nocicepcije koji se sastoji od transdukcije, transmisije, modulacije i percepcije bolnog stimulusa. Zavisno od vrste stimulusa, modeli eksperimentalnog bola se mogu podeliti na mehaničke, električne, termalne i hemijske. Informacije o mehanizmima bola dobijamo iz: 1) in vitro studija, 2) animalnih eksperimenata, 3) humanih eksperimentalnih studija sa bolom i 4) kliničkih studija. Ključnu ulogu u dizajnu studije igra i odabir adekvatne metode za procenu bola, a kombinacijom sa različitim elektrofiziološkim i „imaging“ metodama možemo dobiti veću objektivnost, kao i bolju kvantifikaciju i objašnjenje mehanizama bola.

Fokus u eksperimentalnim studijama bola postepeno se prebacuje sa statičkih parametara poput praga bola i maksimalne tolerancije na dinamičke parametre koji mogu pružiti uvid u očuvanost sistema endogene analgezije, što se sprovodi primenom uslovljene modulacije bola.

Primena eksperimentalnog bola na zdravim ispitanicima je ključni korak u prelasku sa animalnih modela na kliničke studije, pre svega zbog validizacije podataka dobijenih na animalnim modelima, što čini ove eksperimentalne studije bitnim u translacionom istraživanju. Rezultati dobijeni iz eksperimentalnih studija bola mogu nam pomoći u daljem razumevanju nociceptivnih mehanizama akutnog i hroničnog bola i razvoju novih terapijskih modaliteta.

### Ključne reči:

eksperimentalni bol,  
zdravi dobrovoljci,  
mehanički bol,  
termalni bol,  
električni bol,  
uslovna modulacija  
bola

## Uvod

Bol je neprijatno senzorno i emocionalno iskustvo, povezano sa postojećim ili potencijalnim oštećenjem tkiva (1). Ključan je u detekciji, upozoravanju i minimalizovanju kontakta sa stimulusom koji dovodi do oštećenja tkiva (2). Iako je bol u osnovi senzorni stimulus, on je višedimenzionalno senzorno iskustvo zato što ima snažne kognitivne i emocionalne komponente, pre svega povezane sa patnjom. Bol je povezan i sa motornim refleksima izbegavanja i dovodi do promena u autonomnom sistemu (3). Po svojim osobinama može da varira u intenzitetu (blag, umeren, jak), kvalitetu (oštar, žareći, tup), trajanju (prolazni, povremeni ili dugotrajni) i lokalizaciji (površni ili dubok, lokalizovan ili difuzan).

Nocicepcija predstavlja nervni proces kodiranja i obrade bolnog stimulusa (1). Sastoji se od procesa transdukcije, transmisije, modulacije i percepcije.

Transdukcija: određeni intenzitet bolnog stimulusa (mehaničkog, termalnog ili hemijskog) dovodi do aktivacije nociceptora i stvaranja akcionog potencijala (4). Nociceptori su slobodni nervni završeci koji se nalaze u koži, mišićima, zglobovima, kostima i unutrašnjim organima. Stvaranje akcionog potencijala je posredovano specifičnim jonskim kanalima, a frekvencija i dužina stvaranja akcionih potencijala direktno su zavisne od intenziteta bolnog stimulusa (3).

Transmisija: stvoreni akcioni potencijali prenose se preko primarnih aferentnih nervnih vlakana (A $\beta$ , A $\delta$  i C) do sistema dorzalne kolumne kičmene moždine. Svako od ovih vlakana prenosi različite vrste senzornih informacija (5). Vlakna A $\beta$  ne učestvuju direktno u transmisiji bola, ali prenose osećaj lakog dodira i taktilne informacije. Vlaknima A $\delta$  prenose se bolne senzacije nastale

mehaničkom i termalnom stimulacijom, a zadužena su i za izvršenje protektivnih refleksa. Najveći deo informacija iz nociceptora prenosi se C-vlaknima – jaki mehanički, termalni i hemijski stimulus.

Modulacija i percepcija: signali iz primarnih aferentnih vlakana putuju do neurona u dorzalnoj kolumni kičmene moždine (neuroni drugog reda), gde dolazi do konvergencije i modulacije signala sa periferije (5). Eferentni signali ovih neurona putuju sponotalamičkim i spinoretikularnim ascendentnim putevima do viših kortikalnih centara zaduženih za dalju obradu, modulaciju i percepciju signala koji biva doživljen kao bol (6).

