МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
Медицински факултет
Катедра по патофизиология

Кристина Живкова Грънчарска

ОЦЕНКА НА ДЪЛБОКА МЕХАНИЧНА БОЛКА И ПРОМЕНИ ПРИ СУБМАКСИМАЛНИ ФИЗИЧЕСКИ НАТОВАРВАНИЯ ПРИ ЗДРАВИ НЕТРЕНИРАНИ МЪЖЕ

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователната и научна степен "ДОКТОР"
по научната специалност патофизиология

Научни ръководители:
проф. д-р Невена Пенчева
проф. д-р Адриана Бочева, д.м.

София
2014 година

- *Изказвам своята най-искрена и дълбока благодарност на научните ми ръководители проф. д-р Невена Пенчева и проф. д-р Адриана Бочева за идеите и подкрепата при разработването и оформянето на настоящия дисертационен труд, както и за съветите, конструктивната критика и търпението, без които този труд не би бил възможен.*

- *Изказвам благодарност и на проф. д-р Александър Стойнев и всички колеги от Катедрата по патофизиология за подкрепата им по време на разработването на настоящата дисертация и възможността да завърша докторантското си обучение.*

- *Изказвам благодарност на проф. Mark Johnson и целия екип от Pain Research Centre, Leeds Metropolitan University, UK за възможността да проведа експериментална работа в този център.*

- *Изказвам благодарност на доц. д-р Бойчо Ланджов и проф. Анастасия Божилова от Катедрата по анатомия, хистология и ембриология на МУ – София, за съдействието им при извършване на хистохимичните изследвания.*

- *Благодаря на сина, семейството и приятелите си за търпението, разбирането и подкрепата.*

СЪДЪРЖАНИЕ

			стр.
1.	**ВЪВЕДЕНИЕ**		**5**
2.	**ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР**		**7**
	2.1.	**Хипоалгезия индуцирана при физическо натоварване**	**8**
		2.1.1. Стрес-индуцирана аналгезия	**8**
		2.1.2. Физическото натоварване като стрес	**18**
		2.1.3. Хипоалгезия при натоварване. Модулация на мускулната сила	**20**
	2.2.	**Опиоидна и канабиноидна модулация на базалната ноцицепция и болковата перцепция при имобилизация и физическо натоварване**	**27**
	2.3.	**Забавена мускулна болезненост (DOMS) след ексцентрични мускулни съкращения**	**38**
		2.3.1. Специфика на ексцентричните мускулни съкращения и феноменът DOMS	**38**
		2.3.2. Молекулни механизми на DOMS	**40**
		2.3.3. Експериментални модели на DOMS	**45**
	2.4.	**Методология за оценка на експериментална болка при хора, индуцирана при стимулиране на дълбоки механорецептори**	**46**
3.	**ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР**		**51**
4.	**ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**		**52**
5.	**МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**		**54**
	5.1.	**Изследвани лица, антропометрични данни и експериментални протоколи**	**54**
	5.2.	**Методи за оценка на експериментална болка при механична стимулация**	**59**
		5.2.1. Оценка на болков праг чрез палпация	**59**
		5.2.2. Оценка на болков праг, болков толеранс и болков рейтинг чрез турникетова техника с апарат за кръвно налягане	**59**
		5.2.3. Оценка на болков праг, болков толеранс и болков рейтинг чрез турникетова техника с манометър до 600 mmHg	**59**
		5.2.4. Оценка на болков праг, болков толеранс и стимул-отговор крива с компютъризирана система за пресорна алгометрия	**60**
		5.2.5. Оценка на болков праг с ръчен електронен алгометър Somedic	**61**
	5.3.	**Модели на физическо натоварване**	**63**
		5.3.1. Стъпаловидно натоварване до отказ с велоергометър	**63**
		5.3.2. Стъпаловидно натоварване до отказ с тредмил	**64**
		5.3.3. Натоварване с изокинетичен динамометър	**64**
		5.3.4. Тест на Купър	**65**
	5.4.	**Натоварване с преобладаващи ексцентрични мускулни съкращения**	**65**
		5.4.1. Модел за флексорите на лакътя с тежест	**65**
		5.4.2. Модел за флексорите на лакътя с изокинетичен динамометър	**66**
		5.4.3. Модел с ръчен динамометър на мускул flexor digitorum profundus	**66**
	5.5.	**Ноцицептивни тестове при имобилизационен стрес и натоварване при плъхове**	**67**
		5.5.1. Експериментални животни	**67**
		5.5.2. Ноцицептивни тестове	**67**
		5.5.3. Модели на имобилизационен стрес	**67**
		5.5.4. Модел на физическо натоварване с плуване	**68**
	5.6.	**Имунохистохимично изследване**	**69**
	5.7.	**Статистически подходи**	**71**

6. РЕЗУЛТАТИ 72
6.1. Ефекти на хипоалгезия индуцирана при физическо натоварване 72
6.1.1. Изследване на базалната ноцицепция и промени при натоварване 72
6.1.2. Изследване на връзката между силови изокинетични характеристики и параметри на болката при натоварване 77
6.1.3. Сравнителни изследвания на болкови параметри при нетренирани и тренирани лица 84
6.2. Изследване на болковата перцепция при имобилизация и при физическо натоварване с експериментални животни 88
6.2.1. Резултати от изследвания при имобилизация 88
6.2.1.1. Базална ноцицепция 88
6.2.1.2. Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при остър имобилизационен стрес 92
6.2.1.3. Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при хроничен имобилизационен стрес 95
6.2.2. Резултати от изследвания при плуване 97
6.2.2.1 Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при остър стрес 98
6.2.2.2 Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при хроничен стрес 101
6.3. Изследване на хипералгезията при ексцентрични мускулни съкращения – мускулна треска (DOMS) 105
6.3.1. При флексори на мишницата с тежест 105
6.3.2. При флексори на мишницата с изокинетичен динамометър 107
6.3.3. При мускул flexor digitorum profundus 112
7. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ 114
8. ИЗВОДИ 137
9. ПРИНОСИ 139
10. БИБЛИОГРАФИЯ 140
11. СПИСЪК НА ПРОЕКТИ, ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 165
12. ПРИЛОЖЕНИЯ 168
12.1. Декларации за информирано съгласие на изследваните лица 169
12.2. Протоколи от проведени изследвания 172
12.3. Въпросник на McGill 175

СПИСЪК НА СЪКРАЩЕНИЯТА

На кирилица

АКТХ – аденокортикотропен хормон

ВНС – вегетативна нервна система

ГАМК – γ– аминомаслена киселина

ЕК – ендоканабиноиди

ЕКС – ендогенна канабиноидна система

ЕОС – ендогенна опиоидна система

СИА – стрес-индуцирана аналгезия

ХИФН – хипоалгезия индуцирана при физическо натоварване

ФН – физическо натоварване

ЦНС – централна нервна система

На латиница

2-AG – 2 - arachidonylglycerol

CB1 – канабиноиден рецептор тип 1

CB2 – канабиноиден рецептор тип 2

DOMS – delayed onset of muscle soreness

GS – m. gastrocnemius-m. soleus

HP – латентност – болков праг, определен с термичен дразнител чрез hot plate тест като латентност

PAG - periaqueductal gray

PFC – префронтален кортекс

TRPV1- transient receptor potential cation channel subfamily V member 1(vanilloid receptor 1)

RVM – rostral ventromedial medulla

PP – болков праг – болков праг, определен с механичен дразнител чрез paw pressure тест

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Промените в болковата перцепция, индуцирани при физическо натоварване са актуални, защото корелират с фундаментални страни на скелетно - мускулната работа като генериране на сила, издръжливост и работоспособност при нетренирани хора и при спортисти, а също с методи в рехабилитационната практика и спортно - тренировъчния процес. Тези промени са най-манифестирани при стимулация на дълбоки механорецептори. Те са разнопосочни и водят както до хипоалгезия, възникваща по механизма на стрес-индуцираната аналгезия, така и до хипералгезия (DOMS) която се генерира със забавено начало чрез микроувреди, но отключва биологически целесъобразна и уникална адаптация и ремоделиране в различни структури на опорно-двигателния апарат. Тези аспекти на болката не са изследвани в България, а техните многообразни проявления и механизми са недостатъчно проучени и изяснени в литературата. Това мотивира настоящата разработка. Преподавателската ни дейност в областта на физиологията, биохимията и биомеханиката на физическото усилие, физическото натоварване и спортната тренировка, както и предишни изследвания върху болкови прагове при хора и ендогенната опиоидна система чрез ноцицептивни тестове с експериментални животни, ни позволиха използването на разнообразни експериментални подходи, по отношение на методите за оценка на експериментална болка при хора, а също и при моделите с натоварване. Първоначално си поставихме цели, свързани с изследване на хипоалгезията, индуцирана при различни модели на физическо натоварване и спецификата на промените при сравнително проследяване на натоварени и ненатоварени мускулни групи, доминантен и недоминантен крайник, ниво на тренираност и др., както по отношение на базалната ноцицепция, така и след натоварване. В последствие проучихме корелацията между хипоалгезията и мускулната сила, с цел изследване на връзката между базалната ноцицепция и трайната модулация на моторния контрол, свързан с генериране на сила.

Известното, в литературата, състояние "runner’s high", с което се свързват различни емоционални и физически промени при натоварване, дълго време се интерпретира единствено с промени на плазмените нива на бета-ендорфина („ендорфинова” хипотеза). През последните 10 години обаче, вниманието е насочено към модулацията на тези промени и към ендогенно освободени канабиноиди (анандамид и 2-arachidonylglycerol) при физическо усилие. За изясняване на механизмите на получените експериментални данни при здрави мъже върху стрес - индуцираните при физическо натоварване, хипоалгезичните ефекти, проведохме серия от експерименти с опитни животни върху антиноцицептивни

ефекти на блокери на опиоидни и канабиноидни рецептори при остър и хроничен стрес с имобилизация и физическо натоварване. В основата на тези експерименти беше идеята за проучване на специфичната модулация, която упражняват ендогенната опиоидна и канабиноидна система върху десцедентната инактивираща болката система при стрес - индуцирани реакции.

Интересът ни към DOMS беше насочен с цел изучаването на преобладаващите ексцентрични мускулни съкращения, които са в основата на адаптационни и регенеративни процеси в скелетните мускули, тясно свързани с мускулната хипертрофия, генериране на сила при паралелно участие на еластични компоненти и други. Наред с това наша цел беше и разработване на модели на DOMS, които да се използват при бъдещи изследвания за преодоляване на тази симптоматика за нуждите на кинезитерапията и спорта.

2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

2.1. Хипоалгезия индуцирана при физическо натоварване

Физическото натоварване е важен компонент, както при лечение и рехабилитация след заболяване, така и за поддържане на здравословен начин на живот. Редица автори (Koltyn, 2002; Koltyn & Umeda, 2006; Пенчева, Божкова, 2004; Ellingson et al., 2013) изследват намаляването в болковата сетивност след натоварване при здрави хора. Този феномен е наречен хипоалгезия - индуцирана при физическо натоварване (ХИФН). Прилагат се различни по вид и продължителност физически натоварвания (аеробни, анаеробни, изометрични и пр.) като се използват разнообразни (механични, термични и др.) стимули за оценка на болковата перцепция.

Въпреки, различията в методиките и ноцицептивни стимули, голяма част от експерименталните резултати, доказва хипоалгезичните промени след натоварване. Предполага се, че продължителността на ХИФН, зависи от интензитета и продължителността на физическото усилие и може да продължи 50 min след натоварването (Kosek & Ordeberg, 2000).

Предполага се, че най-изявени са промените в болковите параметри, при прилагане на дълбоки механични стимули, докато промените след термични алгогенни дразнители все още е дискусионно (Naugle et. al., 2012). Ето защо изследването на дълбоката механична болка при физическо натоварване е подходящ модел, който се предпочита от водещи изследователи в областта на експерименталната болка и промените й при различни стимулации (Koltyn et al., 1996; Jespersen et al., 2007; Nie et al., 2009).

Състоянието, наречено “runner’s high" или „exercise’s high’’, повлиява не само болковата перцепция, но съзнанието и редица психични и поведенчески компоненти. Понеже е субективно преживяване, което трудно се изследва в експериментална среда, изясняването на физиологичните механизми, които го обуславят е трудно. Например, преди да бъде открита ендогенната опиоидна система (ЕОС) се е предполагало, че аналгезията и еуфорията след натоварване се дължат предимно на освобождаване на катехоамините адреналин и норадреналин (Zouhal et al., 2008). След откриване на тази система, както и нейните рецептори, а по – късно и на ендоканабиноидната, възниква бум от изследвания на влиянието им върху организма при физическо натоварване (Mogil et al., 1996; Walker & Hohmann, 2005; Trezza & Vanderschuren, 2008).

2.1.1. Стрес-индуцирана аналгезия

Стрес - индуцираната аналгезия (СИА) се описва най-често като намален или отслабен ноцицептивен отговор след еднократно или продължително въздействие на стресов дразнител върху организма. Тя се опосредства от действието на опиоидни и неопиоидни десцедентни инхибиторни пътища (Butler & Finn, 2009). СИА е описана и доказана в редица изследвания с животни (Watkins et al., 1992; Wiedenmayer & Barr, 2000) и хора (Flor&Grusser, 1999; Flor et al., 2002). При изследванията с хора като стресори се използват предимно - бягане, тестове с велоергометър или тредмил, имобилизация, термична стимулация (Scott & Gijsbers, 1981; Droste et al., 1991; Koltyn et al., 2010), а също така и някои психични стресори като решаване на математически или логически задачи (Bandura et al., 1988). В зависимост от тяхната интензивност и типа на емоционалния отговор (страх или раздразнителност), тези дразнители могат да предизвикат хипо – или хипералгезия (Rhydy & Meagher, 2003; Rhydy et al., 2008).

Болката е част от защитните механизми на организма възникнали в еволюционното развитие. Различни фактори като промяна на представата за определен вид болка, продължителност на стимулация на рецепторите и пр., променят болковите прагове и това може да доведе до промяна в поведенчески реакции, издръжливостта при натоварване и други аспекти на двигателното поведение. Нещо повече, различни психологически състояния като страх, раздразнителност, паника помагат да организма да избегне алгогенните стимули и потенциалната заплаха за неговата цялост.

Механизмите, които обезпечават модулацията на ноцицепцията включват: - активиране на моноаминергична (Finn et al., 2006; Hohmann et al., 2005; Finn et al., 2004), ендоканабиноидна (Hohmann et al., 2005; Finn et al., 2004) и опиоидна (Madden et al., 1977) система, които оказват модулиращи влияния върху десцедентната инхибираща болката система. Предполага се , че в модулацията участват още и невротрансмитери като ГАМК и глутамат.

Генетични основи на стрес – индуцирана аналгезия. СИА често се разглежда като постепенно изграден в еволюцията защитен отговор спрямо неприятни и болезнени стимули. В този смисъл тя може да се разглежда като част от синдрома *fight or flight*, като се предполага, че отключването на този адаптационен механизъм е по - скоро полезен за оцеляването за организма, тъй като нормалното поведение би могло допълнително да навреди на индивида. Възниква въпросът, обаче, доколко СИА е генетично обусловена. За изследвания върху генетичната предиспозиция на СИА, в литературата са

представени редица доказателства чрез експерименти със специално селектирани линии мишки оглед, получаване на такива с ниска или висока чувствителност към СИА (Panocka et al., 1991; Sadowski & Panocka, 1993; Mogil et al., 1996).

Оказва се, че мишките, които са високочувствителни към СИА имат и повишена чувствителност към агонисти (морфин) и антагонисти на опиоидните рецептори (Kest et al., 1999; Mareh et al., 1993), което предполага по – голямо активиране на ендогенната опиоидна система при този тип мишки. При същите мишки се наблюдава добре изразена реактивност към термични стимули (хипотермия) и по – ниска кислородна консумация при плуване в студена вода (Sacharczuk et al, 2003, 2008). Поведенческите реакции на този вид мишки, проследени с open – field тест, се характеризират с по-ниска активност на животните, което предполага по-малка степен на раздразнителност, тревога и безпокойство.

Представените литературни данни, позволяват да се направят следните предположения: - съществува вероятност чувствителността към морфин и чувствителността към СИА да се кодират от различни генетични локуси; - може да се допусне, че генетичната предиспозиция в реактивността по отношение на СИА може да доведе до различна гъстота на опиоидни рецептори и диференцирани различия в реактивността към различни стимули (Mogil et al., 1996; Kest et al., 1999).

Модели на стрес – индуцирана аналгезия. При изграждане модел на СИА са необходими два вида дразнители – болков и отблъскващ/неприятен (стресов). Стресовите стимули могат да бъдат – условни и безусловни. Като безусловни стимули при експериментални животни най- често се прилагат електрически шок, форсирано плуване, поставяне в нова среда и пр., а при изследвания с хора – неприятни визуални стимули, хипноза или акупунктура. При модели с животни биха могли да се прилагат и инвазивни процедури, като директна електрическа стимулация или използване на различни субстанции за пряка стимулация на отделни части от главния мозък. Болковите стимули също варират - инжектиране на формалин, радиация, ухапване от насекоми, подкожна електрическа стимулация при животни, а при хора – дентална болка, исхемична болка, флексорен рефлекс, термични дразнители (Butler & Finn, 2009).

При многократно излагане на едно и също стресорно влияние, се изгражда социално „обучение“ в субективното изживяване на болката, което се изразява в повишение на болковите прагове, т.нар. СИА при страхови състояния (fear-conditioned analgesia) Като повторни стимули могат да се използват електрошок, т.нар. „бял“ шум, различни математически задания и пр.

Въздействие на различни физиологични фактори върху СИА. Доказано е че, не всички алгогенни стимули, действат по един и същ начин в централните и периферни структури и тъкани, опосредстващи стресовото „обезболяване“, като дори някои дразнители могат да индуцират хипералгезия. Различни са и антиноцицептивните механизми в зависимост от продължителността на болката – хронична или остра (Craig, 2006). Rivat et al. (2007), докладва много по-голямо увеличение в болковия праг при хронична болка. Dufton et al. (2007) обаче, доказва, че системното излагане на стресови влияния, води до понижени нива на СИА.

С особено внимание трябва да се интерпретират резултатите при действие на термични дразнители при модели на СИА. Blessing et al. (2001) и Vianna & Garrive (2005), докладват за вазоконстрикция на кръвоносните съдове в опашката и лапата на плъх при стрес, което води до понижение на кожната температура. Така, че вероятно промяната в tail- flick отговора или латентността при hot plate тест, може да не се дължи изцяло на действието на стресора.

Предполага се, че очакването на болка само по себе си, активира централни структури, които участват в болковата перцепция (Ploghaus et al., 1999). Редица изследвания (Ploghaus et al., 1999; Wiech et al., 2006; Meagher et al., 2001; Rhudy & Meagher 2000, 2001) предполагат, съществуването на различия в ноцицептивния отговор, в зависимост от модела на СИА. Реакцията на организма, в голяма степен зависи от интензитетът на алгогенния стимул, възможността за неговото контролиране и предварително известните параметри на стресово въздействие. Стимулите, които индуцират тревожност, повишават болковата чувствителност, докато тези, които индуцират – страх, понижават болковия усет. Изследваните лица, които имат възможност да контролират болковите стимули, показват по-високи стойности на болковите параметри, в сравнение с тези, които нямат контрол върху стресорите. Hoffman et al. (2001) предполагат, повишение в стойностите на болковия праг при индивиди, излагани на сходни стимули индуциращи болка. Вероятно субективният опит от въздействието на болкови стимули, има съществено значение при формирането на ноцицептивния отговор. Промяната в ноцицептивния отговор може да бъде двупосочна в зависимост от конкретния дразнител и модела на СИА (Takahashi et al., 1990; Girdler et al., 2005).

Пол и възраст. Редица автори (Sternberg & Liebeskind, 1995; Bodnar et al., 2002) предполагат различия в нивата на СИА и ефект на опиоидната ендогенна система върху тази модулация, в зависимост от пола. Предполага се, че при мъжете нивата на

„аналгезия‘‘ са по-високи от тези при жените, понеже чувствителността на жените към стресорите зависи и от циркадната динамика в нивата на половите хормони (естрогени и прогестерони). Например съществено понижение в опиоид опосредстваната СИА, е налице, по време на еструса, но промяната в неопиоиднта компонента е незначителна (Ryan & Maier, 1988). Това предполага специфично участие на половите хормони при формиране на болковото поведение.

Проследяването на зависимостта на СИА от възрастта, показва, противоречиви резултати. Stolberg & Frenk (1995), докладват за по-високи стойности на болковия праг след плуване при по-възрастни плъхове, в сравнение с тези при по – малки по възраст. Те отдават това различие на онтогенетично детерминирано развитие на десцедентната инхибираща болкова система. Girardot & Holloway (1985), предполагат по-бързо развитие на толеранс към стресори в по-млада възраст, което може би се дължи на постепенно намаляване на броя на глюкокортикоидните рецептори в хипокампа. Несъответствието между резултатите, най-вероятно се обуславя от различието между стресовите модели и природата на ноцицептивните стимули.

Трудности при изследвания на СИА при модели с хора. Известно е, че мотивацията, личният опит и възможността за потискане на болковото усещане варират изключително много при отделните индивиди, което прави изследването на ноцицептивния отговор/реакция твърде субективно, а стойностите на болковите параметри - вариабилни. При изследване с магнитен резонанс (DeCharms et al, 2005) е доказано, активиране на rosatral anterioir cingulate cortex, PAG при индивиди, който имат по-висок болков праг, т.е. понижена чувствителност. За да се минимизира влиянието на тези субективни различия, при тестването на различни модели на СИА, е препоръчително да се включват по-голям брой индивиди и да се изследва по влиянието и на стресора и на болковия стимул върху болковата перцепция отделно.

Невронални структури, опосредстващи СИА.

Мозъчна кора. Предполага се, че невроните в първичната соматосензорна кора, участват в разграничаването на ноцицептивните сигнали, докато невроните в медиалния префронатален кортекс (PFC) имат способността да кодират дразнителите според тяхната интензивност (Zhang et al., 2004). Твърде е вероятно, още префронталния кортекс да участва и във формирането на паметови следи за действието на даден алгогенен стимул (Hugues et al., 2004). Valet et al. (2004) докладват, че орбито-фронталният кортекс подпомага

развитието на аналгезия, като взаимодейства с PAG и болка, която не се разпространява не увеличава активността на невроните в тези райони.

Хипокамп. Доказаната е ролята на хипокампа, както в ноцицепцията, така и при стрес-медиираната аналгезия (Maren et al., 2001; McEwen, 2001). Favaroni - Mendes & Menescal-de-Oliveira (2008), предполагат участието на холинергичната, опиоидергичната и ГАМКергичната система в медиацията на ноцицептивното предаване в дорзалния хипоталамус при морски свинчета.

Амигдала. Тази структура има ключова роля, както при безусловно рефлекторен, така и при условно рефлекторен стрес, предаването на информация за алгогенните стимули и инициирането на СИА. В някои изследвания (Werka et al.,1994; Watkins et al., 1993; Fox & Sorenson, 1994) се доказват, че вероятно амигдалата опосредства СИА независимо от природата на стресора, като получава ноцицептивни сигнали от първичната соматосензорна кора и може да предава и да получава алгогенна информация от средния мозък (PAG).

PAG. Тази структура е основна част от десцедентната инхибиторна система на болката. Доказани се проекции на PAG върху катехолергичните неврони на спинално ниво (Bajic & Proudfit, 1999), както и невронални проекции към хипоталамуса (Behbehani et al., 1988), участващи, в антиноцицептивната функция на структурата и в механизмите на СИА.

Хипоталамус. По литературни данни, отделните райони на хипотамалуса имат различна роля в опосредстването на СИА. Установено е, че повишената активност в отделни центрове (ядра), води освобождаването на специфични модулаторни невропептиди (Gui et al., 2004).

Мозъчен ствол. Basbaum & Field (1979), предлагат невронална карта на проекции от мозъчния ствол към гръбначния мозък като част от антиноцицептивната система. „Обезболяващи" нервни връзки се образуват между средния, междинния мозък и гръбначния мозък. Предполага се, че именно те обезпечават аналгезията. RVM също участва в регулацията на спинално ниво, като инхибира сигналите от първичните аференти.

Гръбначен мозък. Редица изследвания показват участието на гръбначния мозък, в моделирането на болковите стимули. Предполага се дори, че различни части от гръбначния мозък се активират, в зависимост от това коя част на тялото е обект на ноцицептивното дразнене (Watkins & Mayer, 1982). DeFelipe et al. (1998), докладва за по-слабо изразена антиноцицепция при мишки с генетично увреждане в рецепторите на субстанция P. Fukuda et al. (2001), забелязва значително намаление на c-fos експресията в дълбоките слоеве на гръбначния мозък (IV – VI), при мишки, подложени на хеморагичен шок и инжектиране с

формалин, в сравнение с тези, които са третирани само с формалин. Това предполага, че е налице понижение на невроналната активност в тези райони по време на СИА в сравнение с базалната ноцицептивна перцепция.

Невромедиатори и невромодулатури на СИА. Невротрансмитерите или невропептидите, които участват в предаването и/или инхибирането на ноцицепцията включват серотонин (5-хидрокситриптамин), норадреналин, допамин, динорфин, ацетилхолин и азотен оксид (Behbehani et al.,1982; Cruz & Basbaum, 1985; Hatakeyama et al., 1996). Невропептидите, които участват предимно в предаването на ноцицептивна информация включват възбудната аминокиселина глутамат, хистамин, холецистокинин, меланокортин и простагландини (Juan, 1981; Vrinten et al., 2000; Xu et al., 1995). Невротрансмитерите, които вероятно участват в инхибирането на ноцицепцията са ГАМК, глицин, вазопресин, окситоцин, аденозин, ендогенни опиоиди и ендоканабиноиди (Bernatzky et al., 1983; Sivam & Ho, 1983; Garcia-Arraras et al., 1986; Nakamura et al., 1997; Smith et al., 1998). Концентрацията на отделните медиатори, повлияващи болковата перцепция е различна в отделните части на нервната система. Способността им да се свързват със специфични за тях рецептори или отделен субтип рецептор, може да повлияе както ноцицептивното предаване, така и да опосредства СИА.

Медиация и модулация на СИА чрез опиоидната система. Още през 1986 година Akril et. al. и Amit & Galina, доказват участието на ЕОС в стрес-индуцираната аналгезия. Някои автори предполагат, че енкефалините са основните медиатори на болковия толеранс, но не могат да предизвикват аналгезия след прилагане на електрошок (Urca et al., 1983). Изследванията върху хора след стимулация с „бял" шум и решаване на математически задачи, показват, повишение в стойностите на болковия праг и болков толеранс, което се повлиява при инжектиране на налоксон (Flor et al., 2002). Kieffer (1999), предполага, че бета - ендорфинът има много по-голямо значение при модулацията на болката след стрес в сравнение с Met-5-енкефалина.

Pugli – Allegra et al. (1982) провеждат изследване върху активността на ЕОС в зависимост от циркаданата ритмика и установява, че СИА е най- силно изразена през нощта при плъхове. Понижение в имунореактивните Met-5-енкефалинови неврони след имобилизационен стрес, е наблюдавано в мезолимбичната зона, стриатума, хипоталамуса, таламуса, PFC, амилоидното ядро. Някои автори, докладват, за понижение в имунореактивните бета-ендорфин неврони, след социален конфликт (Kulling et al., 1988). Същите предполагат, че индивидуалните различия в началните нива на имунореактивните

бета-ендорфин неврони, корелира в зависимост от продължителността на СИА. Предполага се, че активирането на опиоидните рецептори, макар и частично, е свързано с освобождаването на ГАМК и глутамат (Christie et al., 2000) в райони като RVM (Spinella et al., 1996), PAG (Stiller eta al., 1996), таламус (Jia et al., 2004), амигдала (Deyma et al., 2007) и гръбначния мозък (Suh et al., 2000).

Известно е, че ГАМК инхибира около 40 % от мозъчните процеси в ЦНС (Bowery & Smart, 2006). Тя участва в модулацията на префронталната кора, при "заглушаване" на спомени свързани със страх. Освен това, участва и в модулацията на антиноцицепцията от опиоиди и канабиноиди. Katone et al. (1999), доказват, че CB1 рецептори са разположени върху аксоните на ГАМКергични интерневрони, а Rea et al. (2007), доказват ролята на ГАМК в медиирането на канабиноидната аналгезия.

Резултатите от изследване на Soleimannejad et al. (2007), установяват антиноцицептивен ефект след блокиране на N-methyl-D-aspartate – рецептори в хипоталамуса. Предполага се, че глутаматът медиира и болковото предаване на нивото на PAG (Sharmant & Gebhart, 1974), докато в други изследвания (Onodera et al., 2001; Lee et al., 2001) се представят доказателства , че влиянието на глутамата и глутаматните рецептори по време на СИА, зависи от възрастта и пола.

Предполага се, че допаминът, норадреналинът и серотонинът имат също важна роля при модулацията на мозъчните процеси. Доказано е, че нивата на тези моноамини, участват в ноцицептивния отговор и освобождаването на специфични невротрансмитери при действието на даден стресор (Millan, 2003). Голяма част от допаминергичните неврони произхождащи от междинния мозък, инервират мезолимбичната и мезокортикалната система. Норадреналинът се освобождава при стрес, след активиране на глобуларното ядро (Valentino & Van Bockstaele, 2008). Неговото освобождаване се блокира от ГАМКергични и опиоидни рецептори. Активирането на серотонинергични рецептори може да доведе, както до хипералгезия, така и до хипоалгезия. Това зависи от активирания рецепторен субтип (Sommer, 2006) и вероятно, взаимодействието им с ГАМКергичнта невромодулираща система и ЕК.

Роля на хипоталамо – хипофизо- адреналната ос. Хипоталамо - хипофизарната - адренална ос е основната невро - ендокринна система на стресовия отговор, която повлиява редица физиологични процеси като храносмилане, енергоразход и синтез на енергия. Доказана е и нейната роля в опосредстването на безусловно – рефлекторната СИА (Filaretov et al., 1996), чрез установено увеличение в концентрацията на кортикостерон (при

животните) и коризол (при хората). Съществуват много експериментални данни и ревюта, които доказват ключовото й значение при физическо натоварване (Herman et al., 2003; Tsigos & Chousos, 2002; Cota, 2008).

Медиация и модулация на СИА чрез ендоканабиноидната система. Предполага се, че ендоканабиноид - медиираното повлияване на СИА, се осъществява чрез ретроградна сигнализация (невротрансмитери/сигнални молекули, които се освобождават от постсинаптичен неврон, но оказват влияние върху пресинаптични рецептори). Този тип сигнализация е налице в хипокампа, амигдалата, PAG, RVM, спинално троично ядро и други части от гръбначния мозък (Jennings et al., 2001; Katona et al., 2001).