Mozak kontroliše kompleksne veze koje moduliraju bolne signale ushodnim i nishodnim mehanizmima kontrole bola, utičući na njegovu subjektivnu percepciju (7). Ovi mehanizmi se kolektivno označavaju kao sistem endogene analgezije i mogu se podeliti na 4 glavne regije u kontroli bola (8):

- segmentnu spinalnu inhibiciju (modifikovana „gate-control“ teorija), koja predstavlja interakcije ekscitatornih i inhibitornih interneurona lokalizovanih na nivou dorzalne kolumne kičmene moždine (9);
- difuznu nociceptivnu inhibitornu kontrolu (engl. *Diffuse Noxious Inhibitory Controls*, DNIC)(10), kod ljudi nazvanu uslovna modulacija bola (engl. *Conditioned Pain Modulation*, CPM)(11) u kojoj bol inhibira bol kroz spino-bulbospinalnu petlju i dorzalni nucleus reticularis. Posebno poglavlje ovog rada biće posvećeno opisu CPM i njegovom značaju u ispitivanjima eksperimentalnog bola;
- inhibiciju bolnih signala kroz široku mrežu lokalizovanu u moždanom stablu u

periakvaduktalnoj sivoj masi i rostralnoj ventromedijalnoj meduli sa mogućnošću modulacije bolnih signala (12);

- kontrolu od strane viših moždanih struktura gde se najviše ispoljava uticaj kognitivnih i afektivnih moždanih centara u subjektivnom doživljaju bola (13).

Prethodne decenije dovele su do velikog napretka u razumevanju mehanizama nastanka bola, a samim tim i do razvoja dijagnostičkih metoda, procedura i supstanci koje mogu da deluju specifično na te mehanizme (14). Informacije o mehanizmima bola dobijamo iz: 1) *in vitro* studija, 2) animalnih eksperimenata, 3) eksperimentalnih studija sa bolom i 4) kliničkih studija. Većina našeg znanja o bolu potiče iz animalnih studija. Međutim, nemogućnost verbalne komunikacije je značajna prepreka u evaluaciji bola, te se procena pre svega vrši neurofiziološkim ili bihevioralnim odgovorom na nociceptivni stimulus (10). Pored toga, postoje značajne razlike u odgovoru na bolni stimulus između različitih vrsta životinja (8). Usled ovih ograničenja, humani modeli eksperimentalnog bola predstavljaju svojevrsan most između animalnih modela i kliničkih studija u ispitivanjima koja se bave bolom.

U sprovođenju istraživanja sa humanim modelima eksperimentalnog bola istraživač kontroliše prirodu, lokalizaciju, intenzitet, trajanje i frekvenciju indukovano bola, uz ocenu neurofizioloških i psiholoških promena u ponašanju ispitanika (15). Izazvane senzacije mogu se proceniti subjektivnim metodama koje mogu biti: kvantitativne (Vizuelno-analogni skala 0-10 npr.) ili kvalitativne (različiti jednodimenzionalni ili multidimenzionalni upitnici poput Mekgilovog upitnika za bol, engl. *McGill Pain Questionnaire*) (8), a mogućnost komunikacije omogućava i procenu uticaja na psihološke veze između stimulusa i odgovora. Odgovor na bolnu senzaciju se može proceniti i kvantifikovati i objektivnim metodama: praćenjem nociceptivnog refleksa povlačenja, merenjem cerebralnih evociranih potencijala i različitim „*imaging*“ metodama koje vizualizuju nervne strukture zadužene za procesiranje i obradu bola (8).

Cilj ovog rada je da upozna čitaoca sa osnovama metoda različitih modela humanog eksperimentalnog bola i obrazloži različite prednosti i limitacije svakog od njih.

## Osnove eksperimentalnog bola

U sprovođenju istraživanja sa eksperimentalnim bolom potreban nam je stimulus koji će izazvati bol i merljiv odgovor na primenjeni stimulus (16). Idealan model eksperimentalnog bola bi trebalo da ispunjava sledeće karakteristike:

- neinvazivnost i bez oštećenja tkiva;
- merljivost – jasna povezanost između stimulusa i osećaja bola;
- specifičnost – uzrokuje samo bol a ne i druge senzacije;
- senzitivnost – merljiv u etički prihvatljivom rasponu i psihološki relevantan;

- ponovljivost – stimulus se može ponavljati bez promena u odgovoru.

Zavisno od vrste stimulusa, modeli eksperimentalnog bola se mogu podeliti na mehaničke, električne, termalne i hemijske. Nijedan od modela eksperimentalnog bola koji su u upotrebi danas, međutim, ne ispunjava kriterijume za idealan model eksperimentalnog bola.

## Mehanička stimulacija

Dodir: sprovodi se primenom lake mehaničke sile pomoću prsta (17), komadića vate ili von Frejevog filameta (kalibrirani filamenti koji se savijaju pri primeni određenog pritiska) (18). Osećaj dodira je posredovan A $\beta$  vlaknima i mehanoreceptorima sa niskim pragom aktivacije (19). Kako osećaj dodira i lakog mehaničkog pritiska normalno ne izaziva bol, ovaj model se primarno koristi u proceni eksperimentalno izazvane alodinije (proces u kome stimulus koji normalno ne izaziva bol, dovodi do bolne senzacije) i hiperalgezije (pojačane osetljivosti na bolni stimulus) (20).

Ubod: sprovodi se ubodom igle (21) ili debelog von Frejevog filameta (22). Prilikom uboda prvenstveno dolazi do aktivacije A $\delta$  vlakana (20). Glavni nedostaci ove metode su to što brzo izazivanje bola ne dovodi do istovremene eksitacije nervnih vlakana, a izazivanje nocicepcije ubodom dovodi do senzitivacije i oštećenja tkiva (23).

Pritisak: upotreba algometrije predstavlja jedan od najčešće korišćenih modela mehaničkog eksperimentalnog bola. Bol se izaziva pomoću ručnog standardizovanog algometra, vršenjem pritiska na mekotkivne strukture ili koštane prominencije i očitavanjem sile (kPa) koja je potrebna da se pritiskom izazovu bol i maksimalna tolerancija bola (24). Smatra se da je osećaj bola u ovoj metodi posredovan pre svega A $\delta$  i C-vlaknima (20) a, bol koji nastaje prilikom ove metode kombinacija je aktivacije mehaničke stimulacije i lokalne ishemije (8). Glavni nedostaci ručnog algometra predstavljaju varijabilnost između različitih istraživača usled varijacije u brzine povećanja pritiska, što se može redukovati upotrebom kompjuterizovanog automatizovanog algometra (25). Značajno ograničenje algometrije je što bol nastaje kombinovanom aktivacijom receptora u koži, mišićima i periorstu, te nije specifična za određenu strukturu (25). Takođe, veličina sonde kojom se vrši pritisak značajno utiče na brzinu nastanka bola i maksimalnu toleranciju (26).

## Električna stimulacija

Električna stimulacija je najčešći metod izazivanja eksperimentalnog bola. Koriste se različiti uređaji, tj. električni stimulatori koji generišu i distribuiraju električne impulse putem elektroda na koži ili u mišićima. Zavisno od obilka elektrode, regije primene, intenziteta, frekvencije i trajanja stimulacije, mogu se aktivirati različita nervna vlakna – A $\delta$ , C ili mehanoreceptivna vlakna (27). Različiti protokoli električne stimulacije u eksperimentalnim

modelima bola mogu da simuliraju akutni bol ili sumacijom nadražaja neuropatski bol, sa pratećom hiperalgezijom i alodinijom, što omogućava istraživanje praga bola i endogene modulacije (28). Prednosti električne stimulacije su njena jednostavnost primene, ponovljivost i mogućnost objektivne kvantifikacije (28). Mane električne stimulacije su što se prilikom korišćenja ove procedure aktiviraju različita aferentna vlakna, od kojih neka i nisu primarno nociceptivna, kao i artificalnost same procedure (27). Takođe, različiti delovi tela mogu imati različitu električnu impedansu kod ispitanika, što može da utiče na rezultate i ponovljivost ispitivanja (10).

## Termalna stimulacija

**Hladnoća:** korišćenje hladnoće kao eksperimentalnog modela bola može se sprovesti pomoću primene leda, ohlađenih gel kesa ili uranjanjem ekstremiteta u hladnu vodu (29). Smatra se da je kod ljudi osećaj hladnoće primarno posredovan A $\delta$  vlaknima, dok se osećaj bola u hladnoći primarno prenosi C-vlaknima (30). Prednosti termalne stimulacije u ispitivanju bola su, pre svega, to što se toplota i hladnoća prenose drugačijim vlaknima (toplota malim nemijelinizovanim, hladnoća mijelinizovanim), uz mogućnost tačne procene praga na kome se javlja bol, što ujedno omogućava ispitivanje očuvanosti ovih vlakana koja su inače nedostupna elektrofiziološkim ispitivanjima (31). Ograničenje ove metode je u velikoj varijabilnosti u pragu i maksimalnoj toleranciji bola ispitanika, kao i u nedostatku standardizacije u dužini stimulacije i merljivosti odgovora (8).