Редица изследвания (Marsiano et al., 2002; Finn et al., 2004; Vaughan, 2006) показват, участието на ЕКС в модулацията на стресовото „обезболяване'' и болката. Marsiano et al., (2002), докладва за повишение в нивата на анандамид и 2-AG в базолатералната амигдала след условно-рефлекторен стрес като предполага, че ЕКС участва в хипоалгезичните промени след стрес. Предполага се, че участието на CB1 рецептори в базолатералната амигдала е различно в зависимост от типа на СИА (условна или безусловна) и вида на ноцицептивния стимул (Roche et al., 2007). Kurrikoff et al. (2008) установяват, че ЕК на спинално ниво, модулират СИА, но не я опосредстват и допуска, вероятно взаимодействие на ЕКС с невропептида холецистокинин, по време на СИА.

Finn et al. (2006), предполага вероятно взаимодействие между ЕОС и ЕКС, тъй като при едновременно въвеждане на CB1 и опиоидни рецепторни антагонисти напълно се потиска аналгезията, индуцирана при стрес, докато отделното въвеждане на блокерите не води до същото повлияване. Valverde et al. (2000) показват физиологично взаимодействие между двете системи при формиране на опиоид – медиирания адаптационен отговор.

Хипотези за взаимодействие между ЕКС и ЕОС. Анатомични, биохимични изследвания и такива на молекулно ниво, показват съществуването на рецепторни взаимодействия между опиоидната и канабиноидната ситема. След въвеждане на опоидни и канабиноидни агонисти, т.е. индуциране на аналгезия се наблюдават реакции като хипотермия, хипертония, намалена двигателна активност (Valverde & Berrendero, 2006).

Предполага се, че за взаимодействието между двете системи са отговорни още допаминергичните пътища на ниво мезолимбична система и освобождаването на невротрансмитери като ГАМК и глутамат. Освен това двата типа рецептори са ко-локализирани в зони като префронтален кортекс, амигдала, хипокамп, участващи в болковата модулация, стрес – индуцираните реакции, обучението и паметта.

Въпреки, че ЕК и ЕО са вещества с различна природа – липидни и белтъчни молекули, съответно, и двете групи оказват въздействието си, чрез G – протеин куплирани протеини и Gi/o GTP – свързващи белтъци (Gichewicz et al., 2004). Активацията на CB1 рецепторите и на опиоидните рецептори води до намаляване в нивата на цикличен аденизин монофосфат чрез инхибиране на аденилатциклазната активност (Howlett & Fleming, 1984). Стимулацията и на двата рецептора е свързана с увеличавана пропускливост на мембраната за натриеви йони и намаляване на калциевия поток през потенциал - зависимите калциеви канали. CB1 и опиоидните рецептори са разположени пресинаптично и тяхната активност потиска освобождаването на редица медиатори (Schlicker & Kathmann, 2001). Нещо повече, CB1 рецепторите и μ-опиоидните рецептори са ко-локализирани върху ГАМКергични неврони в стриатума (Pickel et al., 2004), което пък предполага възможност за куплиране на вторични посредници и повишаване на способността за формиране на т.нар. хетеродимери между двата рецептора (Rios et al., 2006). Друга възможна хипотеза за синергичния ефект на двете системи е чрез повлияване на сходни вътреклетъчни механизми (Gardell et al., 2002; Castane et al.,2003).

Взаимодействието между двете системи е проследено при изследвания, свързани с развитието на зависимост, различни обучителни модели, антиноцицептивна модулация. Доказана е взаимовръзка между двете системи, но конкретните механизми на взаимодействие остават не напълно изяснени.

Участие на ЕКС при СИА. Смята се, че към неопиодната компонента на модулация на СИА принадлежи и ЕКС, тъй като: (1) CB1 рецепторите са с голяма плътност в централната нервна система, а блокирането им води до хипералгезични промени (Hohmann et al., 1999; Martin et al., 1999); (2) CB1 антагонистите повишават активността на ноцицептивните RVM неврони, което предполага, че ЕК тонус регулира десцедентните антиноцицептивни пътища (Walker & Hohmann, 2005). Hohmann et al. (2005) докладва, че канабиноид – чувствителни плъхове не променят ноцицептивния отговор при въвеждане на морфин, а плъховете – чувствителни на морфин не се повлияват от неопиоидна модулация на болковата перцепция.

Блокирането на TRPV1 рецепторите, чрез системно въвеждане на capsazepine, също не повлиява стрес – индуцираната аналгезия (Suplita et al., 2005), което предполага, че тези рецептори не опосредстват СИА. Същата доза от capsazepine, води до достоверно понижение на капсацин – индуцирана антиноцицепция при tail – flick тест.

Hohmann & Suplita (2006), докладват, че именно CB1 рецепторите опосредстват ендоканабиноидната модулация на СИА, а също, че именно PAG играе ключова роля при активирането й. Walker & Hohmann (2005), пишат за повишени нива на анандамида и 2–AG в дорзалната част на средния мозък, като установяват, че нивата на 2–AG значително се увеличават 2 min след електрически шок и се възстановяват след 15 min. Това предшества, постоянното повишение в нивата на анандамид (с пик между 7 и 15 min след шока). Бързото метаболизиране на 2-AG в PAG предполага, че по – скоро освобождаването на ЕК, а не активността на CB1 рецепторите опосредства СИА. Изследвания, при който се проследява връзката между времето необходимо за мобилизиране на ендоканабиноидите и продължителността на СИА, показват, че вероятно 2-AG играе ключова роля като медиатор на неопиоидната компонента. При инжектиране на инхибитор на моноацилглицерол липаза в дорзолатералния или вентролатералния PAG, се наблюдава повишение в продължителността на СИА, докато ноцицептивните прагове при интактни животни не се повлияват.

Smith & Martin (1992) смятат, че освен на супраспинално ниво, ЕК упражняват антиноцицептивни ефекти и на спинално ниво. Инжектирането на екзогенни канабиноиди на спинално ниво води до изразена антиноцицепция и потиска активността на ноцицептивните гръбначномозъчни неврони (Kelly & Chapman, 2001). Стрес – индуцирана аналгезия чрез електрошок, води до повишение на нивата на ендогенния 2-AG, докато повишение в нивата на анандамид не се наблюдава. Въвеждане на CB1 блокер, в концентрация 10 пъти по-висока от тази при въвеждане в PAG или RVM, също не повлиява СИА. Резултатите за действието на ЕКС на спинално ниво са доста противоречиви, и вероятно в този случай ЕК не опосредстват „обезболяването”, а само го модулират.

От представените данни, могат да се направят следните изводи: - координираното освобождаване на анандамид и 2-AG в PAG, RVM и лумбалната част на гръбначния мозък участва в медиирането на СИА; - 2-AG, вероятно действа върху близко разположени CB1 рецептори, които регулират освобождаването на ГАМК и глутамат, активирайки десцедентната инхибираща болката система; - СИА при наличие на CB1 рецепторни антагонисти, може би се дължи на участието и на други невромедиатори в аналгезията; - по време на стрес се инициира освобождаване както на анандамид, така и на 2-AG в средния мозък, но тези два ЕК се освобождават вероятно в различни периоди от време.

Въпреки, активното изследване ефектите на ЕКС върху СИА, все още не е напълно изяснен механизмът на повлияване на болковата перцепция. Вероятно той зависи от вида

на дразнителя, и доколко двете компонента на СИА – опиоидната и канабиноидната са взаимосвързани и дали съществува синергичен ефект при действието на ендогенни канабиноиди и опиоиди. Не са представени данни за диференцирана модулация на ЕК и ЕОС в СИА.

2.1.2. Физическото натоварване като стрес

В зависимост от типа, интензитета и продължителността, физическото натоварване индуцира редица разстройства в хомеостазата, което води до активиране на редица адаптационни реакции и мобилизират физиологичните възможности на организма.

Системното двигателно обучение повлиява и променя почти всички физиологични функции, а при продължително системно упражняване е възможно да настъпят и морфологични изменения в организма. Целта на физическото натоварване от физиологична гледна точка е да се създадат и усъвършенстват нови двигателни техники, да се разширят постепенно функционалните възможности и да се оптимизира енергетичното осигуряване. Това може да се изпълни в две степени: - в условията на масов спорт -постига се умерено функционално здравословно състояние; и - в условията на състезателен спорт - целта е успешно преодоляване на максимални гранични физически натоварвания. Следователно спортната тренировка или системното натоварване е средство за разширяване и усъвършенстване на естествената способност на организма да се адаптира към условията на средата, чрез оптимално усъвършенстване на хомеостатичните регулаторни механизми.

При натоварване се оформят няколко вида адаптация: физиологична (функционална), биохимична, морфологична и нервно – психична. Началото на всяка адаптация е резултат от различни сигнали от външната и вътрешната среда: зрителни, звукови, термични и др. Дразнителите предизвикват активиране на редица физиологични функции и мобилизират възможностите на организма, за изпълнение на конкретна задача. Целта на промяната е да се даде възможност организма да се справи с повишените изисквания и да се осигурят условия за нормално функционално и морфологично развитие.

Наблюдават се два взаимосвързани и зависими един от друг механизми на адаптация. Първият е промяна във функциите на нервната система, а вторият хуморално – хормонален, счита се, че адаптацията зависи главно от него.

Физическото натоварване, също като стресовите състояния, активира предимно две ендокринни жлези – хипофиза и надбъбрек, които са част от т.нар. „хипоталамо – хипофизо – надбъбречна” ос. Следователно и при натоварване нараства количеството на АКТХ,

соматотропен хормон, тиреотропен хормон, увеличава се количеството на катехоламините и глюкокортикоидите (предимно кортизол). Влиянието на отделените от сърцевината на надбъбречната жлеза хормони (адреналин и норадреналин) и влиянието на симпатиковия тонус на вегетативната нервна система се обединяват в т.нар. симпатико – адреномедуларна система (Koltyn et al., 2013).

В процесът на приспособяване се получават два вида ефекти – специфични и неспецифични, които представляват общия адаптационен синдром. Той има три фази: фаза на тревога, фаза на повишена резистентност и фаза на изтощение. Последната фаза настъпва само ако организма изчерпи адаптационните си възможности, а не са настъпили необходимите изменения. Иначе стресовото въздействие се преодолява във втората фаза.

Стресът при натоварване бива физиологичен (физически) и емоционален (психически), т.е. при физическо натоварване са налице три вида стресови състояния: - физически стрес, който е предизвикан от условията на натоварването и довежда организма до умора; - психично – емоционален – най-често се среща при начинаещи спортисти или при предстоящо обучение на нов уред и пр.; освен безпокойството е налице усилено потоотделяне, стимулиране на кардио-респираторната система без натоварване; и - комбиниран (смесен) стрес, който се наблюдава при едновременно действие на различни по сила физически и психически стресори (например при тренировка в неблагоприятни условия).

Готовността за адаптация на организма се определя от генетични фактори и от възможностите на организма за определен тип приспособяване. За успешна адаптация важна роля имат психическата готовност и стремежът за постигане на конкретни резултати. Началната фаза на адаптация започва със сигнал за предстоящ тренировъчен процес. Сигналите, постъпват от различни сетивни системи – зрителна, слухова, кожна, проприорецептивна. Налице е възбуждане в центровете, контролиращи двигателната координация. Налице е съкращаване на голям брой мускулни групи, включително и излишни такива, т.е. могат да се получат движения без или с недостатъчна координация. Развитието на тази фаза, зависи от силата на стартовия дразнител, от размера на възбудния процес и от активирането на хуморално – ендокринните функции.

Следва междинна фаза, която се характеризира с постепенно нормализиране и регулиране на възбудния процес в ЦНС и активността на ендокринните жлези. Симпатиковият и парасимптиковият дял на вегетативната нервна система са в добре регулирано равновесие.

Третата фаза е тази на устойчива адаптация. Основния признак е наличието на ново, подобрено функционално състояние на трениращия. Увеличените възможности на нервно – мускулния апарат се дължат на подобрените възможности на кардио – респираторната система, обмяната на вещества, енергоосигуряването и повишената способност за възстановяване. Процесът на адаптация се осигурява чрез продължително повишено напрежение в нервната система и ендокринните функции. Това състояние се означава като „цената на адаптацията". Това състояние е относително устойчиво и може да се променя периодично при прогресиращо приспособяване. Четвъртата фаза е загуба на адаптация, т.е. състоянието на адаптация може да се върне окончателно към изходните параметри, като се прекратят активните спортни занимания.

Процесът на адаптация и усъвършенстване при системно трениране зависи предимно от сумарните индивидуални дадености и възможности на организма, т.е. от неговата тренируемост. Достигането на адекватна и устойчива адаптация към определен обем физически усилия е тренираност, а най-висшата форма на това състояние е спортната форма (Branth et al., 2009).

Променя дейността на кардио-респираторната система, за да се мобилизират наличните енергетични резерви. В мускулът настъпват биохимични, морфологични и физиологични промени. Предполага се, че индикатор за тези промени на молекулно ниво са механичното разтягане на мускулните клетки (активират се каскадни реакции, свързани с инсулинов растежен фактор), калциевия поток (количеството калциеви йони, които се освобождават при мускулното съкращение), съотношението NAD/NADH, количеството АТФ (Rivera-Brown & Frontera, 2012) и други.

2.1.3. Хипоалгезия при натоварване. Модулация на мускулната сила

Хипоалгезията индуцирана при физическо натоварване се характеризира с временна промяна в болкова перцепция. Според някои автори, промяната в ноцицепцията е налице както по време, така и след натоварването (Cook and Koltyn, 2000, Koltyn, 2002). Повечето автори докладват повишение в болковия праг (това е силата на даден дразнител, при която той вече се усеща като болков) и понижение в болковия рейтинг, но много малка част от тях доказват промяна в болковия толеранс (точката, при човека, може но не иска повече да изтърпява болковия стимул).

В редица изследвания се използват различни модели на натоварване за индуцирана хипоалгезия – максимални тестове до отказ, субмаксимални тестове, упражнения с

преобладаващи изометрични съкращения (Koltyn & Umeda, 2007; Lannersten & Kosek, 2010). Голяма част от литературните данни показват, че натоварвания при които се достига до 65 – 75 % от максималната кислородна консумация водят до по – добре изразен и по-продължителен хипоалгезичен ефект (Drury et al, 2005). Следователно интензитетът на натоварване е важна компонента в дизайна на изследвания от такъв характер.

Едно от най-ранните изследвания проследяващи аналгезията след физическо натоварване е това на Black et al. (1979), който открива повишение в болковия праг веднага след 40 минутно бягане. През последните 20 години редица автори продължават да изследват аналгезия след физическо натоварване. При хора като модели на физическо натоварване се прилагат най-често бягане или велоергометрични тестове, а при изследвания на лабораторни животни – плуване или тест с тредмил. Най - често болковите параметри се определят преди и след натоварване и като болкови стимули се използват: електрически, температурни, механични (най-често налягане) дразнители и исхемичен тест (Nie et al., 2009). Проследяват се също механизмите опосредстващи ХИФН. Често изследваната хипотеза е тази, че физическите усилия водят до активация на ЕОС. Друга много изследвана хипотеза е потенциалният механизъм, който включва участието на соматотропния хормон и АКТН. В последните десет години, активно се изследва и участието на ЕКС (Dietrich, 2004) и влиянието на промените в сърдечно – съдовите параметри (Koltyn et al., 2006).

При велоергометрични тестове, бягане и стъпаловидно натоварване. Petovaara et al. (1984), последяват промените в денталната болка преди и след натоварвания при постепенно увеличаваща се интензивност и установяват, че болковият праг се увеличава заедно с увеличението на мощността на натоварването, а повишението на болковия праг се запазва до 30 min след натоварване. При подобно изследване, Kemppainen et al. (1985) също доказват, че: - аналгезията е по – изразена при по – висока степен на натоварване и това продължава до 15 min след натоварване; - термичната чувствителност се понижава след физическо усилие, като понижението е по – изразено в „работещата" мускулатура. Доказана е и положителна корелация на хипоалгезията със стойностите на сърдечната честота и кръвното налягане, и нивата на соматотропния хормон. Kemppainen et al. (1986, 1990) не откриват връзка между нивата на хормона на разтежа и хипоалгезичните промени при натоварване, но предполагат участие на АКТХ в модулацията на болковата перцепция. В изследване на Droste et al. (1991) се установява значително увеличение в нивата на бета - ендорфин, кортизол и катехоламини след максимален тест, заедно с повишени стойности на дентален болков праг с продължителност до 60 min след натоварване и понижение в

стойностите на болковия рейтинг. След въвеждане на налоксон (блокер на опиоидните рецептори) обаче, не се наблюдава редукция в ХИФН.

Предполага се, че съществуват различия при освобождаването на опиоиди по време на натоварване в зависимост от здравословното и физиологично състояние на организма (Droste et al., 1988). Тези данни се потвърждават от Guieu et al. (1992), които установяват по-високи стойности на болкови параметри при атлети, при сравнение с тези на нетренирани, както в покой, така и при физическо натоварване. Padawer & Levine (1992) пък стигат до извода, че ХИФН е по – скоро артефакт, дължащ се на болково тестване преди натоварване и сугестиране/адаптиране на изследваните лица към техниката на експериментално – индуцирана болка. По – късно редица автори (Droste etal., 1999; Koltyn et al., 2002; Dietrich, 2004) опровергават това твърдение, като обръщат внимание на интензивността на физическото усилие и това, че като алгогенен стимул е използван - студов дразнител. Тъй като изследване на Janal et al. (1984), доказва, че болката индуцирана при действие на студов дразнител не се повлиява от ХИФН, като в същото време нивата на болков праг под действието на термичен дразнител и при исхемичен тест са силно повишени. Установява се също, че налоксонът повлиява ноцицептивните отговори при исхемичен тест, но не повлиява болковите параметри оценени чрез термичен стимул. Sternberg et al. (1998), установява по-високи болкови прагове при студов дразнител веднага след състезание, и непроменени стойности на прага при нетренирани лица. Противоречиви, резултати се наблюдават и при изследвана на ХИФН и прилагане на инфрачервена топлина (Fuller & Robinson, 1993)

Редица изследвания (Gurevich et al., 1994 Koltyn et al., 2006), доказват повишение на механичните болкови прагове и понижение на болковия рейтинг след натоварване, като Haier et al. (1981) докладват за пълно блокиране на ХИФН при въвеждане на 10 mg налоксон.

Макар сравнително малко изследвания, доказват по – скоро понижение на болковия праг след натоварване. Например Vecchiet et al. (1984), който проследява мускулна чувствителност до 30 min след субмаксимално натоварване и инжектиране на различни концентрации на физиологичен разтвор, установява хипералгезични промени в мускулите 1 минута след натоварването.

Силови натоварвания. Отделни изследвания (Bartholomew et. al., 1998) на болкови параметри след силови упражнения с продължителност 20-30 min, показват повишение в стойности само на болковия толеранс, а тези на болковия праг остават непроменени. Koltyn

& Arbogast (1998), докладват за повишение на болковия праг и понижен болков рейтинг при натоварване с продължителност 45 min и съпротивление равно на 75 % от максималната сила, като стойностите се възстановяват до 20 min след усилието.

Повишение в стойностите на болковия праг се наблюдава при здрави нетренирани лица, както по време на изометричното натоварване, така и до 5 min след него (Kosek & Ekholm, 1995). При пациенти с фибромиалгия обаче, е налице обратния ефект, т.е. хипералгезични промени по време и след натоварване. Няма данни този тип натоварвания да водят до промяната в кожната чувствителност и термичния болков праг при прилагне на топлинен дразнител. Hoeger-Bement et al. (2011) предполагат, че твърде голямата вариабилност в отделните болкови прагове при различни пациенти, вероятно се дължат на възрастови различия, личен опит и различната степен на увреждане.

Хипоалгезията може да бъде индуцира при различни типове натоварвания, като тяхната мощност/интензивност трябва да бъде съобразена с целите на изследването и таргетната група (здрави – тренирани, нетренирани, пациенти). ХИФН може да бъде представена, като промяна в болков праг, болков толеранс или болков рейтинг, при използване на различни ноцицептивни дразнители. Специално внимание, обаче, трябва да се обърне, при прилагане на студов и топлинен дразнител поради противоречие на досегашните изследвания, а и вероятността ноцицептивният отговор да се модулира след физическо усилие от промяна в кожната температура и/или вазомоторните явления в кожно – мускулната област.

Редица изследвания, които проследяват механизмите, модулиращи болковата перцепция при натоварване се провеждат върху лабораторни животни и като модел на физическо усилие се прилага плуването или бягане върху тредмил. Установено е, че част от аналгезичните ефекти на натоварването се блокират от налоксон, като редукцията в болковия праг е дозо - зависима (Bodnar et al., 1978; Willow et al., 1980). Тези резултати предполагат, участието и на неопиоидна компонента в болковата модулация. Други изследвания предполагат, участието на [Leu-^{5}]-енкефалина в антиноцицепцията, както и предполагат различна степен на активиране на ЕОС при ХИФН, в зависимост от продължителността на плуването. Допуска се също, че натоварване с по-голяма продължителност активира в по-голяма степен освобождаване на опиоиди. Различните ноцицептивни стимули, също оказват влияние върху компонентите „обезпечаващи" аналгезията. Например Cooper & Carmody (1982), стигат до извода, че плуването в студена вода (2º C) инициира антиноцицептивни промени, които не се повлияват от налоксон,

докато „обезболяването" при плуването в топла вода (32º C) се дължи на опиоидите. Това обуславя, различни механизми на медиация на болковата перцепция в зависимост от вида на алгогенния стимул.

При проследяване на връзката между бягане с тредмил и активиране на ЕОС е установена силна корелация между активността на плъховете и повишението е болковия праг, т.е. обезболяването (Terman et al., 1986).

Съществуват и литературни данни според които, хипоалгезичните промени се дължат на активирането на III-ти и IV-ти тип аферентни влакна на скелетните мускули и секрецията на серотонин. Изследване на Hoffman et al. (1990), подсказва вероятно участие на тези аференти, тъй като при нискочестотна мускулна стимулация, се наблюдава повишение на болковия праг, като пикът е 120 min след стимулацията и е с продължителност до 2 часа. Този тип аналгезия може да се опосредства от серотонина (Mazzardo – Martins et al., 2010), тъй като се повлиява от въвеждане на блокер на серотониновата синтезата.

Поради различни спекулации за причините водещи до хипоалгезия след плуване (хипотермия или физическо усилие), Terman et al. (1986) прави следните предположения: - СИА и хипотермията се блокират от различни субстанции, защото налоксонът понижава болковите параметри, но повлиява хипотермията; - аналгезия се наблюдава и без наличие на хипотермия; - хипоалгезия е налице и след действие на други стресори, които не инициират промяна в телесната температура.

Други възможни механизми, обуславящи ноцицептивната модулация при натоварване могат да бъдат: - синтезата на растежни фактори (Koltyn, 2000); - активирането на спинални и супрасинални механизми, свързани с десцедентна инхибиторна система (Ray & Carter, 2007); - промени в сърдечно-съдовата система (повишението на артериалния пулс и артериалното кръвно налягане), тъй като Koltyn & Umeda (2006), докладват, че пациенти с хипертония имат по – високи стойности на болковия праг. Това взаимодействие може да се обясни с сходните ядра на регулация на ниво мозъчен ствол и последващото освобождаването на невротрансмитери (монамини) и опиоидни пептиди (Ghione, 1996). Освен това, физическите усилия водят до увеличение в стойностите на кръвното налягане но време на натоварване, което активира артериалните барорецептори и води до активиране на супраспинални инхибиторни механизми и стимулация на неврони центрове, участващи в болковата модулация (Dworkin et al., 1994). В допълнение на това, Hoffman & Thoren (1988) отбелязват, че повишението на стойностите на кръвното налягането, физиологично или

патофизиологично, води до активиране на ЕОС. ФН повишава синтезата/освобождаването на бета – ендорфин, както от хипофизата (периферно), така и от хипоталамуса (централно), който след свързването си с μ - опиоидните рецептори като в периферията, така и в ЦНС опосредства хипоалгезия (Bender et al., 2007). Хипоталамусът, оказва контрол върху PAG, който вероятно активира десцедентния болков контрол.

Изследвания с експериментални животни, потвърждават участието и на неопиоидна компонента в модулация на ХИФН, която включва N-methyl-D-aspartate рецептори, както и невромодулатори като катехоамините и ендоканабиноидите (Galdino et al., 2014). Активирането на различните компоненти и механизми се предполага, че зависи от типа и интензитета на натоварването и продължителността на действие на стресора (Koltyn & Umeda, 2007).

Ролята на соматотропния хормон и растежните фактори, обаче, остава неясна. Някои автори смятат, че ФН активира само синтезата на соматотропен хормон, посредством увеличение на нивата на инсулин – подобен фактор и невронален растежен фактор, но тези промени не участва при ХИФН (Miura et al., 2011; Murase et al., 2010). Kemppainen et al. още през 1986, докладва, че инхибирането на синтезата на соматотропен хормон, не повлиява ХИФН. Повишени нива на бета – ендорифин и соматотропен хормон се наблюдават след ФН, до 1 -ия час и 10 – 40 min, съответно, когато повишената концентрация на лактат може да доведе до ацидозни промени (Godfrey et al., 2003).

Има доказателства, че катехоламините също директно повлияват аналгезичния ефект след натоварване. Действието на десцедентната болкова система на спинално ниво се осъществява именно от норадренергични неврони. В задните рога на гръбначния мозък, норадреналинът взаимодейства с α-2A – адренорецептори и така потиска освобождаването на възбудни невротрансмитери от централните разклонения на първичните ноцицептивни аференти **(**Pertovaara, 2006). Това, вероятно инхибира постсинаптичните отговори от ноцицептивните неврони на гръбначния мозък. Освен, катехоалминте, се предполага, че и основните стресови хормони – кортикостероидите, също участват в формирането на ХИФН. Yarushkina (2008) предполага, че опиоидната и неопиоидната компонента на аналгезията при ФН, спомагат за „обезболяване" индуцирано от глюкокортикоидите. При това физически усилия често се използват при изследвания на СИА.

Съществува още една хипотеза за индуциране на аналгезия при ФН, която е свързана с промяната в соматичната чувствителност. Тъй като върху организма се активират много други ендогенни системи при ФН като например системата за терморегулацията, то

симптоми като обилно изпотяване, повишение на телесната температура, повишено топлоотдаване и пр., могат да „отвличат" вниманието от болковите стимули и субективната оценката на болката да се промени (Fillingim et al., 1988). Възможно е също, усилията да предизвикат активиране на т.нар. „gate control", поради непрестанно постъпващите аферентни сигнали от кожата и мускулите. Освен това, ноцицептивната промяна може да се дължи и на намален чувствителност на ноцицепторите, поради исхемия или натрупване на лактат в „работещата" мускулатура. Тълкуването на периферните механизми, обаче, е доста субективно и спекулативно, тъй като те се повлияват от редица метаболити като простагландини, растежни фактори и др. (Nijs et al., 2012).

Модулация на мускулната сила и ХИФН. Основният параметър обуславящ състоянието на скелетно - мускулната система и локомоцията, както при здрави лица, така и при пациенти е мускулната сила. При различни заболявания, които индуцират мускулно - скелетна болка може да е налице понижение в мускулната сила. Така, че при фундаментални изследвания с модели на физическо натоварване, индуциращо хипо – или хипералегзични промени е интересно да се проследяват и промени в силови параметри (Henriksen et al., 2013). Много малко изследвания (Cook et al., 2000; Henriksen et al., 2013), обаче проследяват промените в мускулната сила и корелация с индуцираната аналгезия, В някои от тях (Hesselink et al., 1996), се установява намаляване на мускулната сила след DOMS.

Възможните хипотези за промяната в мускулната сила, при ФН индуциращо аналгезия са: (1) мускулът/мускулите групи, който имат по-малка сила имат по-високи болкови прагове, за да успяват да поддържат достатъчно ниво на мускулна работа; и (2) мускулът/мускулните групи, който имат голяма мускулна сила имат и по – високи нива на болков праг и по – голяма издръжливост, което път би могло да се обясни с физиологични и/или анатомични адаптационни промени в тъкани, свързани с обезболяване, в резултат на системно трениране. Jespersen et al. (2007) докладват, повишена болкова чувствителност и намалена сила, при пациенти с фибромиалгия, а Henriksen et al. (2013) отчитат положителна корелация между изиметричната мускулната сила и стойността на болковия праг.

2.2. Опиоидна и канабиноидна модулация на базалната ноцицепция и болковата перцепция при имобилизация и физическо натоварване

Базална ноцицепция. Ендогенната опиоидна система включва четири типа G-протеин куплирани рецептори – мю (μ), делта (δ), - каппа (κ) и ноцицептинов рецептор (NOR), със съответните ендогенни рецепторни агонисти – ендорфини, енкефалини, динорфини и орфанини/ноцицептин. Ендорфинът се синтезира от прекурсорът проопиомеланокортин, като от него се синтезират и по-слабо действащи деривати, както и хормоните – АКТХ и меланоцитстимулиращ хормон. Енкефалините се синтезират от про-енкефалин и имат доказани невротрансмитерни функции. Третия прекурсор на пептиди с опиоидно действие е про-динорфина, а към четвъртата група се отнасят ноцицептин, ноцистатин и орфанин 2. Опиоидните рецептори и пептиди имат строго определено разпространение в организма. Сравнително голяма е тяхната плътност в лимбичната система, хипофизата, субстанция нигра, хипоталамус, таламус, PAG, зони контролиращи аналгезията и вегетативните функции в гръбначния мозък, адреналната медула, симпатикови и парасимпатикови гангии и др. (Пенчева & Божкова, 2004). Пептиди от четирите семейства и опиоидни рецептори се откриват в невронални и екстраневронални структури, пряко свързани със стрес – индуцираните реакции и адаптацията на организма и в структури, които са част от десцедентните пътища участващи в болковата модулация.

Смята се, че невроните в PAG при периферна стимулация, възбуждат невроните на nuclues raphe magnus и част от тези на ретикуларната формация. Невротрансмисията се осъществява предимно чрез енкефалини. Оттук започват серотонинергични и норадреналинергични десцедентни влакна, окончаващи в гръбначния мозък. Те активират енкефалинергични инхибиторни интерневрони. Така оказват потискащо и модулиращо влияние върху алгогенните стимули в задния рог.

Енкефалините са медиатори на интерневроните във II – IV слой на задния рог, които потискат възбудата на трансмисивни, полимодални неврони в V – слой на сивото мозъчно вещество в гръбначния мозък (Twysross, 1994). Така, енкефалинергичните интерневрони, оказват своя инхибиращ ефект на tractus paleospinothalamicus чрез пре – и постсинаптични механизми. Освободените енкефалини, повишават прагът на възбуда и понижават интензитета на болковия отговор, при действие на различни по природа алгогенни стимули.

Така, енкефалините и другите опиати медиират възбуждащите влияния върху PAG в средния мозък, nucleus raphe magnum, мезенцефалната ретикуларна формация и др. Тези

възбудни влияния активират инхибиращи серотонинергични и енкефалинергични влакна, които потискат енкефалинергичните интерневрони и болковата сетивност се блокира на спинално ниво.