**Kontaktna toplota:** primenjuje se pomoću kontaktne termode na kojoj se može regulisati temperatura. Kako bi se izbeglo oštećenje tkiva preporuka je da maksimalna temperatura u ovoj metodi ne prelazi 50 °C (32). Brzim povećanjem toplote uzrokuje prvo aktivaciju A $\delta$  vlakana, gde se osećaj opisuje kao „prvi bol“, koji je naknadno praćen bolom koji se prenosi C-vlaknima („drugi bol“), koji se opisuje kao žareći tupi bol (33). Za razliku od toga, sporo zagrevanje (sporije od 1 °C/s) primarno aktivira C-vlakna (34). Nedostaci ove metode leže u tome što zavisno od veličine kontaktne površine termode sa kožom i njenog pritiska na kožu mogu postojati razlike u transferu temperature, što otežava komparaciju između različitih studija (10).

**Radijaciona toplota:** koristi se pulsirajući izvor svetlosti – laser, koji uzrokuje posebnu vrstu toplotnog nekontaktnog bola (32, 35). Laserski pulsevi izazivaju simultanu aktivaciju A $\delta$  i C-vlakana, a bol koji se oseća u ovom modelu opisuje se kao peckajući (36). Uz to, korišćenje kratkih pulseva visokog intenziteta može da izazove selektivnu aktivaciju i bol koje prenosi samo A $\delta$  vlaknima, dok niski intenzitet stimulacije može da dovede do bola koji se prenosi samo C-vlaknima, što omogućava ispitivanja mehanizama dve različite vrste bola istim modalitetom (37).

Prednosti ove metode su njena relativno laka ponovljivost i kontrola. Osim toga, ovaj model predstavlja čisto termalnu stimulaciju kože (37). Ograničenja se ogledaju u različitoj apsorpciji epidermisa ispitanika, što može da dovede do interindividualne varijabilnosti, kao i visokoj

cenj opreme neophodne za izvođenje ovog modela (36). Zabeleženo je i da različite vrste lasera mogu da izazovu različite senzacije bola zavisno od dubine penetracije u tkiva (38).

## Hemijska stimulacija

**Kapsaicin:** topikalna aplikacija ili intradermalna injekcija kapsaicina – iritantnog sastojka koji paprici daje ljutinu, dovodi do eksperimentalno indukovano bola i hiperalgezije (39). Ovaj model se koristi u ispitivanjima kao klasičan model eksperimentalno indukovano neuropatskog bola. Smatra se da je spontani bol u ovom modelu posredovan direktnim vezivanjem kapsaicina za TRPV1 receptore, što dovodi do sniženja praga bola i povećanja aktivacije nociceptora (39). Ovaj bol prenosi se nemijelinizovanim C-vlaknima (40). Pored toga, na području primene dolazi do razvoja sekundarne hiperalgezije (41) posredovane A $\delta$  i C-vlaknima, uz razvoj mehaničke alodinije posredovane A $\beta$  vlaknima (42).

Iako je ovaj model standardizovan i izaziva stabilnu, dugodelujuću i lako ponovljivu primarnu i sekundarnu hiperalgeziyu, farmakološka testiranja različitih susstanci koje se koriste u terapiji neuropatskog bola pokazala su varijabilne odgovore između studija. Primera radi, u studijama koje su ispitivale uticaj lekova koji se koriste u terapiji neuropatskog bola, primena lamotrigina i desipramina nije dovela do redukcije bola (40, 43), dok je primena gabapentina dovela do značajne redukcije hiperalgezije (44).

## Uslovna modulacija bola

Fokus u istraživanjima bola postepeno se prebacuje sa procene statičkih parametara, poput praga i maksimalne tolerancije bola, na dinamičke parametre koji mogu pružiti bolji uvid u funkciju modulatornih sistema za bol kod pacijenta (11). Kako je percepcija bola regulisana od strane mehanizama endogene analgezije, isti nociceptivni stimulus, u zavisnosti od kapaciteta i očuvanosti ovih mehanizama, može izazvati različite odgovore među ispitivanim pojedincima (45).

Ova istraživanja su originalno započeta na životinjama, gde primena drugog uslovnog bolnog stimulusa na jednom segmentu dovodi do smanjenog nociceptivnog odgovora na primenu bolnog stimulusa na drugom segmentu. Ovaj fenomen je nazvan difuzna nociceptivna inhibitorna kontrola (DNIC) (46). Kod životinja se aktivnost kompetitivnih inhibitornih i facilitatornih sistema može zasebno proceniti (47). Kod ljudi je moguće samo izmeriti ukupnu sumaciju odgovora između facilitatornih i inhibitornih sistema (48). Upravo iz ovog razloga stvorena je paradigma uslovne modulacije bola (CPM) koja bi bolje opisala mehanizme za procenu očuvanosti sistema endogene analgezije kod ljudi (11).

Istraživanja CPM su zasnovana na principu da „bol inhibira bol“, tako da dodatni (uslovljavajući) bolni stimulus smanjuje osećaj bola ispitanog stimulusa preko

sistema endogene analgezije. Ova istraživanja se sprovode tako što se na ispitivanom pacijentu prvo primenjuje jedan od prethodno opisanih modela eksperimentalnog bola (test stimulus). Potom se na drugom delu tela primenjuje drugi model eksperimentalnog bola (kondicionirani stimulus), uz praćenje i kvantifikaciju redukcije bola pomoću subjektivnih ili objektivnih metoda za procenu bola, pre/tokom/posle primene uslovljavajućeg stimulusa (49). Intenzitet bola test stimulusa će biti niži tokom i posle primene kondicioniranog stimulusa usled aktivacije sistema endogene analgezije (50).

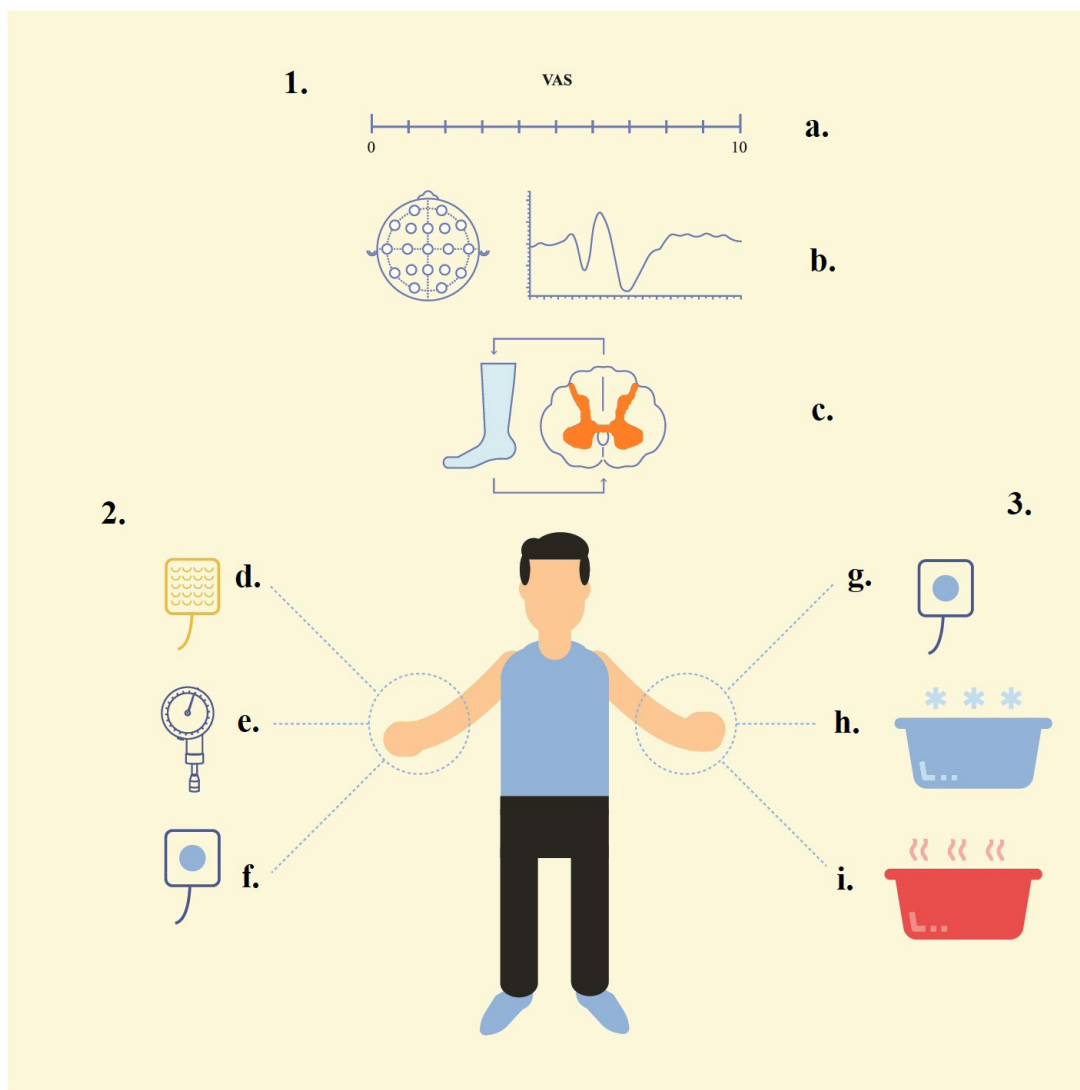
Anatomska osnova ovog sistema još uvek nije u potpunosti razjašnjena, ali se smatra da CPM funkcioniše kroz spinobulbospinalnu petlju sa ushodnim putevima koji se pružaju u ventrolateralne funikule, uz aktivaciju subnukleus reticularis dorsalis u meduli oblongati i nishodnim putevima u dorzolateralnom funikulusu (51).