Освен това, ендорфините и енкефалините имат инхибиторен ефект върху асцедентните ноцицептивни пътища, като потискат/неутрализират действието на допаминергичните, серотонинергичните, ГАМКергичните и норадреналинергичните модулиращи болката пътища.

През последните години е постигнат значителен напредък в разкриване ролята на ендоканабиноидите при болковата модулация. Те действат като аналгетици в модели на остра ноцицепция и при болка, причинена от възпаление и/или при невропатия. Канабиноидни рецептори участват, както на ниво ЦНС, така и на ниво имунен отговор като регулират невро-имунните взаимодействия, който медиират възпалителната хипералгезията.

Редица изследвания доказват антиноцицептивните свойства на ендоканабиноидната система. Тя се състои от: (1) рецептори – CB1 и CB2. Някой автори предполагат съществуването на още един канабиноиден рецептор – CB3 (Dietrich & McDaniel, 2004), а други причисляват към тях и т. нар. TRPV1 рецептор. Предполага се, че плътността им е различна в различните отдели на ЦНС, а също и в периферията. Сравнително голяма е тяхната гъстота в централни райони участващи в десцедентните пътища, инхибиращи болката като PAG, RVM и задните рога на гръбначния мозък; (2) ендогенни лиганди (ендоканабиноиди) – анандамид, 2-AG, ноладин, виродамин, N-арахидонилдопамин. Съществуват и други ендогенни канабиноидергични компоненити като олеамид, палмитоилетаноламид, и някои арахидоноилни аминокиселини. Тези субстанции не взаимодействат с канабиноидните рецетори, но показват подобни свойства; (3) протеини, свързани с канабиноидния метаболизъм като ензими, които ги разграждат или осигуряват обратното захващане (Zogopoulos et al., 2013).

Предполага се, че ендоканабиноидите действат като ретроградно сигнални молекули в ГАМКергични и глутаматергичните синапси, както и като модулатори на постсинаптичното предаване, при взаимодействие с други невромедиатори. Различните физиологични стимули и патологични състояния водят до увеличение на нивата на ендоканабиноитите по различен начин. Освен това, тези липидни молекули модулират функциите на нервоните, глиалните и ендотелните клетки, катооказват антитоксични, противовъзпалителни и съдоразширяващи ефекти. Аналгезията е една от основните терапевтични цели на канабиноидите. Канабиноид-индуцираната аналгезия се основава на потискане на гръбначномозъчни и таламусни

ноцицептивните неврони, но също така са идентифицирани и редица периферни механизми за обезболяване.

Предполага, се че двата основни типа рецептори са различно застъпени в организма. CB1 рецепторът се експресира предимно в ЦНС (Buckley et al., 2000; Zimmer et al., 2000), докато CB2 рецепторите са разположени върху имунните тъкани – далак, сливици, моноцити, B - и T - клетки на имунния отговор, в много по – малка степен върху неврони в ЦНС. При патологични състояния на болка, CB2 посредници (матрична РНК) могат да бъдат открити в задните рога на лумбалната част на гръбначния мозък, където вероятно активират микроглиални клетки (Zhang et al., 2003). CB1 рецепторът е отрицателно куплиран с аденилат циклазата чрез Gi/o протеин. Активацията му инхибира N – и P/Q – тип калциеви йони и активира натриеви и тип A натриеви йони. CB2 рецепторът е също отрицателно куплиран с аденилат циклазата, но не е куплиран с калциеви канали. Предполага се, че активацията на CB1 рецепторите потиска невроналната възбудимост и освобождаването на медиатор, като модулира потока на натриеви и калциеви йони в клетката (Felder et al., 1995; Deadwyler et al., 1995).

Има доказателства, че анандамидът и 2-AG се синтезират в клетката, само при необходимост, т.е. чрез активиране на трансмембранен рецептор и липиден прекурсор и освобождават се от клетката веднага след синтезата им (Piomelli, 2003). Анандамидът може да се ситезира in vitro, чрез двуфазан процес от N – арахидоноилфосфатидилетаноламин и ензимите N – ацилтрансфераза и фосфорилаза D. Той се явява агонист на CB1 рецепторите и има сравнително ниска степен на свързване с TRPV1 рецептора (Gauldie et al., 2001). Антиноцицептивният ефект на анандамид е доказан чрез системното му въвеждане при плъхове, което води до аналгезия, чрез блокиране на CB1 рецепторите. 2-AG се синтезира в клетката при активиране на два ензима - фосфорилаза C и диацилглицерол липаза от прекурсор - 1,2-диацилглицерол. Образуването на 2-AG се инициира от невронална активност, деполяризация на клетъчната мембрана или чрез активиране посредством различни субстанции, на G-протеин куплираните рецептори като група I метаботропни глутаматни рецептори (Jung et al., 2005). Счита се, че 2 – AG може да активира както CB1, така и CB2 рецепторите (Sugiura et al., 1995; Mechoulam et al., 1995). Въпреки, че концентрацията на 2-AG в главния мозъка е 170 пъти по – висока от тази на анандамида, ефектите му не са много изяснени. Sugiura (2000) предполага, че канабиноидните рецептори са именно рецептори за 2-AG, т.е. CB рецепторите са много по – чувствителни към този ендогенен агонист. Въвеждането на 2-AG също потиска болковите усещания при tail – flick

тест (Mechoulam et al., 1995). Предполага се, че участва и при формиране на психогенните ефекти.

Метаболизирането на ендоканабинидите, вероятно се осъществява под действието на хидролаза на мастнокисела амидхидролаза и моноацилглицерол липаза. Имунохостохимични изследвания показват, че експерсията на аминомастната киселина е значителна във вентрално-постериорното латералното ядро на таламуса, което е краен етап от спиноталамичния път, главен асцедентен път на болковата сетивност. Това се отнася и до постеролатералния път и невроните от повърхностния слой на задните рога на гръбначния мозък (т.е. много близо до крайните окончания на първичните ноцицептивни аферанти). Lichtman et al. (2002) предполага, че мастнокисела амидхидролаза е по-скоро регулатор, а не медиатор на аминомастната активност и вероятно in vivo, той не участва в метаболизирането на 2 - AG.

От друга страна моноацилглицерол липазата е с най-високи нива в мозъчната кора, таламуса, хипоталамуса и малкия мозък. Предполага се, че този ензим е локализиран най-вече върху аксоните на нервоните (Gulyas et al., 2004).

По литературни данни (Hohmann et al., 1995; Martin et al., 1996), ЕК участват в модулацията на ноцицепцията при действието на различни по природа стимули (механични, термични и химични), които възбуждат ноцицептивните неврони в гръбначния мозък и тамалуса. Канабиноидите също инхибират активността на С-влакната при норма, възпаление или увреден нерв при плъхове (Kelly & Chapman, 2001). Освен това канабиноидите инхибират систезата на c-fos-протеина на спинално ниво (Farquhar-Smith et al., 2001; Nackley et al., 2003; Finn et al., 2003), който е неврохимичен маркер за невронална активност, под действието на различни алгогенни стимули. Смята се, че канабиноид-индуцираната антиноцицепция е особено ефективна при невропатична болка и че дори тя преобладава при сравнение с ноцицептивната (Mao et al., 2003).

Редица изследвания потвърждават участието на канабиноидите в болковта модулация и на супраспинално ниво (Martin et al., 1998, 1998, 1999). Предпола се, че СВ рецептори има в дорзолатералната част на PAG, дорзалната част на nucleus raphe magnus, RVM, амигдалата, летералната, постериорната и субмедиалната част на таламуса, горния коликулус, и норадренаргичните райони, участващи в антиноцицепцията. Електрическа стимулация на вентролатералната част на PAG води до аналгезия, която се блокира при въвеждане на налоксон (Cannon et al., 1982), но при електрическа стимулация на дорзалната и латералната му част, антиноцицептивният отговор не може да бъде инхибиран от опиоидни рецепторни

блокери (Walker et al., 2000). Hohmann et al. (2006) докладва за увеличение в нивата на 2-AG и анандамид във фрагменти от дорзалната част на средния мозък, съдържащи PAG след СИА. Доказано е също, че 3 минутен токов удар индуцира неопиоид-зависима аналгезия и дори инхибитори на мастнокисела амидхидролаза не повлияват СИА, което предполага участието на 2-AG в болковата модулация на ниво PAG (Hohmann et al., 2005).

Не всички ефекти на канабиноидите са медиирани от CB1 рецептори. Инжектиране на инхибитор на мастнокиселата амидхидролаза във вентролатералния PAG, води до повишение в концентрациита на давата най-добре изучени канабиноида (анандамид и 2-AG), като индуцира двуфазен ефект върху термичната ноцицепция чрез активиране на CB1 и TRPV1 рецептори (Maione et al., 2005). Тези резултати са в унисон с доказателствата, че TRPV1-медиирана антиноцицепция и CB1-медиираната ноцицепция повишават или понижават активността на „off- невроните“ в RVM, което предполага, че тези ефекти са в зависимост от стимулирането или инхибирането на PAG, съответно. In vitro електрофизиологични изследвания показват, че канабиноидите водят до инхибиране на ГАМКергичното и глутаматергичното пресинаптично предаване на сигнала в PAG, чрез CB1 специфичен механизъм (Vaughan et al., 2000). Действието на ендоканабиноидите се различават от тези на опиоидите действащи чрез μ-рецепторите, тъй като те нямат директно постсинаптично влияние върхи PAG невроните. Някои автори предполагат, че метаботропните глутаматни и N-метил-D-аспартат киселинни рецептори са отговорни за анитиноцицепцията, индуцирана от канабиноидите (Palazzo et al., 2001).

Предполага се, че RVM (Monhemius et al., 2001) и nucleus reticularis gigantocellularis се активират от болкови стимули и участват в десцедентната инхибираща система. In vivo изследвания показват, че канабиноидите модулират активността на „on“- и „off“- RVM неврони (Meng & Johansen, 2004), като оказват контрол върху десцедентната система по механизъм подобен на този на морфина. Те участват в повишаването на активност на „off-невроните“ и намаляват както дейността на инхибиращите ги клетки, така и възбуждането на „on-невроните“ точно преди tail-flick рефлекса. Тези процеси се опосредстват от CB1 рецепторите по механизъм независим от ендогенните опиоиди (Meng et al., 1999). Предполага се, че на клетъчно ниво ЕК упражняват физиологичните си ефекти в RVM, чрез пресинаптично потискане на освобождаването на ГАМК.

Амигдалата и СИА също играят ключова роля в модулацията на болковата перцепция. Както условната, така и безусловната модулация на СИА, зависи от функцията на тази структура. Gulyas et al. (2004), предполагат, че мастнокисела амидхидролаза и

моноацилглицерол липаза са локализирани, съответно, пре- и постсинаптично в базолатералната и латералната амигдала, т.е. наличие на съществуващ механизъм за метаболизиранае на анандамид и 2-AG.

При физическо натоварване и имобилизация

Смята се, че опиоидите потенциират освобождаването на допамин в мезолимбичните допаминергични ядра и по този начин генерират еуфория. Този процес може да се активира при действието на различни стресори, като хранене, секс, физическо натоварване, имобилизация и др. Някои автори (Pierce et al., 1993) доказват, че механизмите на аналгезия и еуфория, които се отключват при състоянието „runner's high" („exercise high"), най-вероятно се дължат предимно на синтезата на ендорфини (т.нар. „endorphin hypothesis"), а според други (Redrobe, 2002) има значение и участието на ноцицептина, който дори синтезиран в малки дози стимулира моторните функции, локомоцията и изследователското поведение, чрез допаминергичната трансмисия с ЦНС.

Съществуват редица експериментални данни, че серумните концентрации на бета-ендорфина и енкефалините се повишават при натоварване и имобилизация (De Mierleiret al., 1999; Hetkamp et al.,1996; Pierce et al., 1993; Florin et al., 1996). Предполага се, че промяната в концентрацията им е тясно свързана с интензитета и продължителността на натоварването. Според Heitkamp et al.(1996) при достигане на т.нар. анаеробен праг, т.е. когато концентрацията на лактат в периферята е ≥ 4mmol/l и усилието е с продължителност над 60 min, настъпва експоненциално нарастване в нивата на бета - ендорфин. Според други важно условие за повишение на опиоидите е интензитетът на натоварване и ключов момент е стойността на кислородната консумация, т.е. опиоидното освобождаване е налице при достигане поне на 60 % от максималната кислородна консумация. При аеробните натоварвания, например велоергометрично натоварване в продължение на 5 седмици и педалиране 5 дни/седмично, при 70 % от максималната кислородна консумация се повишават нивата на бета - ендорфините 3 пъти (Engfred et al., 1994). Изследвания при маратонци показват, че нивата на опиоидите се повишават на 60-тата min, а на 120-тата min и в периода на възстановяване, продължават да се покачват и достигат 7 пъти по-високи стойности от тези в покой (Hetkamp et al.,1996).

Разлики в нивата на ендорфини и на [Met]-^{5}- енкефалин в покой се наблюдава както между отделните изследвани лица, така и при сравняване на тренирани и нетренирани (Vissing et al., 1994), но тези данни са оскъдни.

При анаеробни натоварвания и натоварвания със силов характер, експерименталните данни са доста противоречиви. Смята се, че увеличение в нивата на опиоидите се наблюдава при достигане поне на 75 % от максимална кислородна консумация., като пикът на повишение е 3-4 часа след натоварване, по време на възстановителния период. Този факт съвпада със спецификата на натоварванията със статичен характер (феномен на Линдхард), при който промените в кардио-респираторната система са по-силно изразени след прекратяване на физическото усилие, отколкото по време на самото изпълнение. Bush et al. (1999) докладват, че нивата на серумния про-енкефалин при субмаксимално натоварване при щангисти, са понижени в първата минута след натоварването, но се увеличават значително 3 часа след него, а нивата на лактат и катехоламини веднага след усилието са повишени. При субмаксимални натоварвания на тредмил, повишението на ендорфините е 2 пъти, увеличава се и концентрацията на лактата и тази на катехоамините. Gardon et al. (1989) и Koltyn & Arbogast (1999) не откриват разлики, нито в нивата на опиоидите след силови упражнения, нито промени в болковите параметри.

Макар, че отговорът на ендогенната опиоидна система при физическо натоварване силно варира и концентрацията на опиоиди, които се освобождават зависи от интензитета и продължителността на усилието, безспорен е ефектът им не само при модулиране на болковия стимул, но и при формирането на еуфорията и възстановяването.

Друг фактор, които може да повлияе освобождаването на опиоиди при анаеробни натоварвания е метаболитната ацидоза в резултат на промени в алкално-киселинното равновесие, свързано с увеличение на лактатните нива и т.нар. излишък от основи. Установено е, че именно тези два параметъра корелират в най-висока степен с повишените ендорфинни нива в периферията (Taylor et al., 1994). Тази корелация е налице не само по време на натоварване, но и във възстановителния период след субмаксимални натоварвания. Вероятно освободеният бета-ендорфин потенциира освобождаването на катехоамини, АКТХ и др., което увеличава анаеробния капацитет и ацидозния толеранс.

Смята се, че глюкозната регулация също има значение за освобождаването на ендогенни опиоиди при натоварване, тъй като: (1) опиоиди са изолирани от надбъбречна жлеза, хипоталамо-хипофизна система, т.е. тъкани и органи, които участват в поддържане нивата на кръвна захар в организма; (2) бета-ендорфинът води до повишение в нивата на глюкозата; (3) ендорфините повлияват и двата панкреатични хормона – глюкагон и инсулин.

Установено е, че активирането на III и IV четвърти тип аференти в скелетните мускули при мускулни съкращения (Amann et al., 2010), води до освобождаване на по-голямо количество бета-ендорфин и глюкагон. Това от своя страна води до адаптация към повишените изисквания на метаболизма по време на натоварване. Според Vettor et al. (1987) ендорфините повлияват и липолитичната активност, като активират бета-окислението и мобилизацията на повече енергийни субстрати при „интензивни“ условия.

Енкефалините и ендорфините участват също в модулацията на нивата на адреналин и норадреналин и изцяло върху симпато-адреномедуларната система, като понижават нивата на катехоамините, ако същите са много високи. Например, при натоварване с интензивност по-голяма от 75% от максималната кислородна консумация. По време на натоварване тази инхибиция е маскирана от силно активираната хипоталамо-хипофизо-надбъбречната ос, но след края на натоварването ендорфините, заедно с парасимпатиковата част на вегетативната нерва система, водят до сравнително слабо изразена хипотония (Olson et al., 1994).

Предполага се още, че освобождаването на ендорфини при натоварване е свързано с повишението на белодробната вентилация, т.е. първоначално повишения вентилаторен праг води до синтезата на опиоиди, които пък от своя страна редуцират вентилацията и намаляват респираторния дискомфорт (Yeadon&Kitchen, 1989; Kapoor, 2012). Вероятно ендорфините участват, както в поддържането на скелетно-мускулни съкращения, така също и в процесът на генериране на умора, като повлияват индиректно централните структури, моделиращи защитните реакции на организма (Hilty et al., 2011).

От казаното дотук може да обобщим, че освободените при физическо натоварване опиоиди, вероятно участват в: (1) поддържането на мускулните съкращения и предпазват организма от преумора; (2) увеличават вентилаторния праг и глюкозната концентрация в кръвта, като по този начин участват в обезпечаването на енергетичните нужди на организма по време на натоварване; (3) понижават мускулния дискофорт, като модулират болковата перцепция и потенциират еуфорията; (4) стимулират бета-окислението; и (5) понижават силно повишени нива на адреналина и норадреналина. Това води до повишен толеранс към физическите натоварвания, като се подобрява тоталния работен капацитет на организма и максималната ергометрична работоспособност.

Тази ендорфинова хипотеза обаче, не може да обясни напълно някои механизми на модулация по време на натоварване, а и повдига различни въпроси. Например, бета-ендорфинът има същата аминокисленна последователност както и останалите пептиди от семейството на проопимеланокортина, като АКТХ, така че при изследване с белязани

антитела, се получат неточни резултати. Проблемът се задълбочава и от факта, че концентрацията на АКТХ също е увеличена по време на натоварване.

От друга страна, бета-ендорфинът се свързва предимно с μ-опиодните рецептори и именно те опосредстват аналгетичния ефект и еуфорията при физическо натоварване. Дори минимална активация на ЕОС може да доведе до силно потискане на дишането, а също така свиване на зениците, инхибиране на перисталтиката. Тези промени не се наблюдават при състезателите. Най-противоречивия факт в тази ендорфинова хипотеза е, че нивата на ендорфините се определят в периферното кръвообращение и поради етични съображения не могат да бъдат проследени промените им на централно ниво. Тъй като ендорфините са твърде големи молекули, би трябвало да имат затруднения при преминаването на кръвно-мозъчната бариера, така че ефектите им на ниво централна нервна система са силно дискусионни (Kolata, 2002).

Има доказателства и за наличието на друг механизъм, който също участва при формирането на „runner's high" и вероятно модулира ефектите и/или взаимодейства с ендоопиоидите. Редица изследвания (Sparling et al., 2003; Dietrich & McDaniel, 2002), доказват участието на ендогенната канабиноидна система в модулацията на ноцицепцията и психо-емоционалните компоненти при физическо усилие. Те доказват повишени плазмени нива на анандамид след 50 минутно натоварване на велоергометър, с пулс 70-80% от максималната пулсова честота. Активирането на ЕКС (Munro et al., 1993; Mechoulam et al., 1995) също води до аналгезия и промени в емоционално-когнитивния статус, а това предполага, че и някои физиологичните промени по време на натоварване да се дължат именно на тази система.

Предполага се, че анандамидът и 2-AG имат различна концентрацията в централната нервна система, а в периферията концентрацията им е почти еднаква. Допуска се, че анандамидът има по-голям афинитет за свързване с CB1 рецепторите, докато 2-AG може да се свързва с CB1 и CB2 рецепторите. Тъй като двата ендогенни агониста са липидни молекули и бързо се метаболизират в междуклетъчното пространство, вероятно се синтезират близо до мястото на тяхното действие. Смята се, че хипоалгезията при физическо натоварване се медиира именно от CB1 рецепторите, тъй като тяхната гъстота е голяма в ЦНС и върху периферни нервни окончания като С-влакна, А-бета и А-делта влакна, а също и в задните рога на гръбначния мозък (Hohmann et al., 1999; Ong et al., 1999).

Доказано е, че канабиноидните рецептори в задния рог на лумбалния дял на гръбначния мозък се активират при действието на термичен болков стимул при плъхове

(Hohmann, 1999). Meng et al. (1999) откриват невронален механизъм, който включва RVM и води до активиране на канабиноидни рецептори. Въпреки, че RVM невроните модулират и болковата перцепция при въвеждане на морфин, вероятно има и независим, отделен механизъм на антиноцицепция чрез ЕКС. Както вече споменахме, ендоканабиноидите повлияват и болковта перцепция на ниво PAG, където плътността на опиоидни рецептори също е голяма (Walker et al., 1999). Подкожното въвеждане на формалин, води до повишение на концентрацията на анандамида в PAG. Всичко това показва, че вероятно ЕКС участва в модулацията на болкови стимули, предизвикани от различни по природа алгогенни стимули. Предполага се, че между двете системи – опиоидна и канабиноидна, съществува синергичен ефект и/или двупосочно взаимодействие при осъществяване на антиноцицепцията. Например, въвеждането на налоксон води до понижение на болковия праг при канабиноид-зависими плъхове, докато въвеждане на SR141716A, който е CB1 рецепторен антагонист, също понижава болковия праг при морфин-зависими плъхове (Navarro et al., 1998).

Въпреки това, между двете системи има някои съществени разлики. Предполага се, че канабиноидите инициират хипоалгезия в периферията на тялото, но тъй като са липидни молекули, могат да премината кръвно-мозъчната бариера и да участват в „обезболяването“ на централно ниво, т.е. повишените плазмени нива на анандамид при натоварване могат да предизвикат промени в структури в ЦНС, модулиращи болковата перцепция. Редица изследвания (Richardson et al., 1998; Richardson, 2000) показват, че ендоканабиноидите модулират болковата перцепция по различен начин, в зависимост от неговата природа (механичен, термичен, химичен), т. е. остава неясен въпросът дали различни по вид и по продължителност натоварвания, като натоварване със средна и ниска интензивност (тенис, баскетбол и силови натоварвания), биха активирали ЕКС по различен начин. Особено интересна е модулацията на СИА при плуване, поради предположението, че ЕКС индуцира хипоалгезия при активиране на CB1 рецептори в кожата (Calignano et al., 2000).

Трябва да се отбележи също, че ЕКС не води до инхибиране на дишането и намаляване в диаметъра на зеницата или потискане на гастро-интестиналния тракт. Също така, анандамидът инхибира възпалението и образуването на отток и дори в ниски концентрации (недостатъчни за индуциране на аналгезия), повлиява болка, причинена от химичен дразнител (Paluska & Schwenk, 2000; Sulcova et al., 1998). Това предполага, участието му при туширане на мускулната болка, която отчасти се дължи на образуването на лактат при натоварване.

CB1 рецепторите са с голяма плътност в центрове и структури, свързани с познанието, емоциите и оперативната памет. Pistis et al., (2001) предполагат, че канабиноидите оказват отрицателен ефект върху допаминергичната активност на префронталния кортекс. Dietrich и Sparling (2004) доказват дефицити в някои когнитивни функции по време на натоварване при по продължително бягане или велоергометричен тест, което може да се дължи на намален метаболизъм в префронталния кортекс.

Най-голям брой CB1 рецептори са доказани в базалните ганглии и малкия мозък, което предполага участието на ЕКС в моторния контрол (Herkenham et al., 1991; Glass et al., 1997). В по-големи дози те водят до добре познато и неясно инхибиране на движенията и това е очаквано, тъй като канабиноидите често се използват при лечение на тикове, тремори и дистония (MuËller-Vahl et al., 1999). В по-малки дози какабиноидите водят до хиперактивност (Seђudo-Pena et al., 2000). Например, интрацереброventрикуларно въвеждане на малки дози анандамид води до повишаване на локомоцията, докато мишки-CB1 knockout са изключително хипоактивни (Steiner et al., 1999). Вероятно канабиноидите участват в регулацията на движенията чрез повлияване на трансмитерните системи в базалните ганглии, където те повишават освобождаването на ГАМК и инхибират глутамат и обратното захващане на допамина (Pistis et al., 2001). В допълнение, нивата на анадамид в дорзалната част на стриатума се повишават при свободно движещи се плъхове (Piomelli, 2003). Трябва да се отбележи, че само добре автоматизираните движения, т.е. предимно двигателните навици, се регулират от базалните гангии (Jenkins et al., 1994). Например бягането, като сравнително „просто“ и автоматизирано движение, активира в по-голяма степен ЕКС, в сравнение с игри като баскетбол, тенис и пр.

От друга страна анандамидът има няколко периферни ефекта, свързани с физическото натоваване. Garcia et al. (2000), Hillard (2000), Wagner et al. (2001) докладват, че той действа като вазодилататор и понижава стойностите на кръвното налягане, и така облекачава кръвотока към натоварените мускули. Смята се, че този ефект на анандамида се опосредства от CB1 и CB2 рецептори.

От всичко казано до тук, може да се заключи, че ендоканабиноидите участват не само при ХИФН, но повлияват кръвотока и респираторната система, а по този начин и енергоосигуряването по време на натоварване. Освен това, те вероятно участват в моделирането на движенията, изграждането на двигателен навик и формирането на психично-емоционалните афекти при физическо усилие.

2.3. Забавена мускулна болезненост (DOMS) след ексцентрични мускулни съкращения

Забавеното начало на мускулна болезненост, известно като delayed onset of muscle soreness (DOMS) или мускулна треска е явление, отдавна познато в практиката и обект на научни изследвания (Prsartwuth et al., 2005; Proske U., Morgan DL, 2001; LaStayo, 2003; Proske U., Allen T., 2005; Prasartwuth et al., 2005; Chen T., 2005). Болката се усеща, само когато мускулите се разтягат, движат се или са поставени под натиск, но не и когато са в покой. Симптомите, които характеризират DOMS са свързани с поява на болка, оток, скованост на мускулите, намаляване на мускулната сила, намаляване на обема на движение.

Забавената мускулна болезненост е различна от острата мускулна болка, която е налице по време или веднага след физическото усилие. Тя започва 12-24 часа след натоварването и може да продължи 48-72 часа след мускулната работа. Смята се, че най-често се генерира при преобладаващи удължаващи или ексцентрични мускулни съкращения, но трябва да се отбележи, че DOMS може да бъде индуцирана и при концентрични мускулни съкращения, които са с голяма мощност и когато се преодолява значително съпротивление. При ексцентричните мускулни съкращения се извършва отрицателна мускулна работа, т.е. когато приложената външна сила или съпротивление са по-големи от генерираната от мускула сила (Пенчева, 2007). Вследствие на това, въпреки тензията си, мускулните влакна се удължават и залавните места на мускула се раздалечават. Ексцентричното мускулно действие се използва и тогава, когато трябва да се забави даден сегмент и да се спре ускорението му.

2.3.1. Специфика на ексцентричните мускулни съкращения и феноменът DOMS

На практика лесно се доказва, че ако един мускул предварително се разтегне, то той може да развие по-голяма сила. Защото в последващото концентрично съкращение освен акто-миозиновият комплекс, в генерираната сила участват и пружинните или еластични свойства. Генерирането на напрежение в мускулите се извършва чрез промяна на пространствената конфигурация на белтъците, която се предава на костно-ставния апарат посредсвом ендо- и екзосаркомерния скелет и съединителната тъкан. Така се реализира нормалната двигателна активност.

Когато мускулите работят в ескцентричен режим, те действат като амортисьори при преодоляване на гравитационни, линейни и ъглови ускорения, придавайки плавност и баланс на движението, като акумулират еластичната енергия на опън, непозволявайки й да

се разсее като топлина. При проявяването на този ефект, съществена роля имат механичните протеини на ендо- и екзосаркомерния цитоскелет, обуславящи еластичните свойства на миофибрилите (Пенчева, 2007).

Най-добре проучените компоненти на ендосаркомерния цитоскелет са протеините титин и небулин. Известно е, че най-съществена роля за проявлението на еластични свойства от миофибрилата има титина. Той е огромен, силно спирализиран белтък, който действа като система от последователно свързани пружини, които при разтягане генерират в себе си напрежение. В нормалната двигателна активност еластичните свойства на мускулите зависят още от сухожилията и съединителната тъкан. Следователно силата, която мускулът може да развие при съкращението си, е два вида: пасивна – обусловена от свойствата на съединителната тъкан и цитоскелета, и активна – в резултат от действието на съкратителните белтъци актин и миозин и образуването на напречните мостчета. Тази идея е залегнала в основата на т. нар. реологичен модел на мускула (Hill, 1999).

Известно е, че скоростта на мускулното съкращение зависи от отношението между изометричната сила, която може да развие и големината на товара приложен върху фибрите му. Това показва, че с увеличаване на скоростта на скъсяване на миофибрилите, се намалява товара, който може да се повдигне. Също така, че скоростта на скъсяващите съкращения е положителна, а на удължаващите е отрицателна и при удължаване силата на мускула е по-голяма от максималната му изометрична сила. Тези факти са експериментално изследвани на различни нива и понастоящем е доказано, че ексцентричната работа: (1) има най-ниски метаболитни разходи; (2) генерира най-ефективна хипертрофия; (3) по-ефективна е от концентричната тренировка, защото генерира по-голямо напрежение в съкратителния апарат и предизвиква по-голям анаболитен отговор. Сателитните клетки, които при механичен опън пролиферират в скелетните миобласти и са отговорни за хипертрофията при физическо натоварване, се увеличават в най-голяма степен след ексцентрично натоварване. Има данни, че ремоделиране се наблюдава и в костите след ексцентрична работа, което повлиява остеопенията (Proske et al., 2003).

При ексцентрични натоварвания, кислородната консумация, като лимитиращ фактор на физическото натоварване, е най-малка и поради ниските си енергийни и метаболитни разходи ексцентричните натоварвания са щадящи за сърдечно-съдовата и респираторната система. След първоначална ексцентрична работа, която води до повишена мускулна болезненост, следва уникална адаптация и ремоделиране в скелетно-мускулната система, която има защитен ефект при повторни ексцентрични натоварвания („second bout effect“ или

„repeated bout effect“). В хода на тази адаптация, чрез генна експресия се увеличава броят на саркомерите в мускулните влакна.

Мускулна треска, повишената мускулна болезненост и възможност за поява на микроувреди, обаче, са сравнително бързопреходни.

Причините за механичните увреди и изявата на подобни симптоми се предполага, че са микроразкъсвания в саркомерите, особено в областта на инсерциите на мускулите, което води до увреди на сарколемата и саркоплазматичния ретикулум и предизвиква местна възпалителна реакция с последващ имунен отговор (Proske, Chen, 2005). Допуска се също, че вероятно се развива локално по-висока температура в мястото на опън водещо до метаболитни и структурни промени, а натрупването на отпадни метаболити в резултат на имунния отговор допълнително влошава симптоматиката. Като причина за механичните увреди се посочват още влошеното вътреклетъчно дишане и натрупването на свободни радикали (Пенчева, 2007).

Много специфична при ексцентричното натоварване е промяната в динамиката на болковата симтоматика. Болката се проявява със забавено начало, обикновенно по литературни данни между 12-тия и 24-тия час след натоварването. Нейния пик се регистрира между 24-тия и 48-мия час, след което започва постепенно да стихва, за да отшуми напълно до към 5-тия-7-мия ден.

2.3.2. Молекулни механизми на DOMS

Преразтягането на мускулните влакна е причина за микро увреди, които причиняват местна възпалителна реакция. Механизмът на увредата е открит неотдавна и е все още до голяма степен дискусионен (Szimanski, 2001; LaStayo et al., 2003). Освен настъпването на промяна в динамиката на нивата на болковите прагове и болковия толеранс, са регистрирани и редица други симптоми, като намаление в обема на движение, спад на изометричната сила на мускулите, отток и др.

Механизма на увредата е бил описан за първи път през 1902 година. Първите хипотези предполагат, че болката настъпва в резултат на натрупването на млечна киселина в мускулите. Към настоящия момент, това се счита за малко вероятно, защото е доказано, че нивата на лактата в кръвта се връщат към нормалните си стойности в рамките на 1 до 2 часа след натоварването. Съвременните хипотези отчитат факта, че това което се наблюдава и придружава болезнеността, са микроразкъсвания в областта на миофиламентите, особено в областта на Z-дисковете, увреждания на мускулната съединителна тъкан, както и

увреждания на мембраните на саркомерите и Т-системата, водещо до неконтролируемо нахлуване на Ca+ в саркоплазмата (LaStayo et al., 2003). Увредата на тъканите, предизвиква местна възпалителна реакция и натрупване на отпадни метаболити в резултат на имунния отговор, което допълнително влошава симптоматиката. Тъканната увреда, може да се отнесе най-пряко с болезнеността на мускулите, тъй като това може да повиши механичната чувствителност на мускулните ноцицептори или рецепторите за болка, в резултат на което започва да се усеща болка по време на разтягане и палпация (Nosaka, 2008). В същото време забавената поява на симптомите на възпалението се обяснява с необходимостта от време за повишаване на чувствителността на ноцицепторите.

Болезнеността може да варира от дискомфорт до непоносима болка, като това зависи от както от интензивността и продължителността на натоварване, така и и новите упражнения включени в натоварването. Въпреки, че DOMS не повлиява изцяло здравословното състояние на организма, то може да се характеризира с намаление в мускулната сила и координацията при определени движения. Нещо повече, компенсаторни движения могат също да се наблюдават като част от реакцията на организма по време на DOMS (Nelson, 2013).

Предполага се, че повторното натоварване може да има предпазен и аналгезичен ефект. Заедно с това повторното натоварване може да доведе до по- слабо изразено намаляване на мускулната сила, по-малка болезненост и по-малко освобождаване на белтъци в периферното кръвообращение, Въпреки това точни механизъм на превенция е неясен, като се предполага, че повторните физически занимания подобряват активирането на моторните единици, тъй като по-голям брой двигателни единици се активират при второто натоварване. Предполага се и образуването на защитни белтъци върху саркоплазмантични ретикулум. Ефикасността на повторните физически занимания е по-високо първите 14 дни след натоварването и постепенно намалява, като след около 42 дни след първото натоварване, напълно изчезва.

Мускулна увреда. Въпреки, че конкретните механизми не са напълно изяснени, все повече учени отхвърлят възможността млечната киселина да е ключова в развитието на мускулната треска след физическо натоварване, тъй като е установено че нейните стойности 1 част след натоварване се връщат към стойностите преди физическото усилие, а DOMS започва да се усеща едва след 12 – 24 часа след натоварването. Предполага се, че основната причина за DOMS е разкъсванията и микроувредите в саркомерите, разкъсване на мембраната на саркоплазматичен ретикулум, Т-системата и сарколемата. По време на тези увреждания

калциевите йони могат свободно да се движат в саркоплазмата, където вероятно активират пътища свързани с разграждане и/или възстановяване на миофибрилите (Proske & Allen, 2005). Механичните увреди в мускулните влакна, инициират възпалителен отговор, което води до увеличение на синтезата на простагландините (простагландин Е2) и левкотриени. Простагландин Е2 директно повлиява активността на III и IV тип болкови аференти, които сигнализират за наличието на химичен алгоген стимул, докато левкотриените повишават пропускливостта на капилярите и прилвичат неутрофили в засегнатия участък. Неутрофилите генерират свободни радикали, които мога да увеличат увреждането на клетъчната мембрана.

Подуването е резултати от изливането на клетъчното съдържими и повишената пропускливост на капилярната стена към интрастециалното пространство, която заедно с възпалението води до увеличение на болковата сетивност. Разположението на увредените мускулни влакна в мускула е спорадично (Lieber & Friden, 1991) и болковата чувствителност, която се появява в последствие може да бъде в различни райони, но най – често е налице близо до мускулното коремче (Edwards et al., 1996). По дължината на мускулното влакно не всички сарокомери са разкъсани (Lieber & Friden, 1991) и дори мускулните влакна в непосредствена близост до съкращаващите се мускулни групи запазват целостта си.

Предполага се, още, че е налице и повишение в серумните концентрации на креатинкиназата, която е маркер и за други мускулни увреди. Установено е, болезненост, обаче, че някои индивиди имат по-високи нива на креатинкиназа, в сравнение с други след същото по вид и продължителност натоварване. Трябва да се има предвид също така, че активността на креатинкиназата се влияе и от други фактори като други увреди в тъканите, генетични фактори, възраст и пол (Baird et al., 2012). Това дава основани на редица автори, да се съмняват в достоверността на резултатите, че повишената активност на този ензим е показател на мускулна увреда и нарушение в целостта на мускула след преобладаващи ексцентрични съкращения, или е в следствие от нормална метаболитна активност (Baird et al., 2012).

Има автори, които дори се съмняват, че мускулната болезненост е свързана с мускулна увреда. Crameri et al. (2007) сравняват ефектът на нормални (волеви) мускулни съкращения с ефектът на мускулни съкращения след електрическа стимулация и установява значително по-малка мускулна увреда при волевото мускулно съкращение, въпреки факта, че и двете експериментални групи имат сходни нива на мускулна болезненост. Това дава основание да се предположи, че мускулната увреда не винаги корелира с мускулната болезненост и че високо интензивните ексцентрични съкращения в действителност предизвикват по-скоро увреди в

екстрацелуларния матрикс. Тези промени от своя страна водят до интерстециално възпаление, последвано от болкова симптоматика. Yu et al. (2004), предполагат, че по- скоро е налице ремоделиране на протеините в миофибрилите, отколкото мускулни увреди. От тези резултати, трябва да се има предвид, че най-вероятно DOMS се дължи именно на увреди в мускулните влакна, но трябва да се отбележи, че някои от изследваните лица може да изпитват мускулна болезненост и без наличие на увреди в мускулите.

Оток и възпаление. Предполага се, че ексцентричните натоварвания, водят до увреди в мембрана на мускулните клетки, което провокира възпалителен отговор (Connolly et al., 2003), при който се образуват редица метаболитни продукти, които действат като химични стимули на III и IV тип аференти, които директно повлияват болковото усещане. Тези отпадни метаболитни продукти променят пермеабилитета на капилярите и привличат неутрофили и цитокини към мястото на увреждането. Неутрофилите, от своя страна, генерират свободни радикали, които още повече увреждат сарколемата и привличат още повече неутрофили и цитокини. Оттокът, който се получава се дължи на движението на флуиди от вътрешността на клетката към екстрацелуларния матрикс (Dessem et al., 2010). Предполага че, че възпалителния отговор зависи пряко от типа/продължителността на ексцентричното натоварване, възрастта и пола (Peake et al., 2005).

Невронална адаптация. Редица изследователи забелязват, че DOMS и „repeated/second bout effect" имат по – общ резултат, известен като ''cross'' трансфер или „обучение", където увеличавието на мускулната сила и намаляването на мускулната болезненост е в пряка зависимост от „repeated bout effect", което в някаква степен може да рефлектира и върху „ненатоварените" части на тялото. Munn et al. (2004), докладват за повишение в мускулната сила на „натоварения" крайник с 35 % и повишение на силата с 7.8 % в „ненатоварения" крайник. По – късно тези резултатите са подкрепени и от Starbucks & Eston (2012), които също отчитат повишение на мускулната сила и в „ненатоварения" крайник. Тези данни дават основание да се предположи, че вероятно DOMS медиира и опосредства някои адаптационни промени на централно ниво, тъй като няма друга директна стимулация при ненатоварените мускули.

Психологични медиатори. В последните няколко години, редица автори отбелязват влиянието на психо-социални и психологически фактори върху болковото усещане (Galchel et al., 2007). Някои от тях вероятно могат да повлияят и мускулната болезненост след ексцентрични мускулни съкращения. Тъй като болковото усещане не зависи само от мускулните увреди, но и от личния опит на индивида, генетични фактори, история, духовното

състояние на личността и социално културни особености (Galchel et al., 2007; George et al., 2007). Така например George et al. (2007), изследват доброволци като индуцират DOMS при ротация в раменна става, като преди ексцентричното натоварване доброволците попълват въпросник с оценка на нивото на страх и се изследват за наличието на специфичен ген, свързан с хроничната болка (COMT генотип, ензим свързан с болковата модулация). Резултатите показват, че индивидите, които имат по – голямо чувство на страх преди натоварването и намалена активност на COMT ензима (по – висока болкова чувствителност) имат силно изразени DOMS симптоми. Trost et al. (2011) също отбелязват, че при индуциране на мускулна треска в екстензорите на трупа, доброволците, които имат по-високи нива на страх имат по-малка мускулна сила и хипербдителност при оценка на експерименталната болка.

Въпреки, че дискусията около точните механизми на DOMS, продължава, основните предположения са насочени към микроувредите в мускулните влакна и свързаните с тях тъкани и последващия възпалителен процес и оток. Тези фактори се обуславят от генетични дадености, ниво на тренираност, възраст, редица психологични фактори, което води до различна степен, а понякога и характеристика на DOMS.

Въпреки, че DOMS е симптом свързан с усещане за мускулен дискомфорт, големината му не отразява степента на мускулната увреда. Симптомите, които го характеризират, се развиват самостоятелно във времето един от друг (Connoly et al., 2003; Szymanski 2001), така че болезнеността не води до разтройство на мускулната функция (Nosaka 2006). Болезнеността по-скоро може да послужи като предупреждение за намаляване на двигателната активност, така че да се предотврати по-нататъшна нова увреда. Спирането на активната двигателна дейност облекчава болката, въпреки че няма отношение към по-бързото възстановяване. При адаптацията на мускулите към ексцентрични натоварвания, освен процеси на ремоделиране в мускулите на нивото на саркомерите, „донаждане“ на саркомери във влакната (Proske & Chen, 2005), хипертрофия и др., се повлияват и проприоцептивните рефлекси, двигателните качества (сила, бързина, гъвкавост и пр.) и др. Ефектът се проявява най-вече при специфично натоварените мускули, но някой резултати в литературата дават основание да се счита, че той се проявява и при останалите мускули. Степента на изява на ефекта варира при отделните индивиди в зависимост от времето между отделните натоварвания, броят и продължителността на ексцентричните контракции и двигателния режим.

Изложените данни, за механизмите на DOMS на субклетъчно ниво, са в съответствие със съвременните представи за уникалните терапевтични ефекти от приложението на ексцентричните съкращения (Пенчева 2007; LaStayo et al. 2003; Proske & Allen 2005).

2.3.3. Експериментални модели на DOMS

За да бъдат по-добре проучени механизми в развитието и появата на DOMS и за да има възможност за тестване на аналгезични техники/вещества, се появява необходимостта от експериментално създаване на стандартизирани модели на DOMS, при чиято повторяемост в практиката да се даде възможност за задълбочени проучвания. В този аспект, подобен тип проучвания биха били много полезни, както за спорта и спортната тренировка, рехабилитацията, така и при фундаментални изследвани и тестване на техники, облекчаващи болковата симптоматика.

При такива изследвания, могат да се проучат механизмите на възникване, начините за преодоляване на DOMS, както и причините за проявява толкова важния „second/repeated boat effect“. Може също така, да се изследват адаптационните промени, появяващи се в резултат на отключване на процесите на ремоделиране и на експресията на гени.

Важно е детайлно да се проучат причините за възникването на болката, както и нейната динамика във времето. Как се променя тя при различните типове ексцентрични натоварвания? Как се проявява при различни като обем и интензивност физически натоварвания? Има ли връзка между различията в динамиката на болковите прагове и болковия толеранс, и използването на различни физикални средства, при преодоляването на симптомите на DOMS?

За създаване модели на забавено начало на мускулната болезненост, често се използват динамометри или системи, определящи мускулната сила като изокинетични динамометри. С изокинетичния динамометър могат да се изпълняват различни видове мускулни съкращения – концентрични, ексцентрични, изометрични и да се определят различни показатели като сила, въртящ момент и пр. Изокинетичният динамометър може да се използва за тестване и оценка на мускулите на професионални спортисти. С точното измерване на въртящия момент и обхвата на движението, мускулната динамика е безопасна и под прецизен контрол. Тестването след това предлага достоверни данни, благодарение на които да се контролират по-ефикасно резултатите от лечението. В редица изследвания на различни автори се анализират експериментални модели на DOMS (Zainuddin, 2005; Proske, 2005; Chen, 2003; Frey Law et al., 2008).

Освен чрез изокинетичен динамометър, DOMS може да се индуцира и чрез използване на различни тежести – гири и дъмбели, като продължителността на фазата на екстензия и флексия бъде стандартизирана чрез използване на метроном (Nosaka et al. 2001)

В литературата все по-често се прилагат модели на мускулната треска върху много малки мускулни групи (Arima et al., 1999) или върду отделен мускул. Пример за подобен модел е индуциране на експериментална болка в m. masseter с дъвка (Yoshida et al., 2012).

2.4. Методология за оценка на експериментална болка при хора, индуцирана при стимулация на дълбоките механорецептори

Оценка на експериментална болка. Според международната асоциация за изследване на болка (International Association for Study Pain), тя представлява „неприятно сетивно или емоционално изживяване, свързано с действително или потенциалнно тъканно нараняване“. В усещането за болка се включват освен физиологични и редица психологични и психо-социални фактори. Терминът ноцицепция, въведен от Sherington през 1910 година, означава приемането, предаването и преработката на информация за увреждане на тъканите, т.е. болката е субективен израз на ноцицепцията. Тя е естествена защитна реакция на организма, чрез която се избягват увреждащи дразнители. Интензитетът и характера на болката могат да се модулират от силата, продължителността и мястото на действие на дразнителя, а също и от индивидуалната оценка на болката, минал опит, културни особености и пр.

Болковите стимули, се предават от периферията през латералната част на таламуса до соматосензорната мозъчна кора (S1 и S2) и предната инсуларна кора (Price et al., 2002).

Емоционалната компонента на болката или афектно-мотивационния ноцицептивен ефект се формира основно от лимбичната система – активира се предната цингуларна кора и предната инсуларна кора (Moisset & Bouhassira, 2007). Доказано е, че физиологичният отговор при болка, като промени в кръвното налягане и кожно-галваничният отговор, се опосредстват от невронални структури, различни от соматосензорната кора (Boggio et al., 2008).

Болката винаги е субективно усещане, като нейната оценка при човека зависи от пола, възрастта, културни традиции, минал опит и пр. (Turk & Melzack, 2011). Изследването интензитета на болката, качествената и количествена оценка на болковия стимул,

локализацията на дразненето са от изключително значение за поставяне на конкретна диагноза и правилно лечение в клиничната практика (Lundeberg et al, 2001), а също и в научно-изследователската сфера, при тестване на различни техники за експериментално-инициирана болка и ефекти на аналгетични процедури/субстанции.

Основните принципи, на които трябва да отговарят техниките за експериментално индуцирана болка са: (1) да могат да се прилагат, както в клиничната практика, така и при фундаментални изследвания; (2) да дават възможност за възпроизводими резултати; (3) са чувствителни при промени в интензивността на болката; (4) да се прилагат лесно и при пациенти и при здрави хора.

При количествено определяне на болката се използват *пет основни методики:* (1) методи, определящи прага на болката и промените в него; (2) методи, определящи толерантността към болка и промените в нея; (3) определяне на промяната в поведението при лабораторните задачи; (4) рейтинг-скалирани скали (болката се определя в цифрови интервали); (5) магнитудно скалиране (чрез цифра се определя сензорния интензитет) (Шотеков, 1998).

Основните методи за оценка на болкови параметри и афект, включват следните скали: (1) вербална рейтингова скала (прилагателни описващи болката, например – дискомфорт, болков праг, силна поносима болка и пр.); (2) визуално-аналогови скали (най-често това е линия дълга 10 cm, където „0“ е „няма болка“, а „10“ – „най-силна възможна болка“); (3) картинна скала изобразява 8 различни лица, от весели, спокойни до различна степен на болкови гримаси; (4) цифрова рейтинг-скала определя се в цифри болковата интензивност, например от 1 до 10; (5) описателно-диференцираща скала – удобна при изследване на болков интензитет; (6) болково-дискомфортна скала – оценява отрицателния афект от болката (от 1 до 5 точки); (7) електронна скала – при отчитане на болков рейтинг със специализиран софтуер (Pencheva et al., 2009).

Оценката на болковата локализация дава информация за това дали е външна или вътрешна, определят се зоните на болка и пр.

Най-общо при оценка на болкови стимули се вземат предвид качеството и чувствителността на усещането, афективните усещания и субективната интензивност на тоталната болка. Най-често използваните методи за характеристика на болката, както в клиничната практика, така и при експериментално изследване на болка, са визуално – аналоговата скала (ВАС) и въпросникът на McGill, който има множество модификации.

Съществуват и някои физиологични или психо-физиологични изследвания, които може да се използват за оценка степента на болка (най-вече хронична обаче). При тях се използва електромиографията, симпатиков кожен отговор, термометрия, доплерова сонография, оценка на артериален пулс и кръвно налягане, лабораторни изследвания и пр.

Методи за индуциране на експериментална болка, при стимулиране на механорецептори

Основните параметри, който се изследват при експериментално индуцираната болка, са болков праг, праг на болков толеранс и болков рейтинг. Боковият праг най-често се определя като най-малкото усещане за болка, което човек може да разпознае като такова (Fischer et al., 1988). Според психологични изследвания, прагът обикновено е стойността на дразнителя, при която той е на 50 % разпознат. Изследването му в лабораторни условия е ключов момент при експерименти с хора (Parhizgar & Ekhtiari, 2010). Като праг на болковия толеранс се определя онази интензивност на дразнителя, при която изследваното лице може да издържи, но не иска повече да изтърпява болката (Polianskis et al., 2002). Болковият рейтинг се оценява чрез използване на ВАС и техники, при които силата на дразнителя е постоянна и действа за определен период.

Болковите модели могат да бъдат класифицирани въз основа на: (1) механизма на възникване на болка (възпалителни и невропатични); (2) тъканите, които ще се изследват (кожа, мускули или вътрешни органи); (3) продължителността на действие (фазични – с кратък период на действие и тонични – с продължителност няколко min).

Най-важното разделение, обаче, е това дали болковия модел предизвиква централна или периферна сенситизация. Въпреки, че двете форми на чувствителност са строго различни, голяма част от методите, характеризират едновременно двете компоненти (Sunil kimar Reddy et al., 2012).

За индуциране на експериментална болка, много често се използва механичен стимул и то най-вече налягане (Lazarou et al, 2009; Kinser et al., 2009, Ylinen et al., 2007). Изследването в клиничната практика на болков праг с механичен дразнител, се прави най-често с цел да се оценят най-чувствителните на болка области и оценка на хипо- и хипералгезичните промени при фундаментални изследвания. При използването на налягане, като алгогенен стимул, предаването на сетивната информация се опосредства предимно от А-делта и С-фибрите, но поради неспецифичността на метода могат да се активират както кожни рецептори, така и рецептори в по-дълбоките слоеве.

Болковите прагове, оценени чрез прилагане на налягане, се означават в литературата на английски език, най – често като pressure pain thresholds. Често използвания метод в медицината за генериране и оценка на болкова симптоматика е палпацията (Seffinger et all., 2004**).** Болката се оценява чрез използване на визуално-аналогова или вербална скала.

При изследване на експериментална болка при здрави лица, палпацията също е подходяща, особено за оценка на хипералгезични промени в мускулната тъкан след физическо усилие с преобладаващи ексцентрични съкращения и оценка на мускулна треска (Pencheva et al., 2007). Най-често прилаганите устройства за оценка на болкови параметри чрез механичен стимул, са ръчните алгометри. Предимството им е, че могат да се използват за изследване чувствителността на отделните части от тялото. Повечето устройства от този тип разполагат с плоски, метални и/или гумени накрайници с различен диаметър. При измерване на болковите параметри налягането постепенно нараства до настъпване на болково усещане. Надеждността на методът при определяне на болкови параметри е проследена от Nessbuan et al. (1998) при тестване на шийните и раменните мускули при пациенти с хронична болка в шията, установявайки сравнително задоволителни до високи стойности на корелационни коефициенти между 0.78 до 0.93. Въпреки това, обаче, при ръчните алгометри се наблюдава голяма вариабилност (Kinser et al., 2009) и сравнително малка възпроизводимост (Iseelee et al., 1997) на резултатите при повторни изследвания, но пък успешно се прилага на теренни условия.

При конкретно изследване, трябва да се проведат обучителни сесии на изследваните лица и да бъдат направени няколко последователни измервания върху различни точки. Доброволците трябва да се запознаят с начина на оценяване на болковите параметри. Lazarou (2009) дори препоръчва изследваните части на тялото да бъдат скрити от погледа на изследваното лице, за да не сугестира отговора си при вида на деформациите върху кожата при тестването.

Тъй като алгометрите, позволяват тестване на различна по големина площ и при различни градиенти на налягане, могат да се прилагат при изследване на времевата и пространствена сумация на акционните потенциали при ноцицептивен дразнител.

Друг метод за оценка на понижение в стойностите на болков праг е турникетова алгометрия (Pencheva et al., 2008). Въпреки, че и тук основния болков стимул е постепенното повишаване на налягането, някои автори, класифицират турникетовите техники към отделна група – т.нар. исхемична стимулация. Тези методики са изключително ефикасни при определяне на експериментална болка, но не са специфични, тъй като при тях

се дразнят кожа, мускули, периостиум и др., където заедно с активацията на ноцицепторите е възможно да се активират и ниско прагови неболкови аференти, а тази активация може да повлияе на болковото усещане. Тестването трябва да се провежда от един и същ изследовател, поради мануалното нагнетяване на въздух в маншета, а градиента на налягането трябва да се поддържа сравнително постоянен.

В последните години все по-често се прилага т.нар. компютъризирана система за пресорна алгометрия, както в клиничната практика (Polianskis et ал., 2001), така и при фундаментални изследвания (Stoilov et al., 2009). Системата се състои от специализиран софтуер, турникет, микроконтролер с аналогово-цифров преобразовател, датчик за налягане, въздушен компресор и 100 милиметрова електронна визуално-аналогова скала. Чрез скалата се съотнася субективната оценка на болковия рейтинг към приложеното налягане. Методът е прецизен и позволява сравнително точна количествена оценка на болкови параметри. С него също може да се оценява пространствената и времевата компонента на болковата сетивност. Софтуерът позволява построяване на стимул-отговор криви, приложението му при теренни условия е затруднено.

Методите за индуциране на експериментална болка, при използване на механичен дразнител са широко използвани, но конкретната техника за оценка на болкови параметри, зависи от целите на изследването, параметрите, които ще се проследяват и контингента, който ще се тества.

3. ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР

1. В литературата са представени много доказателства за съществуването на хипоалгезия в резултат на физическо натоварване с различна продължителност и интензитет, по механизма на стрес-индуцирана реакция. По-малко известни и сравнително малко проучени са данните за базалната ноцицепция преди натоварване при тренирани и нетренирани лица, както и промените в болковите прагове между натоварен и ненатоварен крайник, доминантен и недоминантен крайник и в отделни области на мускулите (залавно място, инервационна зона, начало на мускула).

2. Предпочитан подход при проследяване на промените в болковата перцепция при физическо натоварване е стимулацията на дълбоките механорецептори. Мануалната пресорната алгометрия, обаче, оценява предимно болковия праг, макар и с различен градиент на стимулацията. Оценката на болковия толеранс е обект на по-специализирани установки, някои от които уникални, за оценка на експериментална болка при хора. Това обуславя, някои методични страни в настоящата разработка

3. Разработването на модели на DOMS е актуално, защото подпомага фундаментални изследвания върху: (1) неврофизиологични механизми на DOMS; (2) методи за преодоляване на DOMS в областта на спорта и спортната тренировка; (3) методи за проследяване на DOMS при кинезитерапия и рехабилитация и др. Това се отнася, както за малки мускулни групи или дори единичен мускул, така и по-големи. Оскъдни са данните в достъпната литература за стандартизирани модели на DOMS.

4. Има изключително малко данни за модулацията на моторния контрол, който обуславя мускулната сила, от болковата перцепция и респективно болковите прагове. Няма данни за корелации за хипоалгезия, индуцирана при физическо натоварване и мускулната сила.

5. Ендоканабиноидната и опиоидна системи си взаимодействат по време на стрес, но не съществуват достатъчно данни за обособяване на единия и другия тип модулация като механизъм на повлияване.

4. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Цел на настоящият труд бе:

1. Да се оптимизират и развият модели за:

- оценка на експериментална болка при хора чрез стимулация на дълбоки механорецептори;
- индуциране на DOMS на единичен мускул и на група мускули;

2. Да се проследят промените в дълбоката механична болка при физическо натоварване на здрави нетренирани мъже като:

- хипоалгезия, в резултат на стрес–индуцирана аналгезия;
- хипералгезия, в резултат на превалиращи ексцентрични мускулни съкращения, които преизвикват забавено начало на мускулна болезненост (DOMS).

3. Да се изучат аналгетичните ефектите на ендогенна опиоидната и канабиноидната системи върху експериментални животни при стрес-индуцирани реакции,

- провокирани при имобилизационен стрес и
- физическо натоварване – плуване.

ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Съобразно целта на изследването, бяха поставени следните задачи:

1. Да се изследва базалната ноцицепция при експерименти с хора и сравнително да се проследят болковите прагове между натоварен и ненатоварен крайник, доминатен и недоминантен крайник и отделни области на мускулите (инсерция, инервационна зона, залавно място);
2. Да се изследват хипоалгезични промени в болковата перцепция при субмаксимално натоварване чрез прилагане на различни техники за оценка на дълбока механична болка (палпация; пресорна алгометрия с апарат за кръвно налягане; алгометрия с ръчен алгометър и компютъризирана система за пресорна алгометрия);
3. Да се разработят и изследват модели на DOMS при стимулация на единичен мускул и на група мускули;

4. Да се сравняване на болкови параметри при тренирани и нетренирани лица;
5. Да се изследва базалната ноцицепция при експериментални животни и да се проучи влиянието на ендогенна опиоидната и канабиноидната системи при стрес-индуцирана антиноцицепция, провокирани от имобилизация и физическо натоварване.

5. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

5.1. Изследвани лица, антропометрични данни и експериментални протоколи

Антропометрични измервания. Данните на изследваните лица (име, презиме, фамилия, възраст, доминантна ръка, доминантен крак, телесна маса, ръст и индекса на телесна маса (BMI), се нанасяха върху предварително изготвени протоколи (Приложение 2). Измерването на основните антропометрични показатели ръст (с точност 0.5 cm), тегло (с точност 50 g) и индекс на телесна маса се проведе със стандартна везна-ръстомер на немската фирма KERN.

Лицето заставаше със събрани пети и с гръб към ръстомера, като се опираше в него на следните три опорни точки: пети, междуглутеална гънка, интраскапуларна област. Главата беше в т.нар. стандартно положение, при което линията свързваща долния ръб на орбитата с външния слухов проход на ушната мида, трябва да бъде успоредна на пода. Ръстът се отчиташе по разстоянието от равнината за стъпване на ръстомера до най-високата точка на сагиталната линия на черепа.

След снемане на тези антропометрични параметри, измервахме кръвното налягане и пулса за оценка на общото състояние, с оглед на предстоящото максимално/субмаксимално натоварване. За целта, изследваното лице лягаше на кушетката и след 5-10 min релаксация измервахме сърдечната честота за 10 или 15 sec и умножавахме по 6 или 4 съответно. Пулсът се определяше и от апарата за кръвно налягане. После слагахме манометъра на лявата ръка и отбелязвахме стойностите на систолното и диастолното артериално кръвно налягане в протокола за изследване. Измерването направихме с дигиталния апарат за мерене на кръвно налягане и пулс Medical Rosmax-Lumiscope. Оценката на болкови параметри се правеше 15 min след края на физическото усилие при нормализиране на стойностите на артериалното кръвно налягане. Тази страна на изследването беше спазвана стриктно, защото е известно, че болковите прагове оценени с пресорна алгометрия са зависими от артериалното кръвно налягане (Koltyn & Umeda, 2006).

Изследвани лица и експериментални протокол. Изследванията с хора са проведени в Центъра за функционални изследвания в спорта и кинезитерапията и/или Лабораторията по физиология към Факултет „Обществено здраве и спорт“ на Югозападния университет „Неофит Рилски“ в Благоевград, в периода 2007-2010 година.

Експериментите бяха извършени върху здрави, нетренирани (не се занимаваха системно със спорт, но двигателната им активност се изчерпваше с ходене или тичане от 0.5

ч до 2.0 часа на ден, по един-два пъти седмично) и тренирани (професионални танцьори) мъже (редовно физическо натоварване, повече от 2-3 пъти седмично, с продължителност ≥ 2 часа), доброволци, на възраст 19-38 години.

Преди изследването лицата бяха запознати с целите и дизайна на изследването, тяхното физическо участие по време на максималния тест, рисковете и дискомфортите, както и ползите, свързани с подробното описание на методите, тяхното персонално участие и активност по време на тестването и пр. След като изследваните лица бяха предварително запознати с характера на експерименталната работа, дадоха писмено съгласие за участието си, като подписаха т. нар. Декларация за информирано съгласие (Приложение 1). Всички доброволци имаха възможност да се запознаят с експерименталния протокол предварително. Те бяха уведомени да носят подходящо облекло по време на тестването.