Klinički značaj modulatornih sistema u CPM pokazan je kroz brojne studije, u kojima je utvrđena povezanost

između redukovane aktivnosti ovih sistema i postojanja 1) idiopatskih bolnih stanja (45) poput fibromialgije, sindroma nemirnih creva, tenzionih glavobolja i poremećaja temporomandibularnog zgloba, 2) povećanja rizika od razvoja hroničnog postoperativnog bola (52) i češće opioidno indukovane hiperalgezije kod kancerskih bolesnika (53). Zdravi ispitanici kojima je očuvana CPM prijavljuju značajno manje bolnih epizoda i bolje psihičko funkcionisanje u svakodnevnom životu (54).

## Zaključak

Idealan eksperimentalni model bola i potpuno objektivni način za njegovu procenu ne postoje. Sama studija mora da bude etički prihvatljiva, a adekvatan odabir modela eksperimentalnog bola za ispitivanu susptancu ili proceduru, kao i ponovljivost modela igraju ključnu ulogu u dizajnu studije. Zavisno od odabranog modela, neophodno je korišćenje adekvatne metode za



**Slika 1.** Shematska ilustracija CPM. Uslovna modulacija bola predstavlja redukciju bolnosti ispitivanog bolnog stimulusa usled primene drugog kondicioniranog bolnog stimulusa. Promena u redukciji bolnosti (1) se može ispitati (a) primenom skala za procenu bola (VAS), (b) pomoću objektivnih metoda poput praćenja evociranih moždanih potencijala ili kvantitativnog senzornog testiranja ili (c) praćenjem nociceptivnih refleksa povlačenja.

Kao ispitivani bolni stimulus (2), najčešće se koriste (d) električna stimulacija, (e) mehanički pritisak izazvan algometrom ili (f) kontaktna toplota uz pomoć termoda.

Uslovljavajući bolni stimulus se izaziva (g) kontaktnom toplotom pomoću termode, (h) kontaktnom hladnoćom uranjanjem ruke u ledenu kupku ili (i) uranjanjem ruke u toplu vodu.

procenu bola, a kombinacija sa različitim elektrofiziološkim i "imaging" metodama može nam pružiti veću objektivnost u proceni, kvantifikaciji i objašnjenju mehanizama bola.

Odabir metodologije i dizajn studija mogu se značajno razlikovati između ustanova koje se bave istraživanjem bola. Zbog toga standardizacija modela eksperimentalnog bola povećava njihovu ponovljivost i validnost, omogućavajući upoređivanje rezultata, dok razvoj komercijalne opreme u testiranju bola omogućava bolje sprovođenje ovakvih studija.

Primena eksperimentalnog bola na zdravim ispitanicima ključni je korak u prelasku sa animalnih modela na kliničke studije, pre svega zbog validizacije podataka dobijenih na animalnim modelima, što ove eksperimentalne studije čini bitnim u translacionom istraživanju. Rezultati dobijeni iz eksperimentalnih studija bola mogu nam pomoći u daljem razumevanju nociceptivnih mehanizama akutnog i hroničnog bola i razvoju novih terapijskih modaliteta.