Протокол на изследването при определяне на болкови параметри с палпация и пресорна алгометрия с апарат за кръвно налягане. В изследването участваха 12 нетренирани мъже (възраст 23 ± 2.9 години, телесно тегло 81.09 ± 7.4 kg, височина 183.1 ± 0.7 cm, BMI 25.7 ± 3.9 kg/m^2). Всички участници бяха десноръки, не бяха приемали лекарствени медикаменти и 48 часа преди изследването не се бяха натоварвали физически. Доброволците са изследвани един ден, като седмица преди същинското изследване беше проведена обучителна сесия, по време на която изследваните лица бяха запознати с целите и основните методи на изследването. В деня на изследването, първо се снемаха антропометричните данни – измерваха се сърдечно-съдови показатели като артериален пулс и артериално кръвно налягане. След това бяха определени болковите параметри (болков праг, болков толеранс и болков рейтинг) чрез турникетова техника с апарат за кръвно налягане и чрез палпация. Петнайсет min след максималния тест до отказ, болковите параметри бяха определени отново.

Протокол на изследването при определяне на болкови параметри чрез турникетова техника с манометър до 600 mmHg. В изследването участваха 10 нетренирани и 10 професионални танцьори, мъже (възраст 21.9 ± 3.6 години, телесно тегло 79.9 ± 7.8 kg, височина 183.1 ± 14.3 m, BMI 26.1 ± 2.1 kg/m^2), студенти в ЮЗУ „Неофит Рилски“. В деня на изследването, първо се снемаха антропометричните данни и се измерваха сърдечно - съдови показатели (артериален пулс и артериално кръвно налягане), след което изследваните лица минаваха лекарски преглед за оценка на общото здравословно състояние. След това бяха определени болковите параметри - болков праг, болков толеранс и болков рейтинг с турникетова техника с манометър до 600 mmHg. Петнайсет min след

максималния тест до отказ, болковите параметри бяха определени отново. Стойностите на артериалния пулс и кръвното налягане се проследяваха на всяко стъпало от теста и след тестът, до възстановяване на изходните стойности.

Протокол на изследването при определяне на болков праг и праг на болковия толеранс с компютъризирана система за пресорна алгометрия. В изследването участваха 15 нетренирани, здрави мъже (възраст 21.1 ± 1.9 години, телесно тегло 88.6 ± 6.6 kg, 179.8 ± 11.8 cm, BMI 26.9 ± 1.2 kg/m^2). Всички участници бяха десноръки, не бяха приемали лекарствени медикаменти и 48 часа преди изследването не се бяха натоварвали физически. Доброволците бяха изследвани два последователни дни. През първия ден бяха регистрирани стойностите на болковия праг и прагът на болковия толеранс при три последователни измервания на левия и на десния крак, при градиент на налягането 1.00 kPa/s. Паузата между отделните измервания траеше 5 min. След 8 часов интервал бяха проведени три последователни измервания с различен градиент на налягането със следните стойности: 0.25 kPa/s, 0.50 kPa/s и 1.00 kPa/s. Паузите също бяха 5 min. Промените в болковите параметри при влияние на физическо натоварване бяха измервани на втория ден. Болковите параметри бяха определяни преди и 15 min след субмаксимално стъпаловидно натоварване на велоергометър при един и същи градиент на нарастване на налягането – 1.00 kPa/s. Измерванията след натоварване се провеждаха след нормализиране на стойностите на кръвното налягане.

Протокол на изследването при определяне на болков праг чрез ръчен алгометър Somedic. В изследването участваха 15 нетренирани мъже, студенти в ЮЗУ „Неофит Рилски“ (възраст 21.1 ± 1.9 години, телесно тегло 88.6 ± 6.6 kg, 185.1 ± 6.8 cm, BMI 26.9 ± 1.2 kg/m^2). Доброволците бяха изследвани в два последователни дни. През първия ден бяха регистрирани стойностите на болковия праг чрез ръчен алгометър. В деня на изследването, първо се снемаха антропометричните данни и се измерваха сърдечно-съдовите показатели (артериален пулс и артериално кръвно налягане). Определянето на болков праг чрез ръчен алгометър Somedic се извършваше в шест предварително маркирани кожни точки в подберицата в областта на m. gastrocnemius-m. soleus (GS):

точка 1. Дистална медиална „глава“ на GS; *точка 2*. Дистална латерална „глава“ на GS; *точка 3*. Средно медиално „коремче“ на GS; *точка 4*. Средно латерално „коремче“ на GS; *точка 5*. Инсерция; *точка 6*. Периостиум – средата на предната част на подбедрицата върху големия пищял (tibia).

Веднага след натоварването отново се определяха сърдечно - съдовите параметри. След възстановяването им (15 min след максималния тест до отказ), болковите параметри бяха определени отново в шестте точки на подбедрицата.

Протокол на изследване при оценка момента на силата (торг) на флексорите и екстензорите на лакътя и глезена чрез изокинетична динамометрия. В изследването участваха 19 студенти (21.5 ± 5.1 години, 177.6 ± 17.8 cm и 83.5±9.3 kg, BMI 27.0 ± 3.1 kg/m^2), несъстезаващи се, но имащи редовни физически натоварвания (1-2 пъти седмично), всички с доминантни десен крак и дясна ръка. Проведохме изследването в два последователни дни. Първия ден, след снемане на антропометрични показатели и стойностите на кръвно налягане и пулс и определяне на болков праг чрез ръчен алгометър, беше проведен максималния тест до отказ с тредмил. Петнайсет минути след натоварването, отново определихме болковия праг. Определянето му ставаше върху мишницата (в областта на „коремчето“ на мускул biceps brachii), като ненатоварена мускулна група по време на максималния тест и върху две точки на подбедрицата (върху медиалната и латералната глава на мускул GS) – като част от „работещата“ мускулатура по време на натоварването. Стойностите на хипоалгезията след това бяха преизчислени като разлика в стойностите на болковия праг след и преди максимално натоварване.

През втория ден на експеримента беше определена максималната сила при тестване с изокинетичен динамометър (Biodex System 4 Pro) в следните позиции: при плантарна/дорзална флексия на глезена при скорост 30 °/s или при флексия/екстензия в колянна става при скорост 60 °/s**.**

Протокол на изследване при модел на хипералгезия с гири. В изследването участваха 10 нетренирани мъже, студенти в ЮЗУ „Неофит Рилски“ (23.7 ± 2.1 години, 176.6 ± 15.8 cm и 89.7±7.3 kg, BMI 28.1 ± 2.2 kg/m^2). Доброволците бяха изследвани три последователни дни. На първия ден бяха снети антропометричните показатели и сърдечно-съдовите пареметри, след което бяха определени болковите параметри, използвайки турникетова техника с апарат за кръвно налягане. Петнайсет min след ексцентричното натоварване с тежест, болковите и сърдечно - съдовите параметри бяха определени отново. Динамиката в болковия праг, толеранс и болков рейтинг беше проследена 24 - и 48 часа след натоварването, като изследваните лица посещаваха лабораторията за тестване всеки ден от експеримента между 10 и 12 часа. Изследваните лица бяха инструктирани да не използват/прилагат противоболкови препарати и техники по време на трите експериментални дни.

Протокол на изследване при модел на хипералгезия с изокинетична динамометрия. Изследваните лица (n=6) бяха на възраст от 26 ± 2.1 години, с ръст от 1.72 ± 0.03 m, тегло 72.5 ± 5.2 kg и BMI 24.48 ± 4.2 kg/cm^2. За да предизвикаме DOMS чрез протокол от преобладаващи ексцентрични съкращения, ние предварително измерихме максималния изометричен торг на флексорите на лакътя при супинирана предмишница и ъглова позиция от 90^o. След няколко замервания, беше прецизиран торга като процент от този при максимална изометрична волева контракция, с който да бъдат натоварени изследваните лица по време на ексцентричната фаза при движение в лакътната става. Беше установено, че този торг трябва да бъде 86 % от максималния, за да може фазата на преодоляване на приложеното съпротивление да продължава по-дълго. По време на ексцентричната фаза, протоколът на натоварване на флексорите включваше 10 серии по 6 повторения при супинирана предмишница, 2 min почивка между сериите, обем на движение от 90^o до 0^o и скорост 60 ^{o}/sec. Протоколът за връщане на ръката в изходна позиция за разтягане, т.е. концентричната фаза на флексорите, обхващаше същите серии и повторения, но за да бъде с ниска мощност натоварването, скоростта на движение беше от 10 ^{o}/sec. Обемът на движение в този случай беше от 0^o до 90^o. По време на натоварването в двете фази, ексцентричната и концентричната, бяха измерени: пиковия торг в Nm, работата в J и мощността на мускулната работа във W, а при ексцентричната фаза и времето за достигане на пиков торг.

Протокол на изследване при модел на хипералгезия с ръчен динамометър. В изследването участваха 6 нетренирани мъже, студенти, които нямат скелетно-мускулни заболявания и не са приемали лекарствени вещества по време на изследването. Тяхната възраст, височина, тегло и BMI бяха ($\overline{X}$ ±SD): 38.3 ± 8.7 години, 173.6 ± 1 2.4 cm, 80.3 ± 14.3 kg и 26.8 ± 3.6 kg/cm^2, съответно. Изследването се проведе за период от две седмици. Изследваните лица посещаваха лабораторията 3 последователни дни. При първоначалното посещение бяха определени антропометричните данни. На всяко от трите посещения се определяха: мускулна сила на флексорите на пръстите; кожна чувствителност в кожната област на „коремчето“ на m. flexor digitorum profundus (von Frey); болкови прагове върху шест, предварително маркирани точки на предмишницата. Описанието, локализацията на болковата симптоматика и болковият рейтинг се определяха чрез кратка модифицирана форма на въпросника на McGill (Приложение 3). Изследваните лица попълваха McGill при всяко от трите посещения.

5.2. Методи за оценка на експериментална болка при механична стимулация

5.2.1. Оценка на болков рейтинг чрез палпация.

Палпацията е рутинен метод в клиничната практика, при който се дразнят механорецептори. Изследването се провеждаше от един и същи изследовател, с четири пръста, чрез които се упражнява дозиран натиск (около 1 kg/cm^2) за около 3 sec в три области на m. biceps brachii/m.vastus lateralis: в началото на мускула, в инервационната зона и в залавните места (инсерциите). Изследваното лице оценяваше интензитета на болката чрез ВАС (mm).

5.2.2. Оценка на болков праг, болков толеранс и болков рейтинг чрез турникетова техника с апарат за кръвно налягане.

За целта използвахме апарат за измерване на кръвно налягане. С маншета, който изпълнява ролята на турникет, се притиска мишницата в областта на m. biceps brachii с покачващо се налягане, което се отчита в mmHg (стойностите са кумулативни) с манометър (0-300 mmHg). Стойностите се преизчисляват в kPa (0-40). Ръката беше в супинация и изследваните лица вербално оценяваха интензитета на болката в следните нива: дискомфорт, болков праг, силна поносима болка и силна непоносима болка (болков толеранс). Измерванията се извършваха от едно и също лице, честотата на напомпване беше постоянна и ръчно контролирана. Стойностите на болковите параметри бяха записвани от друг изследовател, за да се избегне сугестирането между изследваните лица.

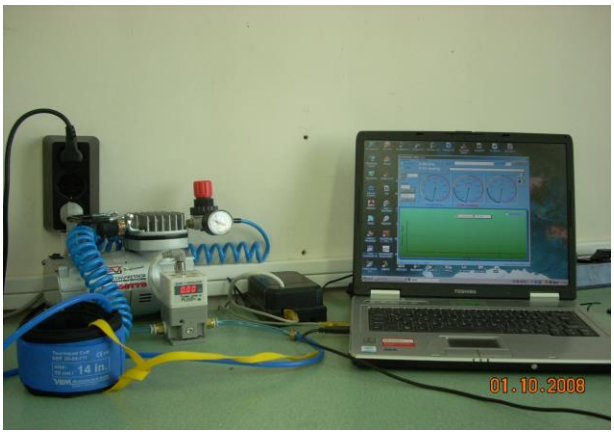
Болковият рейтинг беше определен при постоянно налягане, съответстващо на сумата от стойността на диастоличното кръвно налягане и 50 mmHg. Турникетът се поставяше на мишницата в областта на m. biceps brachii. Болковият рейтинг се оценяваше по визуално-аналогова скала (ВАС) и след това се превръщаха в стойности от 0 до 100 mm (0 – няма болка, 100 – максимално възможна болка).

5.2.3. Оценка на болков праг, болков толеранс и болков рейтинг чрез турникетова техника с манометър до 600 mmHg.

Експерименталната установка се състоеше от платнен маншет (8 cm; VBM Medizintechnik GmbH, Germany), поставен върху мишницата в областта на m. biceps brachii, сфигмоманометър (0-600 mmHg; 0-79.98 kPa) (VBM Medizintechnik GmbH, Germany) и каучукова помпа, с която се нагнетява въздух в маншета. Определянето на болковите

параметри се правеше от един и същ изследовател, с относително постоянна скорост. Изследваните лица оценяваха експериментално-индуцираната болка вербално в четири степени: дискомфорт, болков праг, силна поносима болка и болков толеранс.

5.2.4. Оценка на болков праг и болков толеранс с компютъризирана система за пресорна алгометрия

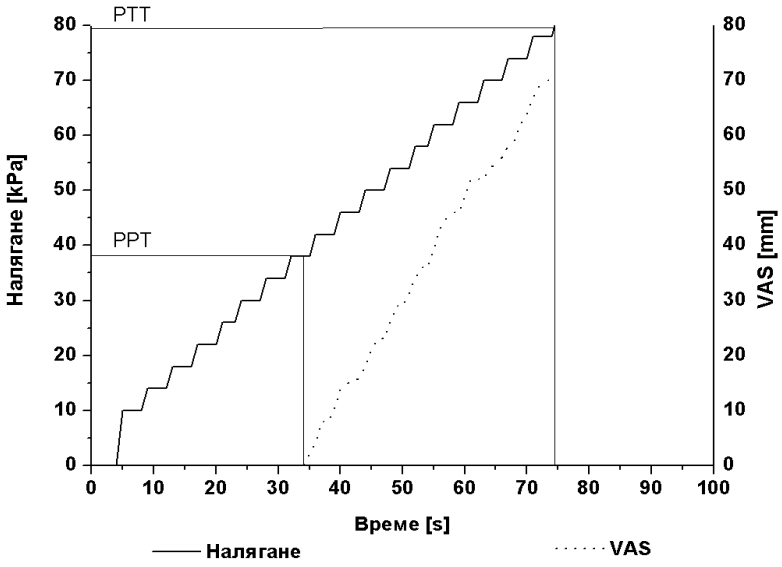


Фигура 1. *Компютъризирана система за пресорна алгометрия.*

Оценката на експериментално-индуцирана механична болка се провеждаше с микроконтролерно базирана система за пневматична пресорна алгометрия (Stoilov et al., 2009), създадена от колектив към Центъра за функционални изследвания в спорта и кинезитерапията към ЮЗУ „Н. Рилски“ – Благоевград, представена на Фигура 1. Експерименталната установка на алгометричната система се състои от: пневматичен турникетов платнен маншет, микроконтролер, електро-пневматичен регулатор, въздушен компресор и 100 милиметрова електронна, визуално-аналогова скала (BAC; VAS), чрез която се съотнася субективната оценка на болковия праг и болковия толеранс към стойностите на приложеното налягане. Нулевият край и 100-милиметровият край на BAC се дефинират съответно като „липса на болка“ и „най-силната възможна болка“. Ширината на турникетовия маншет, използван при настоящото изследване, беше 12 cm, макар че са налични маншети с различна ширина, което позволява оценка на различни части от тялото или сравнения върху една и съща част с различно широки маншети, с оглед проследяване на пространствени аспекти при механичната стимулация.

Пневматичният турникетов маншет се намотава около средата на дясната или лявата подбедрица на нивото на главите на m. gastrocnemius - m. soleus (Фигура 3А) и се свързва с въздушния компресор за подаване на налягане. Максималният пресорен лимит на устройството е 300 kPa (2250 mmHg). Изследваните лица определяха края на стимулацията чрез софтуерен или механичен бутон. Те бяха инструктирани за край на стимулацията да считат състояние на достатъчно силна болка, която могат, но не искат да изтърпяват повече, а не екстремното състояние на максималната възможна болка. Съгласно тази формулировка,

краят на стимулацията практически регистрираше прагът на болковия толеранс при притискане (pain tolerance threshold; PTT), докато болковият праг при притискане (pressure pain threshold; PPT) беше дефиниран като моментът на преход от усещане за силно притискане към усещане за болка при притискане. С пневматичния компютъризиран алгометър се измериха стойностите на PPT и PTT в покой при следните градиенти (kPa/s) на нарастване на налягането: 0.25, 0.50 и 1.00. Паралелно на монитора се проследяваха кривите на зависимостта между механичния стимул, като налягане измерено в kPa и на ВАС във времето. Типична крива, отразяваща промените в налягането и ВАС във времето е представена на Фигура 2. При тази методология, скалирането на субективната оценка на експерименталната болка има конкретно количествено представяне в kPa (Фигура 2).



Фигура 2. *Типична крива налягане/време/визуално аналогова скала (VAS). След достигане на болковия праг (PPT), се наблюдава корелация между нарастването на интензитета на налягането и на интензитета на болката; PTT-болков толеранс.*

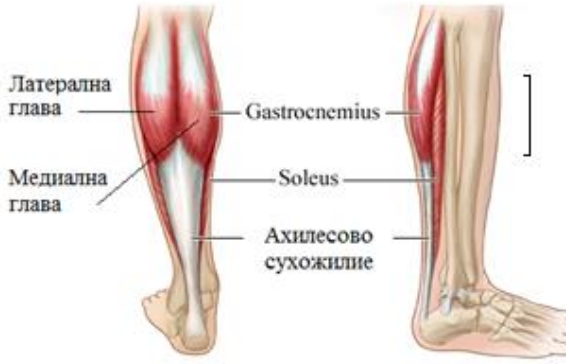
5.2.5. Оценка на болков праг чрез ръчен електронен алгометър Somedic

Болковите прагове бяха определени с ръчен алгометър Somedic (Sweden) (Фигура 5), повърхността на пробата беше 1 cm^2, а налягането се повишаваше постепенно, с градиент 50 kPa/sec.

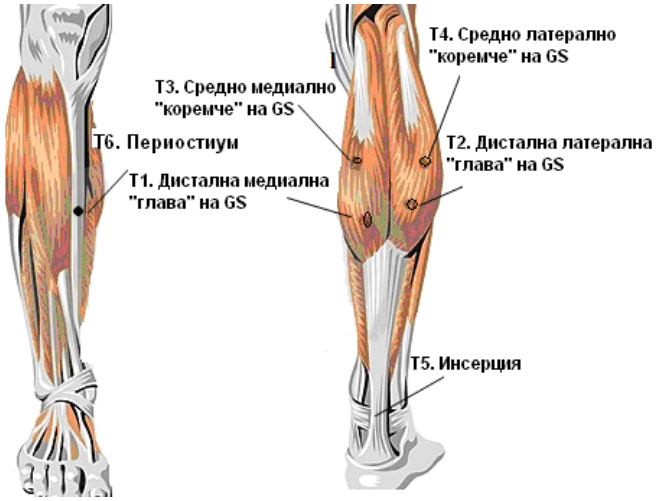
Оценка на хипоалгезични промени след субмаксимално натоварване. Експерименталната болка беше измерена върху шест точки на подбедрицата на десния крак съгласно схемата (Фигура 3B): 1. четири точки върху мускул GS; 2. кожно-периостална болка, измерена върху предната част на tibia (големия пищял), средата на подбедрицата; 3. в инсерцията на мускул GS. Опитните лица бяха инструктирани да оценяват вербално кога

силния натиск прераства в болка и измерването се прекратяваше. Болковият праг във всяка от шестте точки на мускула се измерваше 3 пъти през 5-минутни интервали преди натоварване и се вземаше средна стойност. В деня на експеримента, след лекарска оценка на функционалното състояние на изследваните лица и 15 min след велоергометричния аеробен тест, болковия праг в шестте точки на подбедрицата бяха определени еднократно.

При модел на DOMS с ръчен динамометър (Снимка 1). Болковият праг се определяше върху 4 предварително маркирани точки върху недоминантния горен крайник на доброволците преди натоварването с ръчен динамометър, преди натоварване, 10 min след натоварване, 24 часа и 48 часа след натоварването. Изследването се извършваше от един и същ изследовател. Точки на определяне на болков праг: *Точка 1* – 1 cm над medial epicondyle на мишничната кост; *Точка 2* – 1 cm под medial epicondyle на мишничната кост; *Точка 3* – латералното „коремче“ на m. flexor digitirum profundus; *Точка 4* – медиалното „коремче“ на m. flexor digitirum profundus; *Точка 5* – средната част на предмишницата (сухожилията на флексорите на пръстите); *Точка 6* – 1 cm над procesus stiloideus radii (Снимка 2).



Фигура 3А. *Място на поставяне на маншета при определяне на болкови параметри чрез компютъризирана пресорна алгометрия.*



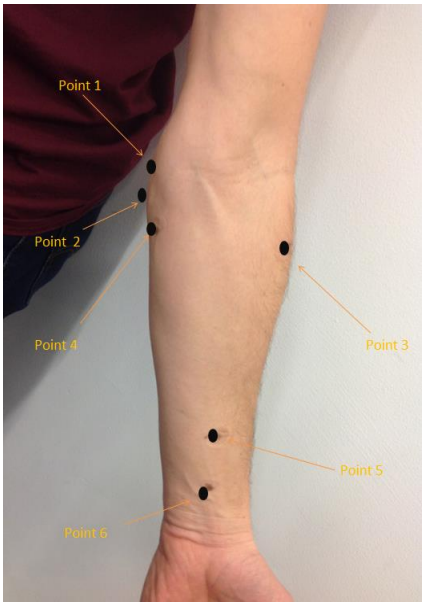
Фигура 3В. *Разположение на точките върху подбедрицата, където е определен болков праг с ръчен алгометър Somedic.*

При модел на DOMS при флексорите на лакътя с изокинетичен динамометър. Болковият праг е определен с ръчен алгометър Somedic, в инсерцията, в инервационната зона и в областта на началото на дългата глава (начало на Caput longum) и късата глава (начало на Caput breve) на m. biceps brachii.

При изследване на корелация между силови изокинетични характеристики и параметри на болката при натоварване. Болковият праг се определяше преди и 15 min след натоварване чрез ръчен алгометър Somedic върху мишницата в областта на инервационната зона на m. biceps brachii (като „ненатоварен мускул“ при максимален тест до отказ) и върху латералната и медиалната глава на мускул GS (като „натоварен мускул“ при максимален тест до отказ). При оценка на хипоалгезичните промени и силата, е взета разликата между стойностите на болковия праг на латералната глава на мускул GS преди и 15 min след максималният тест.



Снимка 1. *Ръчен динамометър.*



Снимка 2. *Разположение на точките върху предмишницата, където е определен болков праг с ръчен алгометър Somedic при модел на DOMS с ръчен динамометър.*

5.3. Модели на физическо натоварване

5.3.1. Стъпаловидно натоварване до отказ с велоергометър

Беше проведено субмаксимално натоварване с велоергометър (Monark – Crescent AB), темпо на педалиране 60 оборота/min и начално съпротивление – 30 W. Съпротивлението се повишаваше постепенно със стъпка от 30 W/1,5 min. По време на натоварването се регистрираха ЕКГ параметри и артериално кръвно налягане. Натоварването се прекъсваше при достигане на субмаксимални стойности на сърдечната честота (165 - 175 удара/min) или при отказ от страна на изследваното лица.

5.3.2. Стъпаловидно натоварване до отказ с тредмил

Тестът е проведен по Iliev I., (1974) на тредмил (пътека) (Quasar 4,0 Med, HP Cosmos, Germany). Натоварването започваше със скорост от 6 km/h и на всеки 90 sec скоростта се увеличаваше с 1.2 km/h. Тестът продължаваше до отказ от страна на доброволците, като сърдечно - съдовите показатели и обемните проценти на газовете в издишания въздух се проследяваха непрекъснато по време на натоварване.



Фигура 4. *Изокинетичен динамометър Biodex System 4 Pro, USA (Център за функционални изследвания в спорта и кинезитерапията, ЮЗУ „Н. Рилски“).*



Фигура 5. *Ръчен алгометър Somedic.*

5.3.3. Натоварване с изокинетичен динамометър

Дорзална/плантарна флексия на глезена и флексия и екстензия в коляното. Измерването е направено един ден след максималния тест. За да определим момента на силата в ставите (колянна и глезен) на участниците, използвахме изокинетичен динамометър (Biodex System 4 Pro) и изокинетичен протокол за доминантния крак (Фигура 4). Изследваните лица, в спортен екип, сядаха на динамометъра за фиксиране на параметрите, необходими за стандартизацията на натоварването при всеки един от доброволците (фиксиране на тялото към седалката, височина на седалката, дължина и вид на атачмънт според изследваната става и пр.). Участниците правеха изокинетични мускулни съкращения при флексия и екстензия в колянна става със скорост 60 º/sec и плантарна и дорзална флексия в глезенна става със скорост 30 º/sec.

Ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя. За оценка на максималната изометрична сила на флексорите на дясната ръка, която ще бъде подложена на натоварване и за прецизиране на индивидуалния за всяко изследвано лице торг, проведохме с помощта на изокинетичен динамометър, изометричен тест по следния протокол: първо, след индивидуално позициониране на стола на изокинетичния стенд, проведохме изометрично натоварване на флексорите на лакътя в 3 серии по 20 sec. Натоварването започваше с максимална изометрична

контракция на екстензорите на лакътя, последвана от 5 sec почивка. Веднага след това следваше максимална изометрична контракция за лакътните флексори за 5 секунди, с последваща почивка от също 5 sec. Така определихме с колко ще бъде натоварено ексцентрично всяко едно изследвано лице.

5.3.4. Тест на Купър

Тестът е максимален и се прилага за индиректно определяне на максимална кислородна консумация (VO_2max). Провежда се в зала. Той има продължителност до 12 min, по време на които изследваното лице трябва да измине възможно най-голямо разстояние, с възможно най-голяма скорост. Техника на теста: след разгряване, изследователят дава команда „СТАРТ“ и изследваните лица бягат по двойки за определената продължителност на теста. В последните 400 m, изследователят дава информация за оставащото време до края на теста. В края на 12-те min, той подава звуков сигнал за край на теста и измерва изминатото разстояние (S, m), което е единствения параметър, който се определя количествено по време на теста. Максималната кислородна консумация се предсказва чрез моделиране със следното уравнение:

$$VO_2 \max(ml/\min/kg) = \frac{(S - 504.9)}{44.73}$$

5.4. Натоварване с преобладаващи ексцентрични мускулни съкращения

5.4.1. Модел на флексорите на лакътя с тежест

Изследваните лица правеха по 15 ексцентрични съкращения в минута на флексорите на лакътната става в продължение на 15 min. Ексцентричното натоварване е върху доминантната ръка с тежест (гира) от 5 kg (Фигура 6), като изследваното лице беше в седнало положение с фиксирана раменна става, а движенията се изпълняваха с честота, която се задаваше с метроном. Екстензията на предмишницата с гира в ръка започваше от ъглова позиция 90º в лакътната става и продължаваше до пълна екстензия за време от две секунди, а връщането й до изходно положение (90º) ставаше пасивно с помощта на изследователя със същото времетраене.



Фигура 6. *Модел на ексцентрично натоварване с тежест на флексорите в лакътната става.*

5.4.2. Модел на флексорите на лакътя с изокинетичен динамометър

За да предизвикаме DOMS чрез протокол от преобладаващи ексцентрични съкращения, ние предварително измерихме максималния изометричен торг на флексорите на лакътя при супинирана предмишница и ъглова позиция от 90º. След няколко замервания, беше прецизиран торга, с който да бъдат натоварени изследваните лица по време на ексцентричната фаза при движение в лакътната става, като процент от торга при максимална изометрична волева контракция. Беше установено, че този торг трябва да бъде 86 % от максималния, за да може фазата на преодоляване на приложеното съпротивление да трае по-дълго, т.е. удължаващите мускулни контракции да имат голяма продължителност и достатъчен интензитет. По време на ексцентричната фаза, протоколът на натоварване на флексорите включваше 10 серии по 6 повторения при супинирана предмишница, 2 min почивка между сериите, обем на движение от 90º до 0º и скорост от 60 º/sec. Протоколът относно концентричната фаза на флексорите, т.е. за връщане на ръката в изходна позиция за разтягане, обхващаше същите серии и повторения, но за да бъде натоварването с ниска мощност, скоростта на движение беше от 10 º/sec. Обемът на движение в този случай беше от 0º до 90º. По време на натоварването в двете фази, ексцентричната и концентричната, бяха измерени: пиковия торг в Nm, работата в J и мощността на мускулната работа във W, а при ексцентричната фаза беше добавен и параметърът време за достигане на пиков торг.

5.4.3. Модел с ръчен динамометър на мускул flexor digitorum profundus

Участниците (n=6) правеха последователна флексия и екстензия на показалеца на недоминантната ръка, като задвижваха спусък (Снимка 1) с една и съща дължина на пружината (за всички изследвани лица). За стандартизация използвахме метроном, като фазата на флексия продължаваше 1 sec, а тази на екстензията – 2 sec, до пълно връщане на спусъка в изходно положение. Натоварването с ръчния динамометър продължаваше до отказ, или когато спусъкът вече не докосваше дръжката (Cut off – 15 min). Правеха се две последователни сесии (до 15 min всяка), с 30 sec почивка между тях.

5.5. Ноцицептивни тестове при имобилизационен стрес и натоварване при плъхове

Тестванията с експериментални животни бяха проведени в Лабораторията по стрес-индуцирана аналгезия към катедра „Патофизиология“ при МФ, МУ – София. Всички опити бяха провеждани между 9.00 и 12.00 ч. и бяха извършени съгласно изискванията на Международната Асоциация за изследване на болката (IASP) (Zimmermann M., 1983) и ЕКНМ към МУ – София.

5.5.1 Експериментални животни

Експериментите бяха проведени върху мъжки бели плъхове линия Wistar (180-200 g). Животните бяха отглеждани при нормални условия – температура 22 ± 2ºC, със свободен достъп на храна и вода. Светлината бе с регулиран цикъл: 12 часа светло/12 часа тъмно.

5.5.2. Ноцицептивни тестове

Метод с прилагане на механично дразнене – *Paw pressure (PP) тест.* Промените в болковата активност се измерваха с аналгезиметър Ugo Basille. Прилагаше се натиск върху задната лапа на плъха, която бе поставената под „острието“ на аналгезиметъра, с постепенно увеличаващ се натиск (до 500 g). Степента на аналгезия се отчиташе по специфична двигателна реакция на животното, която се състои в отдръпване на лапата при достигане на болков праг. Отчитаха се относителни единици, съгласно скалата на апарата (Randall-Selitto, 1957) (Снимка 3).

Метод с прилагане на термично дразнене – *Hot plate (HP) тест.* Термичният ноцицептивен стимул (55º C ± 1º C) се прилагаше върху лапите на свободно подвижни животни. Ноцицептивния праг бе верифициран като латентност от началния момент на прилагане на ноцицептивния стимул, до момента на реакция на животното (обикновено изразявана в близане на лапите и скокове), показваща начало на болково усещане. Отчитането на времето бе в секунди. Максимално времетраене на изследването беше 30 sec, с оглед предотвратяване увреждане на животните (Снимка 4).

5.5.3. Модели на имобилизационен стрес

Остър имобилизационен стрес – животните се поставяха за 3 часа в специални прозрачни пластмасови цилиндри с отвори за дишане, ограничаващи до минимум движенията им (Снимка 5).

Хроничен имобилизационен стрес – животните се поставяха за 3 часа в специални прозрачни пластмасови цилиндри с отвори за дишане, ограничаващи до минимум движенията им всеки ден в продължение на 4 дни.



Снимка 3. Метод с прилагане на механично дразнене – Paw pressure test.

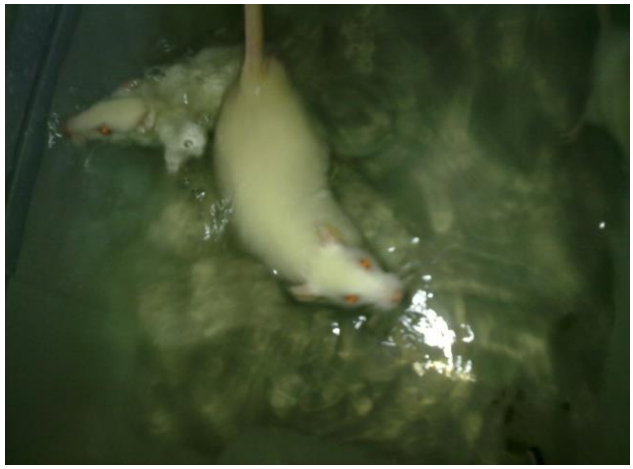


Снимка 4. Метод с прилагане на термично дразнене – Hot plate test.



Снимка 5. Модел на имобилизационен стрес.





Снимка 6. Модел на физическо натоварване – плуване.

5.5.4. Модели на физическо натоварване с плуване

Натоварване с еднократно плуване – животните се поставяха в пластмасови съдове с размери 57/39/28 cm, с вместимост 45 l, пълни с вода (30-32° C) и бяха стимулирани да плуват в продължение на 15 min, еднократно. След плуването бяха изваждани от водата, подсушавани и затопляни, и поставяни обратно в чисти клетки (Снимка 6).

Десетдневно плуване – животните се поставяха в пластмасови съдове с размери 57/39/28 cm, с вместимост 45 l, пълни с вода (30-32° C) и бяха стимулирани да плуват в продължение на 15 min/дневно, в продължение на десет последователни дни. След всяко плуване животните бяха изваждани от водата, подсушавани и затопляни, и поставяни обратно в чисти клетки (Снимка 6).

Използвани субстанции – за блокиране ефектите на опиоидната и канабиноидната модулация на болковата перцепция, използвахме неселективен блокер на опиоидните рецептори (μ, δ, и κ-рецептори), налоксон (Sigma-Aldrich Co, USA) в доза 2 mg/kg, разтворен във физиологичен разтвор (0.9 % разтвор на натриев хлорид) и селективен блокер на CB1 рецепторите – AM251 (Tocris, UK), съответно в доза 1.25 mg/kg, разтворен в 100 % DMSO (Dimethyl sulfoxide). Всички вещества бяха въвеждани интраперитонеално (i.p.) в обем от 0.1 ml.

Протоколи на изследванията при стрес-индуцирана аналгезия (имобилизация и плуване)

При всяка експериментална сесия, след една седмица на климатизация и адаптация, животните бяха разпределени в три експериментални протокола, всеки с по няколко групи от 6 животни. Протоколи за: 1) контролна група, която не е подлагана на стрес и преди определяне на болкови прагове, бяха инжектирани с 0.1 ml физиологичен разтвор/DMSO; 2) група с остър стрес (еднократен имобилизационен стрес – 3 часа или еднократно плуване – 15 min); подгрупи към него: – група с инжектиране на опиоиден блокер, група с инжектиране на CB1 канабиноиден блокер и група, с въвеждане на двата блокера (първо се инжектираше налоксон и след 20 min се въвеждаше AM251); 3) група с хроничен стрес (четиридневен имобилизационен стрес или десетдневно плуване); подгрупите към него – група с инжектиране на опиоиден блокер, група с инжектиране на CB1 канабиноиден блокер и група, с въвеждане на двата блокера (първо се инжектираше налоксон и след 20 min се въвеждаше AM251).

Блокерите бяха въвеждани: 1) в интактни животни; 2) веднага след остър стрес (имобилизация или плуване); 3) веднага след последния ден от хроничния стрес. Ноцицептивните измервания започваха веднага след стрес или 20 min след инжектиране на опиоидния блокер и 40 min след въвеждане на CB1 рецепторен антагонист. Определянето на болковите прагове продължаваще през 10 min, до възстановяване стойностите на прага в покой при интактни животни.

5.6. Имунохистохимично изследване

24 часа след имобилизационния стрес, плъховете бяха анестезирани с тиопентал (40 mg/kg, интраперитонеално инжектиране, 0.5 ml). Експерименталните животни, по три от всяка група (n=6), бяха перфузирани транскардиално с 4 % разтвор на параформалдехид в 0.1 *M* фосфатен буфер с *pH* 7.2-7.4. Мозъците се изваждаха и оставяха за постфиксация в

същия разтвор за 1 час, при стайна температура. След неколкократно промиване в 0.1 *M* фосфатен буфер, *pH* 7.4, мозъчната тъкан се поставяше в буфер и се оставяше да пренощува при температура 4° C.

Приготвяха се серийни срези на замразяващ микротом (*Reihart-Jung*), като всеки седми срез с дебелина 40 μm, се използваше при изследването. Срезите се правеха на ниво от +2.2 до +3.2 mm от брегмата (bregma).

Имунохистохимични реакции за визуализации: - срезите престояваха за 1 час в 5 % нормален кози серум, разтворен в PBS. Последваше инкубиране на срезите в разтвор на първичното антитяло в продължение на 48 часа при стайна температура; - инкубация на срезовете с биотинилирано заешко поликлонално IgG (1:500) за 2 часа и в разтвор на авидин-биотин-пероксидаза комплекс (Vectastain Elite ABC реагент; Vector Labs, Бърлингейм CA, USA; разреждане 1:250) за 1 час; - промиване в PBS и след това в буфер 0.05 M Tris-HCl, pH 7.6, и след това инкубиране на срезите в разтвор на 0.05 % 3,3‘-диаминобензидин (DAB, Sigma), съдържащ 0,01 % H_2O_2 в продължение на 10 min при стайна температура за визуализация.

Субстанции. Използвахме поликлонално анти-CB1 антитяло (епитоп, съответстващ на аминокиселини картографиране в N-терминала на CB1) (Santa Cruz, САЩ), с разреждане 1:1000. За имунохистохимичното изследване бяха използвани белязани антитела за CB1-невронални елементи.

Контроли:

1. Пропускане на инкубацията в първото антитяло;
2. Пропускане на инкубацията във вторичното антитяло;
3. Пропускане на първичното и вторичното антитяло.

Контролите се проведоха с цел изключване на кръстосана реактивност и неимунологични взаимодействия, които биха опорочили получените резултати. Във всички случаи контролите показаха отрицателни резултати, което е задължително условие за правилната интерпретация и обсъждане на получените данни.

Микроскопски и количествен анализ. Количествените данни за плътност на невроните и размерите на невроналните тела, бяха получени с помощта на компютърен образен анализатор Olympus-CUE2. Морфометричен анализ се осъществяваше чрез изображения както на дълбоките, така и на повърхностните слоеве на медиалния PFC (cingulate, prelimbic, infralimbic) чрез обектив с увеличение 40, като се използваше система

за микроанализ Nikon photomicroscope ECLIPSE 80i (цифров фотоапарат DXM 1200C и измерената площ на 0.360185 mm^2).

5.7. Статистически подходи

За обработка на експерименталните данни използвахме статистическия пакет Prism. Освен за статистическите анализи, софтуерния пакет Prism беше използван и за графичното представяне на данните. Всички данни бяха обработени статистически съгласно ръководствата на Дамянова и Гигова (1995) и Williams & Wragg (2004). Параметрите са представени като $\overline{X} \pm$SD. Оценката за различия между средните стойности е проведена с методите на непараметричната статистика, характерна за малки извадки, чрез тестовете на Wilcoxon (за зависими извадки) и Mann-Whitney (за независими извадки) при 2 групи. При повече от 2 групи използвахме т. нар. ANOVA **(**analysis of variance), която е набор от статистически модели и статистически процедури свързани с тях, при които вариациите в променливите се анализират и се оценяват различните източници за вариране. В най-опростения вариант чрез ANOVA се тества статистически дали различията между средните величини са достоверни при съответни критерии за вероятност. При нашето изследване беше приложена т. нар. Kruskal-Wallis ANOVA при независими извадки и Friedman тест при зависими. При анализа на различия между повече от две групи, използвахме и допълнителния тест на Dunn's за проверка на различия между всички двойки данни и posthoc анализ. Така се оценяваше вероятността за сбъдване на нулевата хипотеза, т.е. че няма различия между групите или алтернативната, при която различията между средните величини на изследваните групи е достоверна при ниво на значимост 95 % вероятност, т.н. $p< 0.05$, прието за достатъчно при медико-биологични експерименти

Таблица 1. *Скала за определяне на степента на зависимост при оценка на корелации.*

Коефициент на корелация	**Степен на зависимост**
< 0,3	слаба
(0,3 – 0,5)	умерена
(0,5 – 0,7)	значителна
(0,7 – 0,9)	голяма
> 0,9	много голяма
= 1	абсолютна

Корелационните зависимости между нивото на хипоалгезията и силови характеристики на флексорите и екстензорите на коляното и глезена, са изчислени по непараметричния критерий на Pearson (Таблица 1).

6. РЕЗУЛТАТИ

Оценката на болковите компоненти е твърде субективно и зависи от редица условия, а именно вид и продължителност на действие на дразнителя, метод на оценка на боловите параметри и др.

Целта на настоящата разработка бе да изследват промените в болковта перцепция след различни по вид физически натоварвания – максимални тестове и физически усилия с преобладаващи ексцентрични съкращения. За оценка на дълбока механична болка бяха използвани следните методи - палпация, турникетови техники с манометър до 600 mmHg, компютъризирана система за пресорна алгометрия и електронен ръчен алгометър. За изучаване участието на опиоидните и какабиноидните механизми в аналгетичните ефекти при физичекото натоварване бяха проведени опити с експриментални животни при два модела на стрес – имобилизация и плуване.

6.1. Ефекти на хипоалгезия индуцирана при физическо натоварване

Субмаксималните и максималните тестове са често използван метод за оценка на хипоалгезични промени в болковата перцепия, тъй като модулацията на болковта перцепция е най-изразена именно при пределни физически усилия и/или смесени (физически и емоционални) стресови въздействия. В модулацията на ноцицептивния отговор, участват опиоидни и неопиоидни механизми. В настоящата глава от резултати се представени промените в болковите параметри след максимален стъпаловиден тест до отказ, при прилагане на различни техники за тяхната количествена оценка.

6.1.1 Изследване на базалната ноцицепция и промени при натоварване

Базална ноцицепция. В първата екпериемнтална серия бяха проследени някои параметрите на базалната ноцицицепция, и оценка на стойностите на болковите параметри в покой. С помощта на компютъризирана система за пресорна алгометрия бяха изследвани:

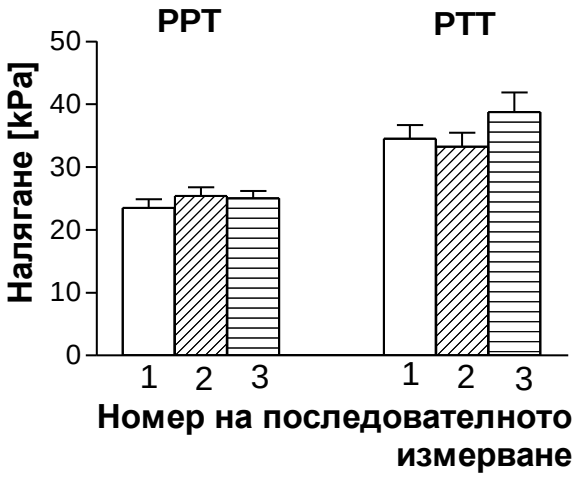
- разликите в болковия праг и болковия толеранс между левия и десния крак;
- разликите в стойностите на болковия праг и болковия толеранс при различен градиент на нарастване на налягането (0.25 kPa/s, 0.50 kPa/s и 1.00 kPa/s);
- ролята на повторно определяне на болкови параметри 15 min след първоначалното измерване;
- разликите в болковата чувствителност между латералната и медиалната глава на GS при доминантен десен крак.

Стойностите на болковия праг и стойностите на ВАС, съответстващи на прага на болковия толеранс на левия крак имаха статистически достоверно по-ниски стойности на тези на десния ($p<0.05$). Болковият праг на лявата подбедрица беше с 11.7 ± 3.2 % по-нисък от този на дясната. Нямаше достоверна разлика между стойностите на болковия толеранс за двата крака (Таблица 2).

Таблица 2. *Пресорна алгометрия с турникет на подбедрица на нивото на главите на т. gastrocnemius-m. soleus: болков праг (PPT), праг на болков толеранс (PTT) и стойности на VAS (съответстващи на PTT), за ляв и десен крак ($\bar{X}$ ±SD).*

Параметри	Десен крак	Ляв крак
PPT (kPa)	26.13 ± 1.07	23.13 ± 1.06*
PTT (kPa)	35.31 ± 2.22	35.67 ± 2.22
VAS (mm)	63.21 ± 1.13	59.65 ± 1.13*

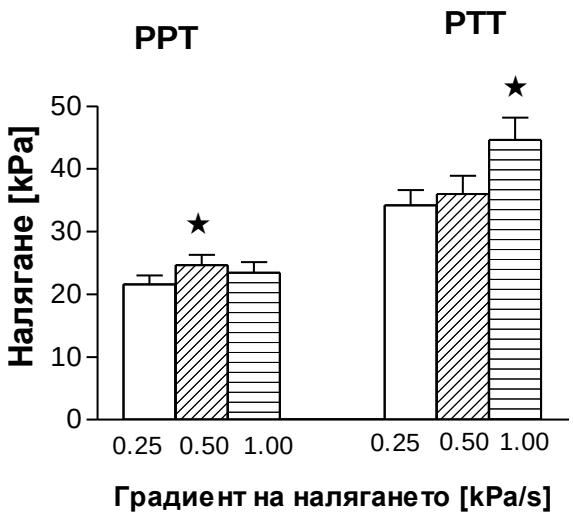
*Статистически значима разлика в сравнение с десен крак при $p<0.05$ (Wilcoxon paired тест).



Фигура 7. *Параметри на пресорна алгометрия като функция от 3 повторни измервания. Стойностите ($\bar{X}$ ±SD) на болковия праг (PPT) и прага на болковия толеранс (PTT) не се различаваха статистически (Friedman ANOVA; $p<0.05$).*

Изследванията за оценка влиянията на повторните измервания (трикратно измерване с 5 минутни интервали между отделните измервания), показаха, че няма промени в стойностите както на болковия праг, така и на болковия толеранс. Средните стойности ($\bar{X}$ ± SD) на болковия праг и прагът на болковия толеранс при първото измерване бяха 23.5 ± 6.3 kPa и 34.5 ± 12.1 kPa, а при третото 25.0 ± 6.7 kPa и 38.7±15.2 kPa (Фигура 7).

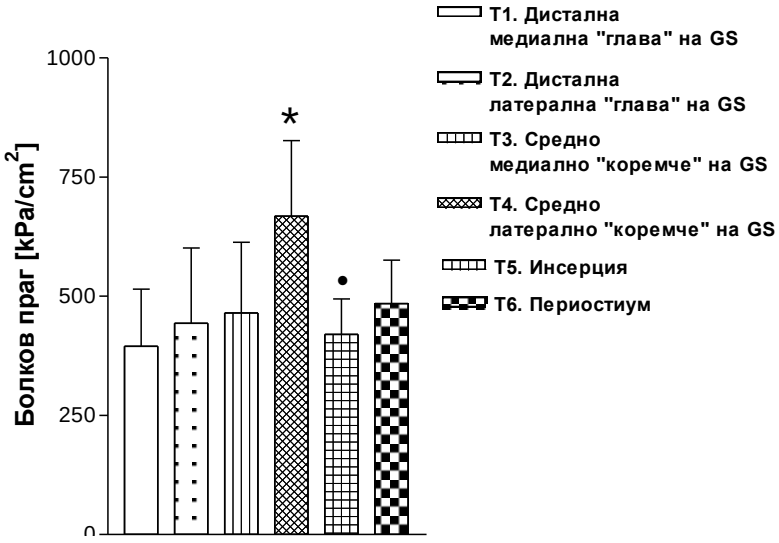
На Фигура 8 е представена връзката между градиента на налягането и болковия праг. Стойностите на болковия праг се повишават при градиент 0.50 kPa/s, но при максимален градиент от 1.00 kPa/s не се променят статистически значимо. Прагът на болковия толеранс обаче, нараства ($p<0.05$) при градиент от 1.00 kPa/s, а повишението при градиент от 0.50 kPa/s не е статистически достоверно. Повишената чувствителност към болка беше регистрирана при повишаване на градиента на налягане, както по отношение на болков праг, така и по отношение на болков толеранс.



Фигура 8. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болковия праг (PPT) и прага на болковия толеранс (PTT) като функция от 3 различни градиента на налягането (kPa/s): 0.25, 0.50 и 1.0.* Статистически значими различия в сравнение с 0.25 kPa/s (Friedman ANOVA и Dunn's multiple comparison тест p<0.05).*

В друга серия експерименти, определихме разликите в болковия праг на латералната и медиалната глава чрез ръчен алгометър. Този метод широко се използва както при фундаментални изследвания, така и в клиничната практика, тъй като дава възможност за локално определяне на болкови параметри (в дадена точка, в конкретна част на мускула и пр.), като се използват различни по големина накрайници и различен градиент на увеличение на налягането.

Беше установена статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в стойностите на болковия праг в медиалната част (Т3 = 399.9 ± 133.9) и латералната част (Т4 = 464.8 ±1 48.3) на GS, т.е. медиалната част на GS има по-нисък болков праг от неговата латерална част (Фигура 9). Инсерцията на GS има по-ниска стойност на болковия праг ($p<0.05$) от тези на латералната страна на мускула (Т4), 420.2 ±74.3 и 464.8 ± 148.3 kPa, съответно.



Фигура 9. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болковия праг, определени в покой в различни точки на мускул gastrocnemius soleus чрез ръчен алгометър. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) между стойностите на болковия праг в латералната (Т4) и медиалната част (Т3) на m. gastrocnemius-m. soleus (Wilcoxon тест). •Статистически значима разлика ($p<0.05$) между стойностите на болковия праг в латералната (Т4) част на m. gastrocnemius – m.soleus и инсерцията (Т5) (Wilcoxon тест).*

Изследванията преди натоварване, които показват състоянието на базалната ноцицепция, показват, че налице е статистически достоверна разлика между стойности на болковия праг за левия и десния крак, т.е. доминантния крак има по-висок болков праг. Отделните структури на мускул GS имат различен болков праг, като най- висока е неговата стойност в латералната част на мускула, което вероятно се дължи на по-голямата натовареност по време на движение.

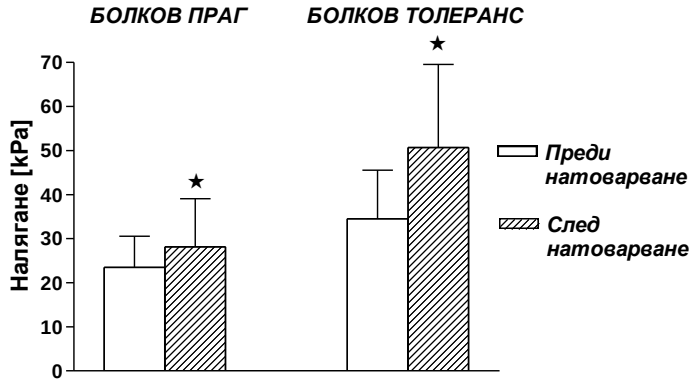
Повторните измервания на болкови параметри през 5 минутни интервали с пресорна алгометрия, показаха, че няма статистически достоверна разлика между измерените стойности, т.е. предварителното „размачкване“ на тъканите не оказва влияние върху оценката на болковия стимул.

Оценката за влияние на градиента на налягане има отношение към времевата сумация на постсинаптичните потенциали при механични болкови стимули. Стойностите на болковия праг се повишават при увеличаване на градиент от 0.25 kPa/s до градиент от 0.50 kPa/s, но остават непроменени при 1.00 kPa/s, докато болковият толеранс се увеличава при посоки стойности на градиента.

Промени в болковите параметри при натоварване

Добре известно е, че промените в стойностите на болковите параметри са силно манифестирани след физическо натоварване. Стойностите на болковия праг и на прага на болковия толеранс, оценени с компютъризирана система за пресорна алгометрия, се повишават ($p<0.05$) след стъпаловидно, велоергометрично натоварване (Фигура 10). Повишението на болковия праг е с 19.79 ± 2.40 %, а на прагът на болковия толеранс с 46.93 ± 3.94 %.

Получените данни доказват хипоалгезичния ефект на субмаксимално велоергометрично натоварване, който е по-изразен по отношение на болковия толеранс, респективно аналгезията се проявява в по-голяма степен при по-силните механични стимули и вероятно модулира издръжливостта при натоварване.

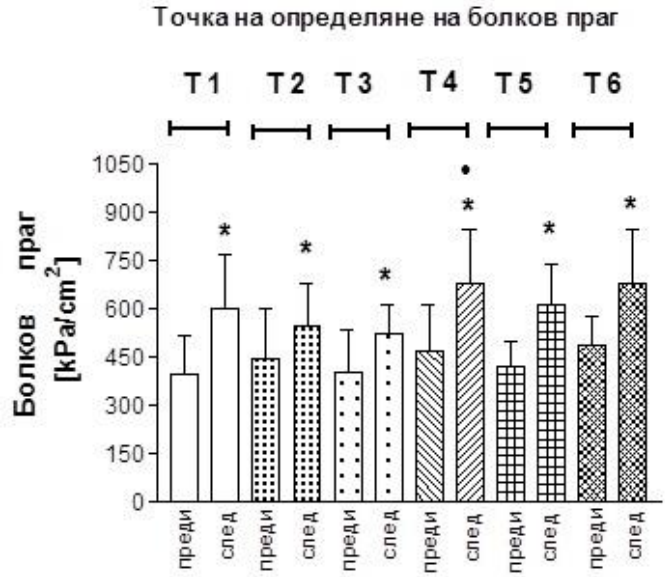


Фигура 10. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг (PPT) и праг на болков толеранс (PTT) измерени преди и след натоварване, с компютъризирана система за пресорна алгометрия.*
★Статистически значими различия в сравнение със стойностите преди натоварване. (Wilcoxon тест; p<0.05).

За оценка степента на аналгезия, индуцирана от физическо натоварване в „работещата" мускулатура и поради не еднакво разположение на различни рецептори в мускула, чрез ръчен алгометър, определихме промяната в болковия праг в различни области на мускул GS след натоварване.

Хипоалгезичните промени след максималното натоварване, са изразени във всички шест изследвани точки на дясната подбедрица. Най-изразено бе повишението на болковия праг (p<0.05) в латералната част (T4) на прасцевия мускул и в кожно-периосталната точка, като стойностите преди натоварване са 464.9 ± 148.3 kPa и 484.5 ± 91.2 kPa, съответно и след натоварване 668.3 ± 158.3 kPa и 676.0 ± 166.4 kPa (Фигура 11; Таблица 3).

Повишението на механичните болкови прагове след субмаксимално и максимално натоварване е добре известен феномен.



Фигура 11. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг (PPT) измерени преди натоварване и след натоварване в шест точки на подбедрицата на десния крак. ★Статистически значими различия в сравнение със стойностите преди натоварване (p<0.05; Wilcoxon тест); • Статистически значими различия в сравнение със стойностите след натоварване между медиалната (T3) и латералната част (T4) на прасцевия мускул (p<0.05; Wilcoxon тест).*

Таблица 3. *Болкови прагове (kPa/cm^2), определени с ръчен алгометър Somedic, върху шест точки на подбедрицата на десния крак, преди и след максимално натоварване.*

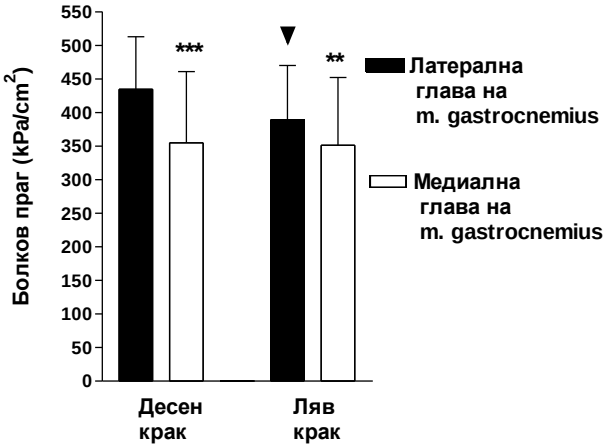
Точки, върху които е определен болков праг на m. gastrocnemius-m. soleus (GS)	Болкови прагове	
	Преди натоварване	След натоварване
Точка 1. Дистална медиална „глава“ на GS	395.1 ± 119.7	595.5 ± 169.1*
Точка 2. Дистална латерална „глава“ на GS	443.1 ± 158.0	541.7 ± 133.2*
Точка 3. Средно медиално „коремче“ на GS	399.9 ± 133.9	521.5 ± 90.6*
Точка 4. Средно латерално „коремче“ на GS	464.8 ± 148.3	668.3 ± 158.3 * •
Точка 5. Инсерция	420.2 ± 74.3	612.1 ±123.9*
Точка 6. Измерване на периостална болка	484.5 ± 91.2	676.0 ± 166.4*

*Статистически значими различия в сравнение със стойностите преди натоварване ($p<0.05$; t – *Wilcoxon* тест) • Статистически значими различия в сравнение със стойностите след натоварване между медиланата и латералната част на прасцевия мускул ($p<0.05$; Mann-Whitney тест).

6.1.2. Изследване на връзката между силови изокинетични характеристики и параметри на болката при натоварване

Базална ноцицепция. Резултатите върху базалната ноцицепция при тази експериментална сесия обхващат сравнителни данни, измерени в покой преди натоварване. Те представят различията в болковия праг на m. gastrocnemius между:

- десния (доминантния) и левия крак;
- латералната и медиалната глава при двата крака. Тези данни са представени на Фигура 12 и Таблица 4. Те показват, че в покой:



Фигура 12. *Базална ноцицепция. Болкови прагове, измерени с ръчен алгометър (Somedic) в коремчето на латералната и медиалната глава на m. gastrocnemius върху десен (доминантен) и ляв крак. *Статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в сравнение с латералната глава; ▼Статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в сравнение с десен крак.*

- медиалната глава на m. gastrocnemius е по-чувствителна към механична стимулация от латералната, при която болковият праг е статистически значимо (Mann-Whitney тест; $p<0.05$) по-висок и тази разлика се наблюдава при двата крака;
- болковият праг, измерен на m. gastrocnemius на десния (доминантния) крак е статистически значимо по-висок от този на левия и следователно долният крайник, който се упражнява по-често има достоверно понижена сетивност ($p<0.05$) към механични болкови стимули.

Оценката на базалната ноцицепция, т.е. преди натоварване чрез локален механичен стимул върху основния сгъвач на ръцете – m. biceps brachii показа, че не се наблюдават различия в болковите прагове между дясната ръка (доминантната) и лявата ръка (Фигура 13).

Таблица 4. *Болкови прагове ($\overline{X}$ ±SD; kPa), измерени в покой с ръчен динамометър (Somedic) в коремчето но латералната и медиалната глава на m. gastrocnemius върху десен (доминантен) и ляв крак.*

Статистически параметри	Десен (доминантен) крак		Ляв крак	
	Латерална глава	Медиална глава	Латерална глава	Медиална глава
$\overline{X}$ (kPa)	430	350	390	350
± SD (kPa)	78	110	81	100
V (%)	18	29	28	24

Болкови прагове след натоварване. Стойностите на основни параметри при максималното натоварване до отказ на тредмил, като продължителност, максимална скорост, кислородна консумация, дихателен коефициент и максимална сърдечна честота (HRmax) са представени в Таблица 5. Те показват, че лицата имат нормални стойности на аеробния капацитет и издръжливост за нетренирани и натоварването в края на теста е в диапазона на максималното, защото сърдечната честота е от такъв порядък, а дихателният коефициент (VCO_2 / VO_2) е над 1.0.

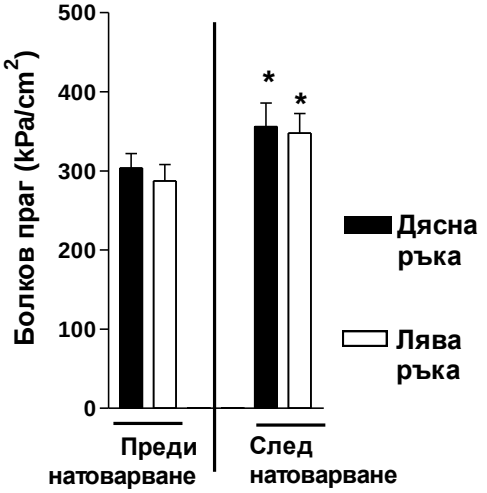
Таблица 5. *Стойности на основни параметри при максимален тест на тредмил.*

Параметър	Продължителност на натоварването (min)	Максимална скорост (km/h)	Максимална кислородна консумация (ml/min/kg)	Дихателен коефициент	HRmax (уд/min)
$\overline{X}$ ±SD	7.9 ± 0.3	11.2 ± 0.2	48.0 ± 1.3	1.24 ± 0.23	190.4 ± 1.9

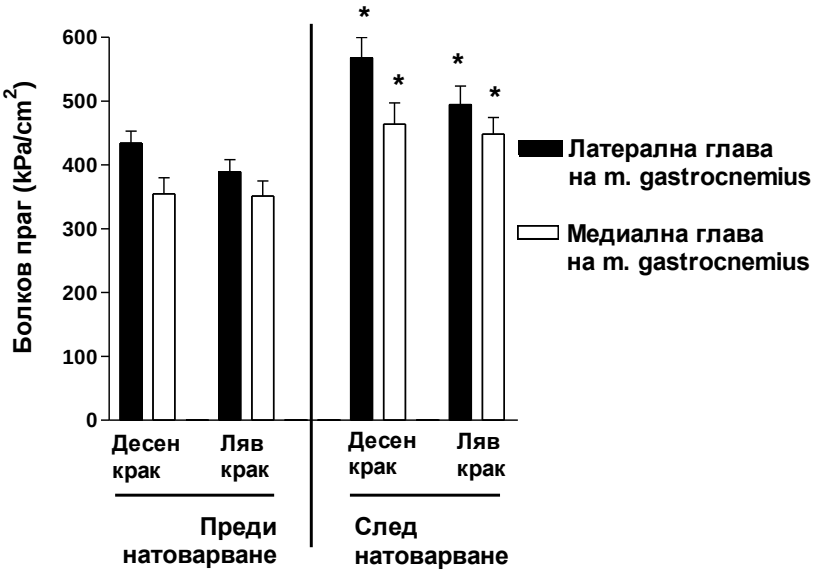
Сравнителното представяне на болкови прагове при механична стимулация в двете глави на m. gastrocnemius на двата крака 15 min след максимално натоварване, представени на

Фигура 14, заедно с тези преди натоварване, показват, че се наблюдава достоверна ($p<0.05$) хипоалгезия на двата крака и в двете глави. Стойностите, показани

в Таблица 6 се отнасят само за измерените прагове след натоварване, а статистическата значимост на различията между тях, посочена в таблицата показва, че и след натоварване се наблюдава по-ниска болкова чувствителност на латералната глава в сравнение с медиалната и на десния крак в сравнение с левия (Таблица 6).