## Literatura

- Loeser JD, Treede R-D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*. 2008 Jul 31;137:473-7.
- Woolf CJ. What is this thing called pain? Vol. 120, *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation; 2010. p. 3742-4.
- Woolf CJ. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Ann Intern Med*. 2004;140:441-51.
- McCleskey EW, Gold MS. Ion Channels of Nociception. *Annu Rev Physiol*. 1999 Mar 28;61:835-56.
- D'Mello R, Dickenson AH. Spinal cord mechanisms of pain. *Br J Anaesth*. 2008;101:8-16.
- Steeds CE. The anatomy and physiology of pain. *Surg (United Kingdom)*. 2016;34:55-9.
- Fields HL BA and HM. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: *Textbook of Pain*. Elsevier Churchill Livingstone, London.; 2006. p. 125-142.
- Olesen AE, Andresen T, Staahl C, Drewes AM. Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. *Pharmacol Rev*. 2012;64:722-79.
- Maxwell DJ, Belle MD, Cheunsuang O, Stewart A, Morris R. Morphology of inhibitory and excitatory interneurons in superficial laminae of the rat dorsal horn. *J Physiol*. 2007 Oct 15;584:521-33.
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001;53:597-652.
- Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): Its relevance for acute and chronic pain states. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2010 Oct;23:611-5.
- Heinricher MM, Morgan MM. Supraspinal Mechanisms of Opioid Analgesia. *Opioids Pain Control*. 2010;46-69.
- Moont R, Pud D, Sprecher E, Sharvit G, Yarnitsky D. "Pain inhibits pain" mechanisms: Is pain modulation simply due to distraction? *Pain*. 2010;150:113-20.
- Vardeh D, Mannion RJ, Woolf CJ. Toward a Mechanism-Based Approach to Pain Diagnosis. Vol. 17, *Journal of Pain*. Churchill Livingstone Inc.; 2016. p. T50-69.
- Reddy KSK, Naidu MUR, Rani PU, Rao TRK. Human experimental pain models: A review of standardized methods in drug development. *J Res Med Sci*. 2012 Jun;17:587-95.
- Arendt-Nielsen L, Yücel A. Induction and assessment of experimental pain from human muscle. *Agri*. 2000;12:9-14.
- Rocco AG, Raymond SA, Murray E, Dhingra U, Freiburger D. Differential spread of blockade of touch, cold, and pinprick during spinal anesthesia. *Anesth Analg*. 1985 Sep;64:917-23.
- Liu SS, Ware PD. Differential sensory block after spinal bupivacaine in volunteers. *Anesth Analg*. 1997;84:115-9.
- Burke D, Mackenzie RA, Skuse NF, Lethlean AK. Cutaneous afferent activity in median and radial nerve fascicles: A microelectrode study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1975;38:855-64.
- Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L. Sensory assessment of regional analgesia in humans: a review of methods and applications. *Anesthesiology*. 2000;93:1517-30.
- Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Zbinden AM. Epidural epinephrine and clonidine: Segmental analgesia and effects on different pain modalities. *Anesthesiology*. 1997;87:785-94.
- Butterworth J, Ririe DG, Thompson RB, Walker FO, Jackson D, James RL. Differential onset of median nerve block: Randomized, double-blind comparison of mepivacaine and bupivacaine in healthy volunteers. *Br J Anaesth*. 1998;81:515-21.
- Staahl C, Drewes AM. Experimental human pain models: A review of standardised methods for preclinical testing of analgesics. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004 Sep;95:97-111.
- Fischer AA. Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity and reproducibility of pressure threshold. *Pain*. 1987;30:115-26.
- Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L. Induction and assessment of muscle pain, referred pain, and muscular hyperalgesia. *Curr Pain Headache Rep*. 2003 Nov;7:443-51.
- Greenspan JD, McGillis SLB. Stimulus features relevant to the perception of sharpness and mechanically evoked cutaneous pain. *Somatosens Mot Res*. 1991 Jan 10;8:137-47.
- Mouraux A, Iannetti GD, Plaghki L. Low intensity intra-epidermal electrical stimulation can activate A $\delta$ -nociceptors selectively. *Pain*. 2010;150:199-207.
- Koppert W, Dern SK, Sittl R, Albrecht S, Schüttler J, Schmelz M. A new model of electrically evoked pain and hyperalgesia in human skin: The effects of intravenous alfentanil, S(+)-ketamine, and lidocaine. *Anesthesiology*. 2001;95:395-402.
- Modir JG, Wallace MS. Human experimental pain models 2: the cold pressor model. *Methods Mol Biol*. 2010;617:165-8.
- Fowler CJ, Sitzoglou K, Ali Z, Halonen P. The conduction velocities of peripheral nerve fibres conveying sensations of warming and cooling. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51:1164-70.
- Fowler CJ, Sitzoglou K, Ali Z, Halonen P. The conduction velocities of peripheral nerve fibres conveying sensations of warming and cooling. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51:1164-70.
- Arendt-Nielsen L, Chen ACN. Lasers and other thermal stimulators for activation of skin nociceptors in humans. *Neurophysiol Clin*. 2003;33:259-68.
- Hughes AM, Rhodes J, Fisher G, Sellers M, Growcott JW. Assessment of the effect of dextromethorphan and ketamine on the acute nociceptive threshold and wind-up of the second pain response in healthy male volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53:604-12.
- Handwerker HO, Kopal G. Psychophysiology of experimentally induced pain. *Physiol Rev*. 1993 Jul 1;73:639-71.
- Arendt-Nielsen L. First pain event related potentials to argon laser stimuli: Recording and quantification. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990;53:398-404.
- Bromm B, Treede RD. Laser-evoked cerebral potentials in the assessment of cutaneous pain sensitivity in normal subjects and patients. *Rev Neurol (Paris)*. 1991;147:625-43.
- Tzabazis AZ, Klukinov M, Crottaz-Herbette S, Nemenov MI, Angst MS, Yeomans DC. Selective nociceptor activation in volunteers by infrared diode laser. *Mol Pain*. 2011 Aug 5;7:1744-8069-7-18.
- Svensson P, Bjerring P, Arendt Nielsen L, Nielsen JC, Kaaber S. Comparison of four laser types for experimental pain stimulation on oral mucosa and hairy skin. *Lasers Surg Med*. 1991;11:313-24.
- Culp WJ, Ochoa J, Cline M, Dotson R. Heat and mechanical hyperalgesia induced by capsaicin: Cross modality threshold modulation in human c nociceptors. *Brain*. 1989;112:1317-31.