Фигура 13. *Болкови прагове, измерени с ръчен алгометър(Somedic) в коремчето на m. biceps brachii върху дясна (доминантна) и лява ръка преди и след натоварване с максимален тест. * Статистически достоверна разлика в сравнение със стойностите преди натоварване (ANOVA и Tukey тест).*



Фигура 14. *Болкови прагове, измерени с ръчен алгометър (Somedic) в коремчето на латералната и медиалната глава на m. gastrocnemius върху десен (доминантен) и ляв крак, преди и след натоварване с максимален тест. * Статистически достоверна разлика в сравнение със стойностите преди натоварване (ANOVA и Tukey тест).*

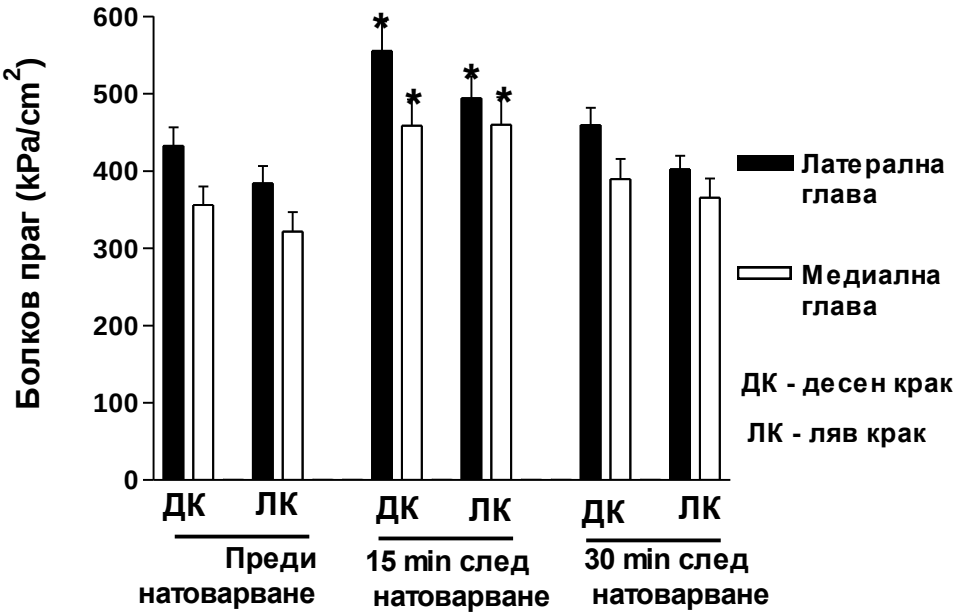
Таблица 6. *Болкови прагове ($\overline{X}$ ±SD; kPa), измерени след максимално, стъпаловидно натоварване на тредмил с ръчен алгометър (Somedic) в коремчето но латералната и медиалната глава на m. gastrocnemius върху десен (доминантен) и ляв крак.*

Статистически параметри	Десен (доминантен) крак		Ляв крак	
	Латерална глава	Медиална глава	Латерална глава	Медиална глава
$\overline{X}$ (kPa)	570[a,b]	460	490[a]	450
± SD (kPa)	140	140	120	110
V (%)	24	31	25	24

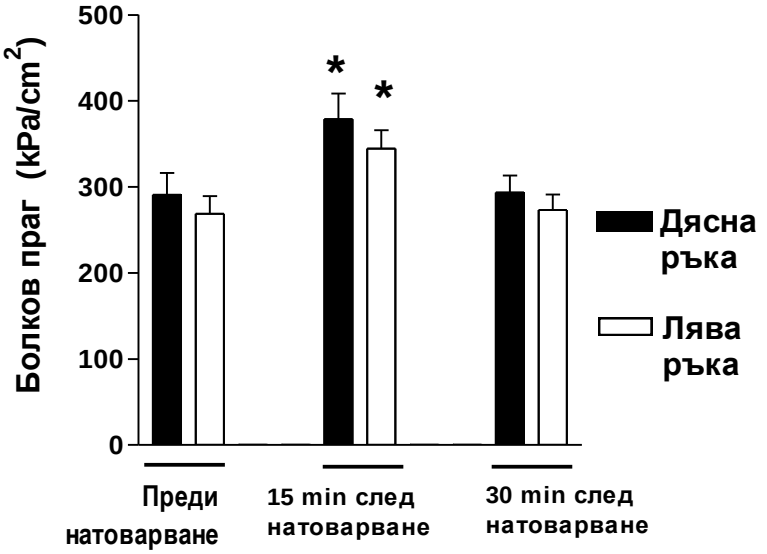
[a]*Статистическа значимост в сравнение с медиална глава на същия крак;* [b]*Статистическа значимост в сравнение с латерална глава на левия крак.*

Динамиката в хипоалгезията след натоварване при същата група опитни лица, но при друг модел на натоварване, беше проследена чрез стойностите на болковите прагове на мускули на долния и горния крайник. Измерванията се провеждаха при тест за аеробен капацитет на Купър преди натоварване, 15 min след натоварване и 30 min след натоварване. Тези данни, представени на Фигура 15 и Фигура 16 показват, че хипоалгезията при натоварване с тестове, чиято продължителност е 7-10 min е бързопреходна. Около 15-та min след натоварване, повишението на болковите прагове е статистически достоверно ($p<0.05$), както в работещи по време на натоварването мускули на краката, така и в неработещи мускули на ръцете. На 30-та min, стойностите на болковите прагове в латералния и медиалния gastrocnemius на двата крака бяха повишени, но статистически недостоверно, а в m. biceps brachii бяха сходни с тези преди натоварване.

Поради субективния характер на болковото усещане, вариационните коефициенти на средните стойности на болковите прагове, както на мускули на ръцете, така и на краката, бяха високи. За да оценим степента на хипоалгезията и да избегнем големите индивидуални различия в праговете, ние изчислихме разликата между стойността на болковия праг след натоварване и тази преди натоварване за всяко лице. Това ни позволи да определим степента на хипоалгезия в kPa/s при активно работещи и неактивно работещи мускули по време на натоварването. От Фигура 17 е видно, че в активно работещия по време на натоварването m. gastrocnemius – латерална глава на десния, доминантен крак, степента на хипоалгезия е значително по-голяма от тази на неработещия m. biceps brachii на доминантната ръка. Чрез този начин на количествено представяне на степента на хипоалгезия при натоварване ние потърсихме корелации с динамометрични характеристики на различни групи мускули.

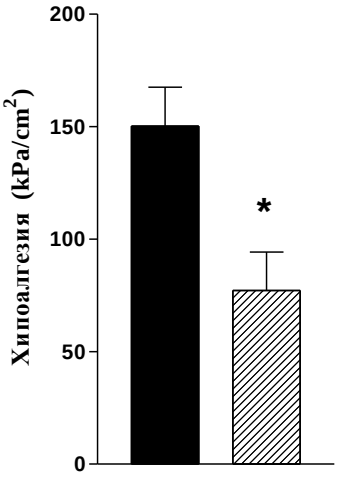


Фигура 15. *Болкови прагове, измерени с ръчен алгометър (Somedic) в коремчето на латералната и медиалната глава на m. gastrocnemius върху десен (доминантен) и ляв крак преди-, 15 min след- и 30 min след* ***тест на Купър****. * Статистически достоверна разлика в сравнение със стойностите преди натоварване (ANOVA и Tukey тест).*



Фигура 16. *Болкови прагове, измерени с ръчен алгометър (Somedic) в коремчето на m. biceps brachii върху дясна (доминантна) и лява ръка преди-, 15 min след- и 30 min след тест на Купър. * Статистически достоверна разлика в сравнение със стойностите преди натоварване (ANOVA и Tukey тест).*

.



Фигура 17. *Сравнително представяне на степента на хипоалгезията на m. gastrocnemius – латерална глава, доминантен крак – черно стълбче и m. biceps brachii, дясна (доминантна) ръка – защриховано стълбче. * Статистически достоверна разлика в сравнение със стойностите преди натоварване (Mann - Whitney тест).*

Корелации между хипоалгезия индуцирана при натоварване и силови характеристики на скелетни мускули при концентрични съкращения.

Едно основно предположение, което беше изследвано в настоящата разработка беше, че генерирането на сила при здравия нетрениран човек, като основна функция на скелетния мускул, се модулира от активността и на ендогенни системи които участват във формирането на базалната ноцицепция и се активират при физическо натоварване. Следователно размерът на хипоалгезията индуцирана при натоварване, би могла да бъде критерий за активността на ендогенни модулиращи болката системи и в някаква степен за нивото на физическа активност и ниво на тренираност. В тази връзка, беше изследвана корелацията между изокинетичната сила на флексорите и екстензорите на коляното и на плантарните и дорзални флексори на глезена на десен крак от една страна и хипоалгезията индуцирана при максимално натоварване, тествана чрез определяне на болковите прагове преди и след максимално натоварване върху латералната глава на GS на десен крак, от друга. Последната беше избрана, защото беше най-манифестирана, както беше описано по-горе. Стойностите на силата ($\overline{X}$ ±SD) на флексорите и екстензорите на коляното и на плантарните и дорзални флексори на глезена на десния крак, измерени като торг или момент на силата, при концентрично съкращение, са представени в Таблица 7.

Таблица 7. *Торг ($\overline{X}$ ±SD) на нетренирани мъже на флексорите и екстензорите на колянна става (при скорост 60 °/sec) и плантарни и дорзални флексори на глезенна става (при скорост 30 °/sec) на десен крак при концентрично съкращение, измерен с изокинетичен динамометър.*

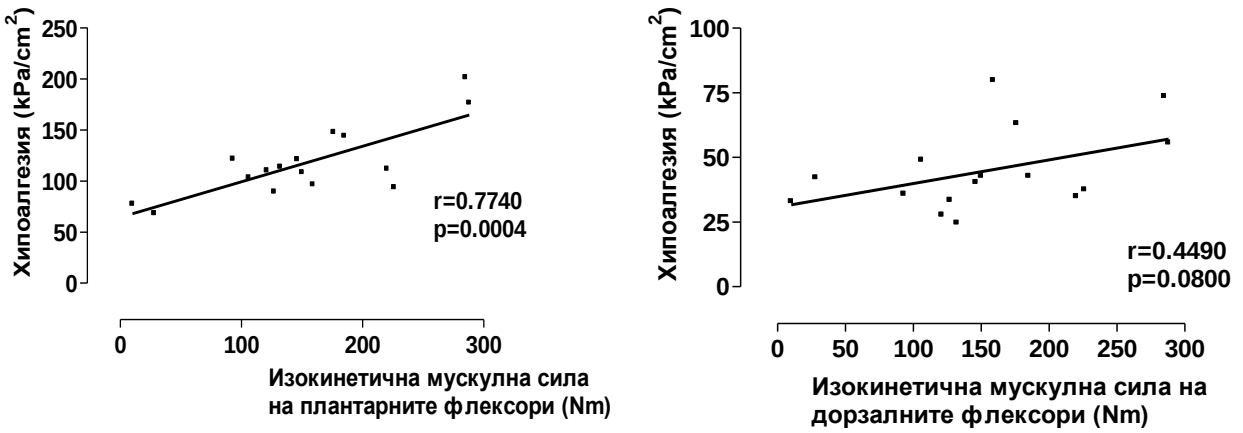
Торг (Nm)	Колянна става		Глезенна става	
	Екстензори	Флексори	Плантарни флексори	Дорзални флексори
$\overline{X}$ ±SD	239.5 ± 50.0	121.3 ± 28.4	117.8 ± 35.0	44.8 ± 15.8
V (%)	20.8	23.4	29.7	35.3

Посочените зависимости бяха изследвани с коефициента за линейна корелация на Pearson, който оценява метрично скалирани данни по отношение на двата признака. Корелации между силата на посочените мускулни групи и другите болкови параметри – болков праг и болков толеранс, измерени при натоварване на латералния gastrocnemius, също бяха изчислени с коефициента на Pearson, но те показаха, че не се наблюдава зависимост между тях. Не се наблюдаваше корелация и между размера на хипоалгезията и силата на дорзалните флексори на глезена на същия крак (Таблица 8). Обаче, по отношение на другите изследвани мускулни групи, бяха установени умерени до значителни корелации. Получените стойности за коефициента r, който показва силата и посоката на намерените корелации, за коефициента r^2, който е критерий за т.нар. обяснена дисперсия и за коефициента за неопределеност – k^2, са представени в таблицата, а графичният вид на зависимостите е показан на Фигури 18 и 19.

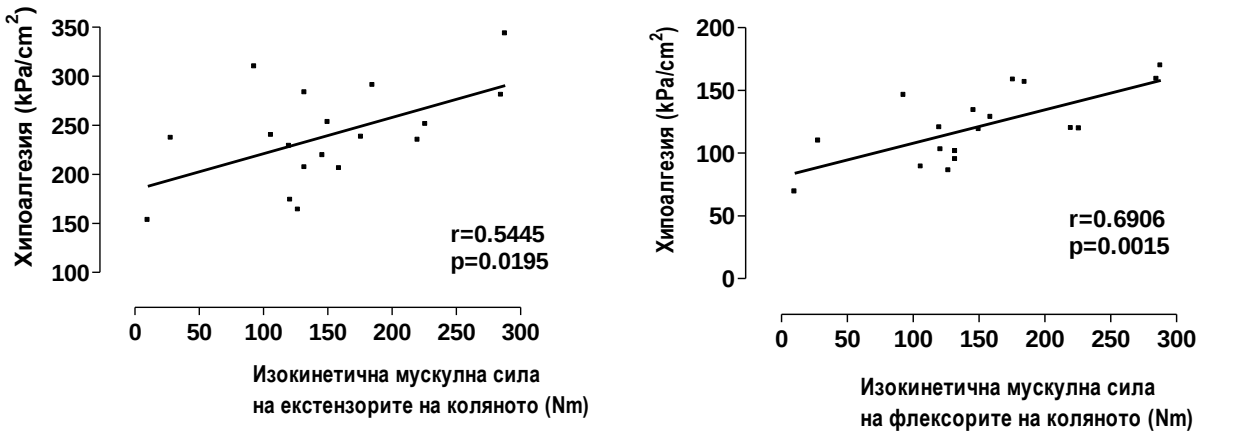
Таблица 8. *Корелационни зависимости между: - хипоалгезията, индуцирана при максимален тест на тредмил и измерена в коремчето на латералната глава на m. gastrocnemius на десен крак; и – торгът на флексорите и екстензорите на колянна става (при скорост 60 °/sec) и плантарни и дорзални флексори на глезенна става (при скорост 30 °/sec) на десен крак при концентрично, изокинетично съкращение.*

Мускулна група	r	P	r^2 (%)	k^2 (%)	Оценка на корелацията
Колянна става:					
- флексори	0.6906	0.0015	47.70	52.30	значителна
- екстензори	0.5445	0.0195	29.75	70.25	умерена
Глезенна става:					
- плантарни флексори	0.7744	0.0004	59.96	40.04	голяма
- дорзални флексори.	0.4493	0.0808	-	-	няма корелация

От таблицата е видно, че съществува голяма възходяща корелация между размера на хипоалгезията индуцирана при натоварване в латералната глава на m. gastrocnemius и силата на плантарните флексори на глезена, като процентът на вариацията на силата, която се дължи на хипоалгезия е значително по-голям от този, отразяващ влиянието на други фактори, които не са включени в изследването.



Фигура 18. *Корелационни зависимости между: - хипоалгезията, индуцирана при максимален тест на тредмил и измерена в коремчето на латералната глава на т. gastrocnemius на десен крак; и – торгът на плантарни (ляво) и дорзални (дясно) флексори на глезенна става (при скорост 30 °/sec) на десен крак при концентрично, изокинетично съкращение.*



Фигура 19. *Корелационни зависимости между: - хипоалгезията, индуцирана при максимален тест на тредмил и измерена в коремчето на латералната глава на т. gastrocnemius на десен крак; и – торгът на на екстензорите (ляво) и флексорите (дясно) на колянна става (при скорост 60 °/sec) при концентрично, изокинетично съкращение.*

Значителна е корелацията и при флексорите на коляното, докато параметрите на зависимостта при екстензорите показват, че влиянието на невключените при изследването фактори върху силата на мускулите (или т.нар. необяснена дисперсия) е значително по-голямо (повече от 70 %), отколкото ролята на потенциала за индуциране на хипоалгезия, тестван с натоварване. В този случай изследваната зависимост е умерена.

6.1.3. Сравнителни изследвания на болкови параметри при нетренирани и тренирани лица

Оценка на болков праг с палпация и турникетов метод с апарат за кръвно налягане

За да проследим промените след натоварване и разликите в болковите параметри проведохме експериментална сесия с нетренирани лица и професионални танцьори.

В Таблица 9 са представени стойности на болков рейтинг при палпация в инсерцията и в инервационната зона на m. vastus lateralis и турникетова техника с апарат за кръвно налягане преди и след стъпаловидни натоварване до отказ. Болковият рейтинг, определен с палпация, е по-нисък при танцьорите ($p < 0.05$) в сравнение с нетренираните, както преди – 0.0 mm и 3.5 ± 1.2 mm, съответно, така и след максималното натоварване до отказ (0.0 mm и 2.9 ± 0.9 mm, съответно) т.е. танцьорите имат значително по-високи болкови прагове, както в покой така и след субмаксимално стъпаловидно натоварване.

Таблица 9. *Болков праг и болков рейтинг ($\overline{X}$ ± SD), определен чрез палпация и пресорна алгометрия след максимално физическо натоварване (DBP +50 mmHg) и оценена чрез ВАС (mm). * Статистически значимо различие при p<0.05 (Mann-Whitney U тест при сравнение между двете експериментални групи и Wilcoxon rank тест за оценка на разликите преди и след натоварване).*

Болкови параметри	**Нетренирани**		**Танцьори**	
	Преди натоварване	След натоварване	Преди натоварване	След натоварване
Болков праг, определен чрез палпация на m. vastus lateralis (ВАС, mm):				
В инервационната зона	0.3 ± 1.8	0.4 ± 0.4	0.0	0.0
В инсерцията	1.5 ± 1.6	0.9 ± 1.7	0.0	0.0
Болков рейтинг (DBP+50 mmHg) (ВАС, mm)	3.5 ± 2.4	2.9 ± 1.8	0.0*	0.0*

За оценката на болковия рейтинг използвахме апарат за кръвно налягане, което е лесен и достъпен метод. Поради мануалното нагнетяване на въздух в маншета и непостоянството в градиента на налягане при използването му, тестването трябва да се прави от един и същ изследовател.

Стойностите на болковия праг, определен чрез палпация не се различаваха статистически ($p > 0.05$) при танцьорите и при нетренираните, както в инсерцията, така и в инервационната зона на m. vastus lateralis (Таблица 9).

Определяне на експериментална болка с турникетова техника и манометър до 600 mmHg

За оценка на експериментална болка при стимулация на дълбоки механорецептори и количествено определяне на болкови параметри, тествахме турникетова система с по-голяма

скала на манометъра. Тя се използва в клиничната практика, най-вече като средство за предизвикване на исхемия и намаляване на кръвозагубата при оперативно лечение.

В Таблица 10 са представени стойностите на следните болкови параметри: болков праг, силна поносима, силна непоносима болка и болков рейтинг, определени преди и след стъпаловидно натоварване до отказ при професионални танцьори и нетренирани лица. Танцьорите показаха по-високи стойности при силната поносима болка, както в покой, така и след натоварването, но няма разлика между болковите прагове на двете изследвани групи преди и след физическото натоварване.

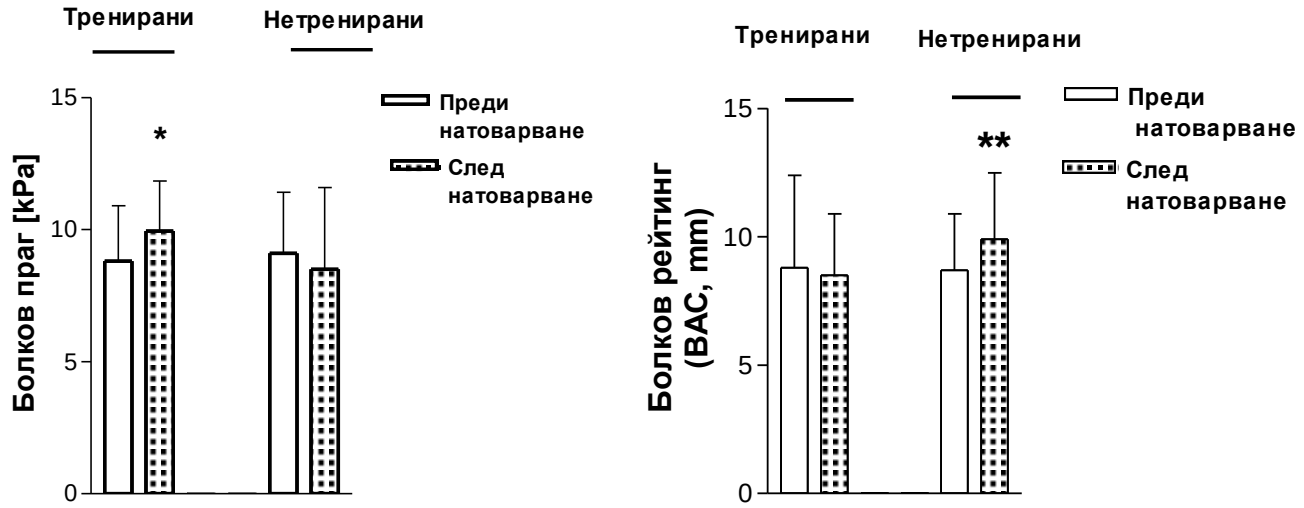
Стойностите на болковия рейтинг (Таблица 9) определен чрез апарат за кръвно налягане бяха по-ниски при тренираните в сравнение с нетренирани, 8.5 ± 2.4 и 9.9 ± 2.6 mm, съответно, след максималното стъпаловидно натоварване.

Таблица 10. *Стойности на болкови параметри ($\overline{X}$ ±SD), преди и след максимално натоварване, при тренирани и нетренирани: болков праг, силна поносима болка, силна непоносима болка (kPa) и болков рейтинг (BAC; mm), определени чрез турникетова техника с апарат за кръвно налягане.*

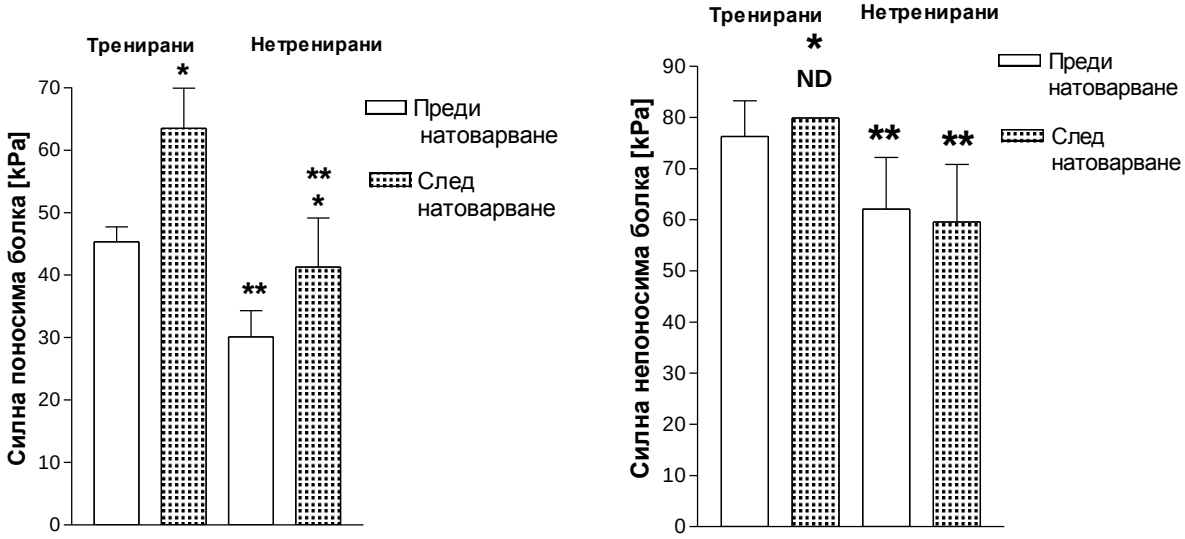
Болкови параметри	**Тренирани**		**Нетренирани**	
	Преди натоварване	След натоварване	Преди натоварване	След натоварване
Болков праг (kPa)	8.8 ± 2.2	10.0 ± 2.4*	9.1 ± 3.4[a]	8.5 ± 3.6*
Силна поносима болка (kPa) BAC= 5	45.3 ± 2.4	63.6 ± 6.4*	30.1 ± 4.2[a]	41,3 ± 7.8* [a]
Силна непоносима болка (kPa) BAC= 8	76.3 ± 7.0	> 79.9*	62.1 ± 10.1[a]	59.6 ± 10.1* [a]
Болков рейтинг (BAC; mm)	8.8 ± 3.6	8.5 ±2.4 [a]	8.7 ± 2.2	9.9 ± 2.6*

***** Статистически значима разлика ($p<0.05$) между стойностите преди и след натоварване (Wilcoxon тест).

[a] Статистически значима разлика ($p<0.05$) между стойностите при тренирани и нетренирани (Mann-Whitney U тест).



Фигура 20. *Стойности ($\overline{X}$ ± SD) на болков праг (kPa) и болков рейтинг (BAC, mm), определени с турникетова техника и манометър до 600 mmHg, при нетренирани и тренирани, преди и след стъпаловидно натоварване до отказ. *Статистически значима разлика (p<0.05) между стойностите на болковия праг преди и след натоварване в двете групи (Wilcoxon тест). ** Статистически значима разлика (p<0.05) между стойностите при тренирани и нетренирани (Mann-Whitney U тест).*



Фигура 21. *Стойности ($\overline{X}$ ± SD; kPa) на силна поносима болка и на силна непоносима болка определени с турникетова техника и манометър до 600 mmHg, при нетренирани и тренирани, преди и след стъпаловидно натоварване до отказ. * Статистически значима разлика (p<0.05) между стойностите на болковия праг преди и след натоварване в двете групи (Wilcoxon тест). ** Статистически значима разлика (p<0.05) между стойностите при тренирани и нетренирани (Mann-Whitney U тест). ND – не е определен.*

На Фигура 20 и Фигура 21 се вижда, че тренираните имат статистически достоверно по-високи стойности с 30 % на болковия праг (p<0.05), в сравнение с нетренираните, докато стойността на силната непоносима болка (болковия толеранс) при спортистите е с около 25 % по-висока (p<0.01). Хипоалгезичните ефект на максималното натоварване е по-изразен при тренирани, а тъй като и болковят им толеранс е по-висок в покой, това може да се дължи на

по-високи плазмени нива на едногенните опиоиди и канабиноиди в резултат на системно трениране.

6.2. Изследване на болковата перцепция при имобилизация и физическо натоварване при експериментални животни

6.2.1. Резултати от изследвания при имобилизация

6.2.1.1. Базална ноцицепция

В Таблица 11 са представени данни проследяващи ефектът на имобилизационния стрес във времето върху стойностите на болковия праг и латентността.

Таблица 11. *Промени в стойностите ($\overline{X}$ ±SD) на болковите параметри, при механичен и термичен стимул, проследени в продължение на 4 дни имобилизационен стрес, преди и след имобилизацията.*

Болкови параметри	**Ден от имобилизационния стрес**							
	Първи		**Втори**		**Трети**		**Четвърти**	
	Преди	След	Преди	След	Преди	След	Преди	След
при механична стимулация (paw pressure тест) (g/cm^2)	122.8 ± 6.7	215.0* ± 20.7	129.4 ± 10.6	190.0*,↓ ± 13.3	118.9 ± 8.3	137.8*,↓ ± 34.9	112.2 ± 9.4	121.7*,↓ ± 15.4
при термична стимулация (hot plate тест) (sec)	3.9 ± 0.6	6.2* ± 1.0	4.6↑ ± 0.7	4.5 ± 0.7	3.9 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.3 ± 0.3

* Статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в сравнение със стойностите преди имобилизация, в същия ден.
↓ Статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в сравнение със стойностите след имобилизация от предния ден.
↑ Статистически достоверна разлика ($p<0.05$) в сравнение със стойностите преди имобилизация от предния ден.

Боловият праг при интактни животни е 122.8 ± 6.7 g/cm^2, а след имобилизацияонния стрес на първия ден 215.0 ± 20.7 g/cm^2, т.е. острият имобилизационнен стерес предизвиква статистически достоверно ($p<0.01$) повишение на болковия праг. НР-латентността след острия имобилизационен стрес също е повишена статистически достоверно ($p<0.05$) от 3.9 ± 0.6 sec до 6.2 ± 1.0 sec. Следователно, при острия имобилизационен стрес се наблюдава добре изразена стрес–индуцирана аналгезия при механичния и термичен тест.

При проследяване на стойностите на болковия праг в 4-те последователни дни се наблюдава статистически достоверна разлика ($p<0.05$) както между болковите прагове преди и

след имобилизация,така и между стойностите след имобилизация на втория, третия и четвъртия ден от имобилизационен стрес.

При сравнение на стойностите преди и след имобилицацията се наблюдава изразен хипоалгетичен ефект, който е статистически достоверен ($p<0.05$). При сравнение на болковия праг след стрес в отделните дни се набюдава тенденция към постепенно понижение на стойностите му, които са статистически достоверени ($p<0.05$). При сравнение на стойностите на болковия праг при интакти животни и с тези на четвъртия ден след имобилизацията, не се наблюдава статистически достоверна разлика. Следователно, хроничният имобилизационен стрес не предизвиква антиноцицепция. (Таблица 11).