40. Wallace MS, Barger D, Schulteis G. The effect of chronic oral desipramine on capsaicin-induced allodynia and hyperalgesia: A double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *Anesth Analg*. 2002;95:973–8.
41. Koltzenburg M, Torebjörk HE, Wahren LK. Nociceptor modulated central sensitization causes mechanical hyperalgesia in acute chemogenic and chronic neuropathic pain. *Brain*. 1994;117:579–91.
42. Scanlon GC, Wallace MS, Ispirescu JS, Schulteis G. Intradermal capsaicin causes dose-dependent pain, allodynia, and hyperalgesia in humans. *J Investig Med*. 2006;54:238–44.
43. Petersen KL, Maloney A, Hoke F, Dahl JB, Rowbotham MC. A randomized study of the effect of oral lamotrigine and hydromorphone on pain and hyperalgesia following heat/capsaicin sensitization. *J Pain*. 2003;4:400–6.
44. Dirks J, Petersen KL, Rowbotham MC, Dahl JB. Gabapentin suppresses cutaneous hyperalgesia following heat-capsaicin sensitization. *Anesthesiology*. 2002;97:102–7.
45. Lewis GN, Rice DA, McNair PJ. Conditioned pain modulation in populations with chronic pain: A systematic review and meta-analysis. Vol. 13, *Journal of Pain*. 2012. p. 936–44.
46. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain*. 1979;6:283–304.
47. Gozariu M, Bragard D, Willer JC, Le Bars D. Temporal summation of C-fiber afferent inputs: Competition between facilitatory and inhibitory effects on C-fiber reflex in the rat. *J Neurophysiol*. 1997;78:3165–79.
48. Willer JC, De Broucker T, Le Bars D. Encoding of nociceptive thermal stimuli by diffuse noxious inhibitory controls in humans. *J Neurophysiol*. 1989;62:1028–38.
49. Goubert D, Danneels L, Cagnie B, Van Oosterwijck J, Kolba K, Noyez H, et al. Effect of Pain Induction or Pain Reduction on Conditioned Pain Modulation in Adults: A Systematic Review. Vol. 15, *Pain Practice*. Blackwell Publishing Inc.; 2015. p. 765–77.
50. Tousignant-Laflamme Y, Pagé S, Goffaux P, Marchand S. An experimental model to measure excitatory and inhibitory pain mechanisms in humans. *Brain Res*. 2008;1230:73–9.
51. Le Bars D. The whole body receptive field of dorsal horn multi-receptive neurones. *Brain Res Rev*. 2002;40:29–44.
52. Yarnitsky D, Crispel Y, Eisenberg E, Granovsky Y, Ben-Nun A, Sprecher E, et al. Prediction of chronic post-operative pain: Pre-operative DNIC testing identifies patients at risk. *Pain*. 2008 Aug;138:22–8.
53. Ram KC, Eisenberg E, Haddad M, Pud D. Oral opioid use alters DNIC but not cold pain perception in patients with chronic pain - New perspective of opioid-induced hyperalgesia. *Pain*. 2008;139:431–8.
54. Edwards RR, Ness TJ, Weigent DA, Fillingim RB. Individual differences in diffuse noxious inhibitory controls (DNIC): Association with clinical variables. *Pain*. 2003;106:427–37.