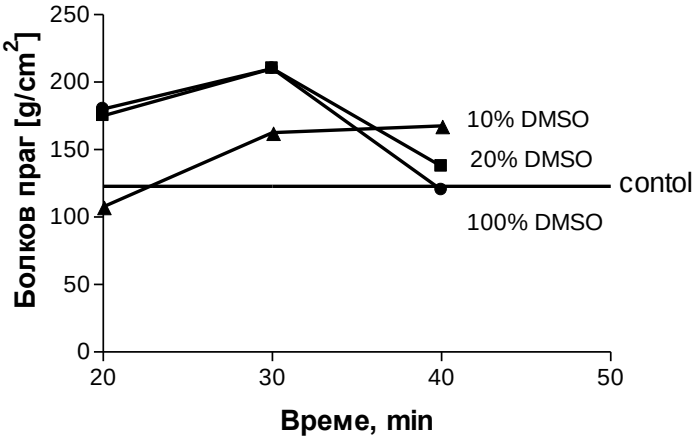
При проследяване стойностиите на латентостта по време на четири дневния стрес не се наблюдаваше, статистически достоверна разлика, между латенноста след стреса на втория, третия и четвъртият ден, както и между латентността преди и след на втория, третия и четвъртия ден.

Резултати при въвеждането на CB1 рецепторен блокер

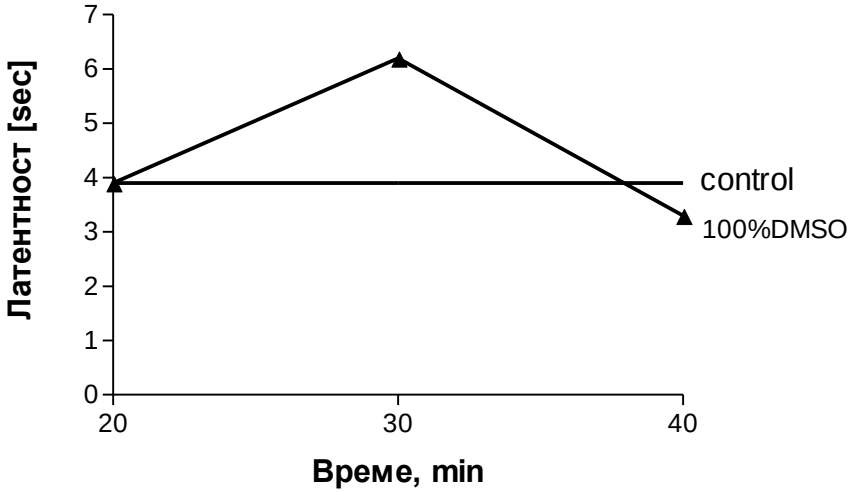
Антагонист на CB1 рецепторите AM 251 бе разтворен в диметил сулфооксида (DMSO), за когото е известно, че има аналгетични свойства. За да определим процентния разтовор при използването му като разтворител, тествахме 10 %, 20% и 100 % разтвор, като проследихме активността на веществото върху болковия праг (paw- pressure test) (Фигура 22 А) и латентност (hot- plate test) (Фигура 22В) в продължение на 50 min след i.p. инжектиране в обем от 0.1 ml.

Резултатите показаха, че изразен е антиноцицептивния ефект се наблюдаваше при 20 % и 100 % разтвор на DMSO ($p<0.05$). Пикът на обезболяване бе на 30 min от въвеждане на веществата. На 40 min от i.p. инжектиране на 100 % разтор стойностите на праговете бяха еднакви с тези при интактни животни. При 10 % разтвор на DMSO стойности на болковия праг бяха през първите 10 min от изследването.

Резултатите при HP-латентността за DMSO не показаха статистически достоверна разлика на 30 и 40 min сравнени с тези при интактни животни (Фигура 22В). Ето защо ние използвахме 100 % разтвор на DMSO за разтваряне на CB1 рецепторния болкер.Стойностите на болковите прагове и латенността бяха определяни 40 min след въвеждане на блокера.



Фигура 22 А. *Модулация на болков праг при механичен стимул след 0.1 ml, i.p. въвеждане на различни концентрации DMSO.*

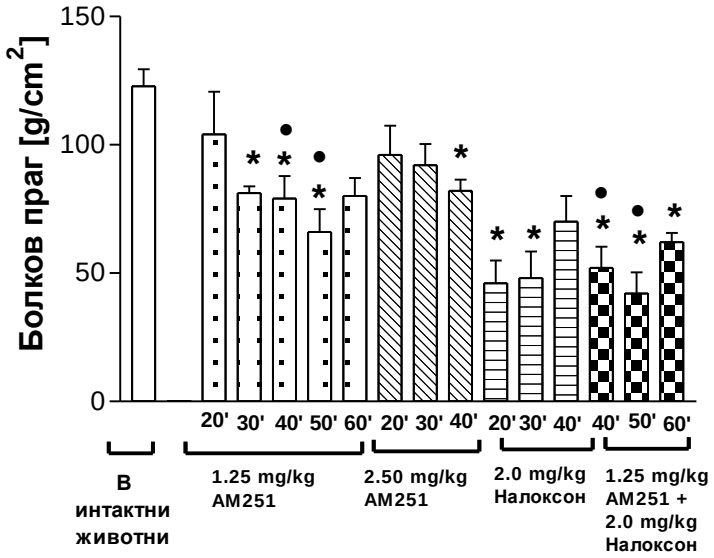


Фигура 22В. *Модулация на латентност (hot plate test) след 0.1 ml, i.p. въвеждане на 100 % DMSO.*

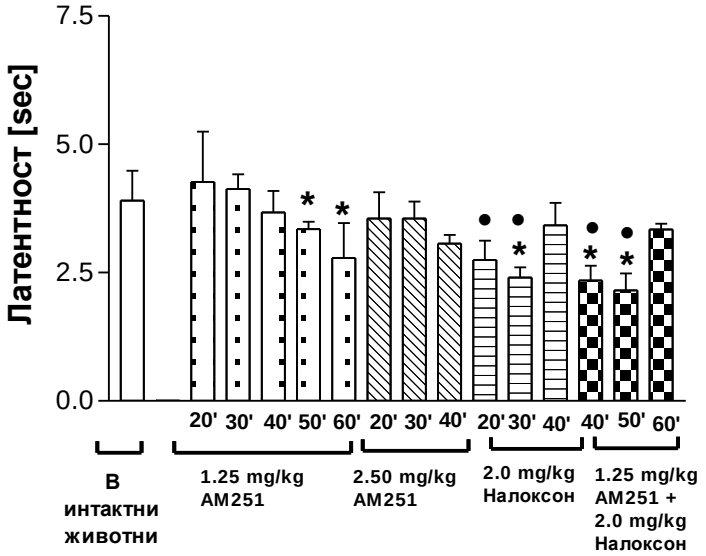
Ефекти на AM 251 и налоксон без имобилизационен стрес

Тъй като по литературни данни, прилаганите концентрации на CB1 рецепторния блокер AM251 бяха различни, а резултатите противоречиви, проведохме предварителни изследвания за да определим ефективните концентрациите на този антагонист на CB1 канабиоидните рецептори върху модулацията на механични и термичния ноцицептивен праг, като тествахме следните концентрации – 1.25 mg/kg и 2.50 mg/kg (Фигура 23А и Фигура 23В).

От Фигура 23А се вижда, че на 40-та, 50-та и 60-та min от въвеждането на 1.25 mg/kg и 2.50 mg/kg AM251 е налице понижение в стойностите на болковия праг, в сравнение с тези, определени при интактни животни. Понижението на болковия праг на 40-та min от инжектирането на 1.25 mg/kg е с 33.3 ± 1.6 % спрямо стойността на ноцицептивния праг в интактни животни. Понижението на болковия праг, 20 min след въвеждане на налоксона, е с 62.5 ± 1.6 % спрямо стойността му при интактни животни. Комбинацията от налоксон и 1.25 mg/kg AM251 води до понижение с 65.8 % ± 1.9 % при интактни животни ($p<0.05$).



Фигура 23А. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг при механичен стимул в интактни животни и след 0.1 ml, i.p. въвеждане на 2.5 mg/kg AM251, 1.25 mg/kg или/и 2mg/kg налоксон. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) спрямо стойности на болковия праг в интактни животни. ●Статис-тически значима разлика ($p<0.05$), спрямо стойности на болковия, определен на 20-та min, след въвеждане на налоксон. (Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*



Фигура 23В. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност (hot plate тест) при интактни животни и след 0.1 ml, i.p. въвеждане на 2.5 mg/kg AM251, 1.25 mg/kg или/и 2 mg/kg налоксон. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) спрямо стойности на болковия праг в интактни животни. ●Статис-тически значима разлика ($p<0.05$) спрямо стойности на болковия праг, определен на 20-та min, след въвеждане на налоксон. (Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*

Стойностите на латентността се понижаваха спрямо тези при интактни животни както следва: след 50 min от въвеждането на CB1 рецепторен блокер, понижението бе с 15.4 ± 3.1 %, 20 min след въвеждането на опиоидния рецепторен блокер, понижението бе с 38.0 ± 0.02 %, а комбинираното инжектиране на налоксон и AM251 доведе до понижение с 43.6 ± 2.9 % (Фигура 23В).

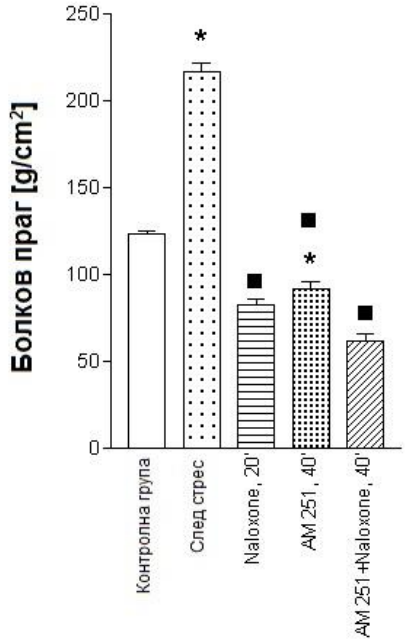
Резултатите, показват, че при интактни животни опиоидите имат по-голямо участие в модулацията, както на болковия праг, така и на болковата латентност, в сравнение с модулация, при която участват CB1 рецепторите. Опиоидните рецептори и CB1 рецепторите вероятно взаимодействат при антиноцицептивния си ефект, тъй като при комбинираното им

въвеждане понижението на болковия праг е по-силно изразено ($p<0.05$) спрямо това, при отделното въвеждане.

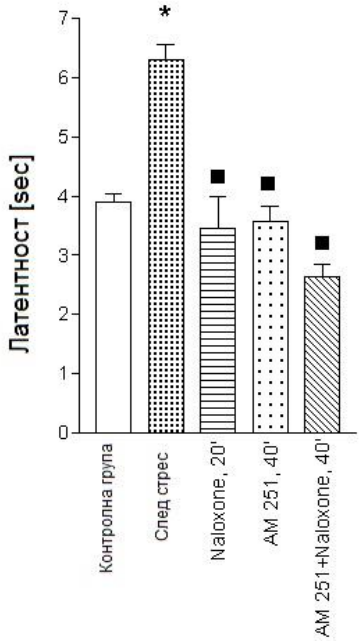
6.2.1.2. Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при остър имобилизационен стрес

На Фигура 24А и Фигура 24В са представени резултати от изследване на участието на ендоопиоидите и ендоканабиноидите и взаимодействието на двете системи при модулация на термични и механични болковите стимули при остър имобилизационен стрес.

Болковият праг се понижава ($p<0.05$) след въвеждане на налоксона, в сравнение със стойността му след имобилизационния стрес с 63.5 ± 7.8 % и с 57.2 ± 6.4 % след инжектирането на AM251. При комбинираното въвеждане на двете вещества понижението на болковия праг е с 73.1 ± 8.3 %, т.е. и опиоидните рецептори и CB1 рецепторите участват в антиноцицептивната модулация на болковата перцепция след остър имобилизационен стрес. Може да се предположи, че тези две системи си взаимодействат при този вид аналгезия, въпреки, че няма статистически достоверна разлика между групите с налоксон и AM251 и тази с комбинирано инжектиране на двата блокера (Фигура 24А).



Фигура 24А. *Промени в болковия праг при механичен стимул, преди, веднага след острата имобилизация и след i.p. въвеждане на опиоиден и/или канабиноиден блокер.*
** Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с контролната група (преди имобилизация);* ■*Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите след имобилизационния стрес. (Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*



Фигура 24В. *Промени в болковия праг при термичен стимул, преди, веднага след острата имобилизация и след i.p. въвеждане на опиоиден и/или канабиноиден блокер*
**Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с контролната група (преди имобилизация);* ■*Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите след имобилизационния стрес. (Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*

Стойностите на латентността също се понижават ($p<0.05$) с 44.2 ± 3.8 % след инжектиране на опиоиден блокер, с 44.5 ± 4.6 % след i.p. въвеждане на AM251 и с 59.7 ± 6.2 % след едновременно въвеждане и на двата блокера. Резултатите показват, че анти-механичната болкова модулация от ендогенни опиоиди и канабиноиди е по-силно изразена от анти-термичната и вероятно ендогенна опиоидна система упражнява по-силно изразен антиноцицептивен ефект върху механични стимули, в сравнение с ефекта на канабиноидната.

Антиноцицептивно взаимодействие, което се упражнява от ендогенните опиоиди и канабиноиди се наблюдава както при механична, така и при термична хипоалгезия, индуцирани при остър имобилизационен стрес (Таблица 12).

Таблица 12. *Ефекти на опиоиден и канабиноиден антагонист върху болков праг след остра имобилизация.*

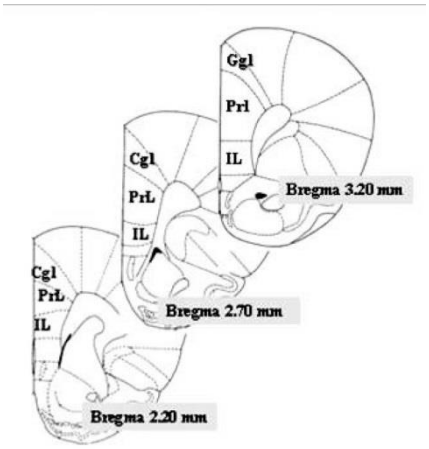
Антагонист	**Понижение на болков праг след остра имобилизация [%]**	
	Механичен болков праг	**Латентност**
Налоксон 2.0 mg/kg	63.5 ± 7.8*	44.2 ± 3.8*
AM251 1.25 mg/kg	57.2 ± 6.4*	44.5 ± 4.6*
Налоскон и AM251 (2.0 mg/kg и (1.25 mg/kg)	73.1 ± 8.3*	59.7 ± 6.2*

Имунохистохимично изследване на CB1 канабиноидни рецептори в префронтален кортекс на плъхове, след остър имобилизационен стрес

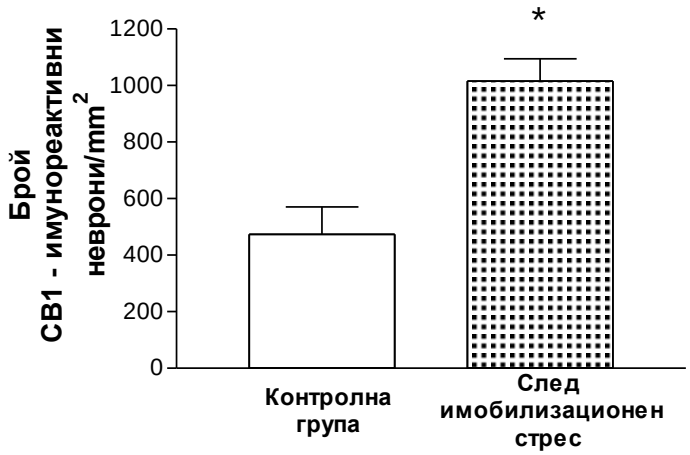
За да проследим промените в гъстотата на CB1 рецепторите след остър имобилизационен стрес, проведохме имунохистохимично изследване на една от малко изучените структури, участваща в десцедентните невро-анатомични пътища, модулиращи болката, каквато е медиалната префронтална кора (Фигура 25).

Резултатите от имунохистохимично изследване показват специфично разположение на CB1-имунореактивни неврони в отделните слоеве на медиалната PFC (Фигура 27), както при контролните животни, така и при тези изложени на остър имобилизационен стрес, като тяхната гъстота е по-голяма в дълбоките слоеве на кората. CB1 рецептори се появяват като точки върху аксоните, сомата и дендритите на невроните (Фигура 28), което предполага, че тези рецептори са или основно свързани с клетъчните органели или формират клъстери върху клетъчната

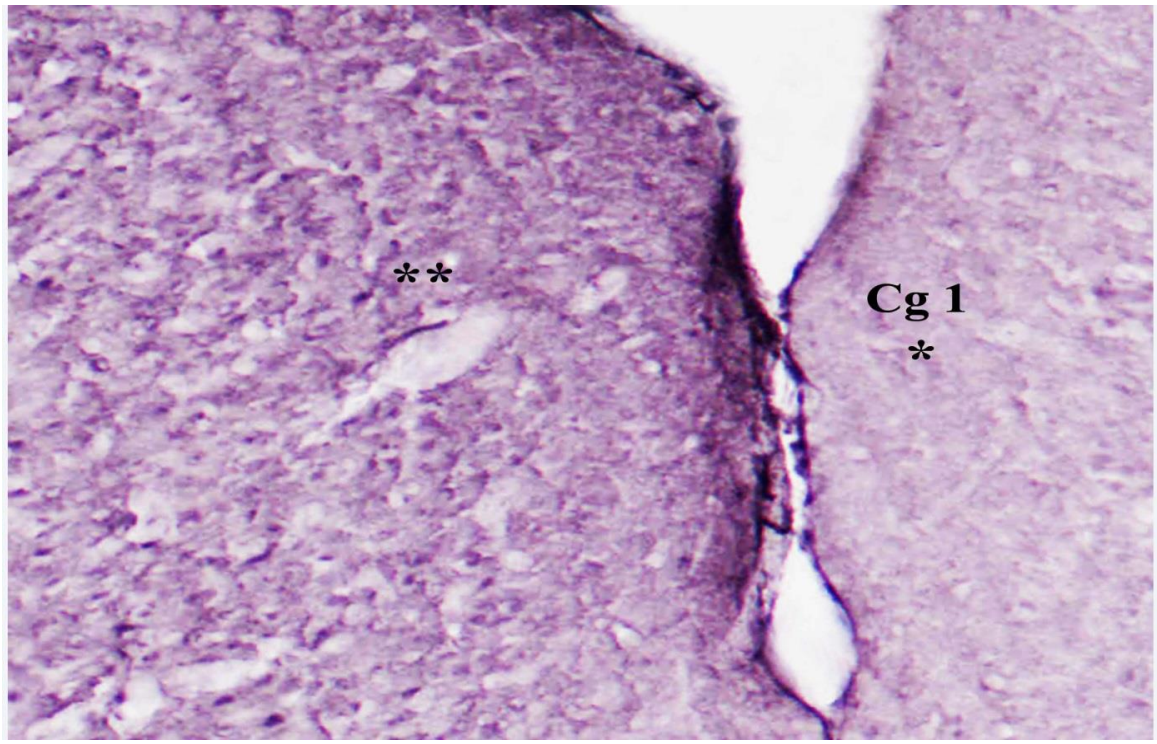
мембрана. При това морфометрично изследване, установихме и значителна разлика в гъстотата на CB1-имунопозитивните неврони в mPFC между контролните животни и тези подложени на остър имобилизационен стрес, т.е. плътността на CB1 рецепторите след остър стрес е по-голяма ($p<0.05$) (Фигура 26).



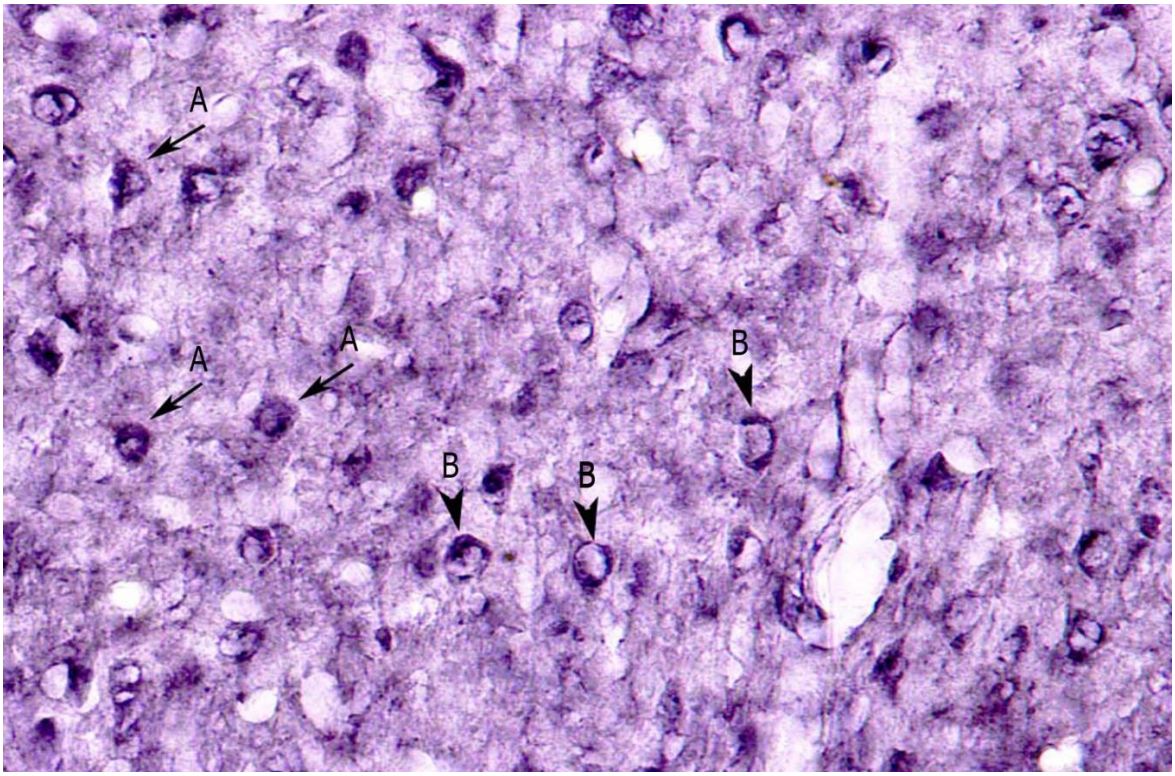
Фигура 25. *Диаграма на cingulate (Cg1), prelimbic (PrL) и infralimbic (IL) подслоеве, анализирани в медиалния префронтален кортекс.*



Фигура 26. *Средна плътност на CB1-имунореактивните неврони в mPFC при контролна група (без стрес) и при група след остър имобилизационен стрес. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с контролната група. (Mann-Whitney U тест).*



Фигура 27. *CB1-имунопозитивни неврони, локализирани в дълбоките (**) и повърхностните (*) слоеве на медиалната префронтална кора, х 20.*



Фигура 28. *CB1-имунопозитивни неврони, локализирани в дълбоките слоеве на медиалната префронтална кора. CB1 рецепторите са разположени върху сомата и дендритите на невроните (A) или като клъстери върху клетъчната мембрана (B), x 40.*

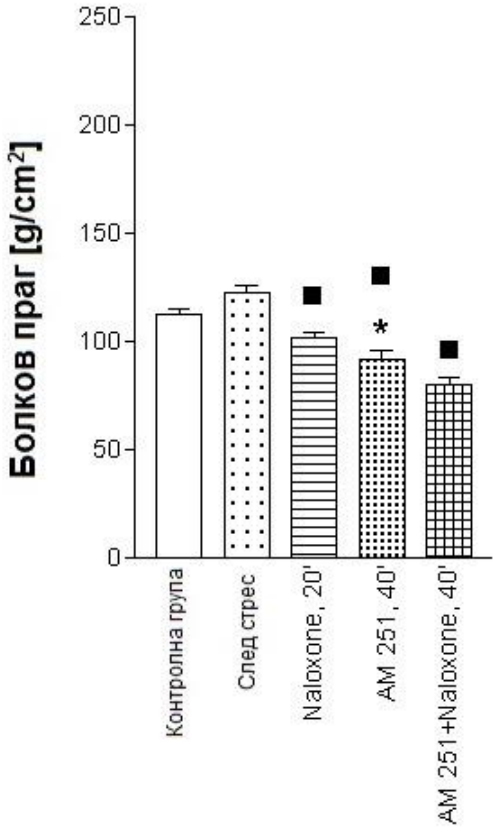
Въпреки, увеличението в броя на CB1 рецепторите в префронталния кортекс, изследването на ноцицептивните прагове с термичен и механичен стимул при плъхове, не показа изразена ендоканабиноидна модулация на болковата перцепция. Това вероятно се дължи на предположението, че тази структура участва предимно в субективната оценка на болковия стимул и може би има по-голяма роля при изследване на болковия толеранс, а не при проследяване на промени при болкови прагове след остър имобилизационен стрес.

6.2.1.3. Ефекти на блокери на опиоидните и канабиноидните рецептори при хроничен имобилизационен стрес

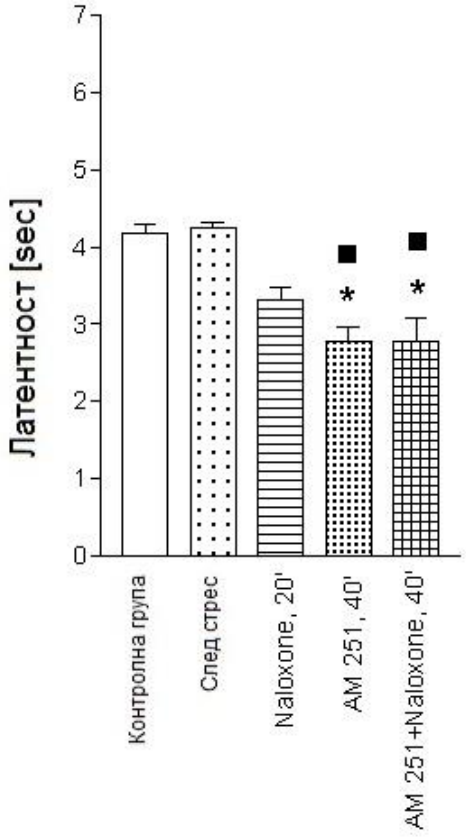
За оценка влиянието на опиоидите и канабиноидите върху антиноцицепцията при хроничен имобилизационен стрес, проведохме експериментална сесия с дизайн, подобен на този при остър имобилизационен стрес, с i.p. въвеждане на неселективен опиоиден рецепторен блокер – налоксон и CB1 рецепторен антагонист – AM251, като животните се обездвижваха за 3 часа дневно, в продължение на 4 дни. Двете вещества се прилагаха, в концентрации 2 mg/kg и 1.25 mg/kg, съответно.

Стойностите на болковия праг при въвеждане на AM251 се понижиха статистически достоверно ($p<0.05$) спрямо тези веднага след края на хроничната имобилизация, с 33.4 ± 4.1 %, а при комбинирано въвеждане на двете субстанции с 38.1 ± 5.4 %. Понижението на болковия праг с 12.4 ± 3.2 % при инжектирането на налоксон не беше статистически достоверно (Фигура 29А; Таблица 13).

В стойностите на латентността също се наблюдаваше понижение ($p<0.05$) след въвеждането на блокерите. При AM251, то е с 39.5 ± 5.2 %, докато при комбинирано въвеждане беше с 25.2 ± 4.8 %. Понижението с 18.9 ± 3.2 % след инжектиране на опиоидния рецепторен блокер не беше статистически значимо (Фигура 29В; Таблица 13).



Фигура 29А. *Промени в болковия праг при механичен стимул, преди, веднага след хронична имобилизация и след i.p. въвеждане на опиоиден и/или канабиноиден рецепторен блокер.*Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с контролната група (преди имобилизация); ■Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите след имобилизационния стрес. (Kruskal-Wallis, последвана от Dunns's тест).*



Фигура 29В. *Промени в болковия праг при термичен стимул, преди, веднага след хронична имобилизация и след i.p. въвеждане на опиоиден и/или канабиноиден рецепторен блокер*Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с контролната група (преди имобилизация); ■Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите след имобилизационния стрес. (Kruskal-Wallis, последвана от Dunns's тест).*

Резултатите показват, че при хроничен или повтарящ се имобилизационен стрес се индуцират слаби хипоалгезични ефекти, при които модулацията на болковите прагове се медиира предимно от ендогенните CB1 рецептори, като антиноцицептивните ефекти на канабиноидите и опиоидите са по-изразени срещу механични стимули в сравнение с термичните дразнители. Взаимодействие между ендоканабиноидна и опиоидна система може да се допусне само по отношение на механичната болкова модалност.

Таблица 13. *Ефекти на опиоиден и канабиноиден антагонист върху болков праг след хронична имобилизация [%].*

Антагонист	**Понижение на болков праг след *хронична* имобилизация[%]**	
	Механичен болков праг	**Латентност**
Налоксон 2.0 mg/kg	12.4 ± 3.2	18.9 ± 3.2
AM251 1.25 mg/kg	33.4 ± 4.1*	39.5 ± 5.2*
Налоксон (2.0 mg/kg) и AM251(1.25 mg/kg)	38.1 ± 5.4*	25.2 ± 4.77*

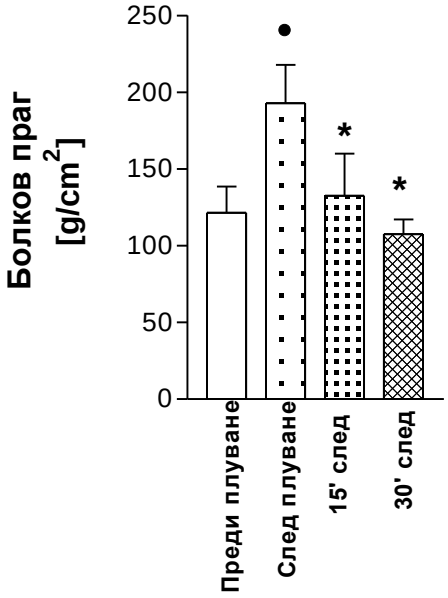
При сравнение на резултатите от антиноцицептивната модулация при остър и хроничен имобилизационен стрес може да се направят следните изводи:

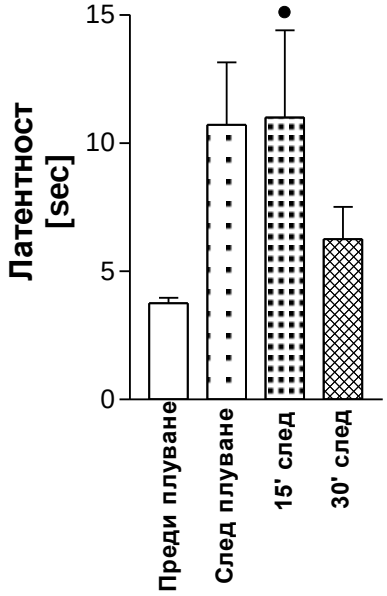
- модулацията на механичните болкови стимули в сравнение с термичните, е по-добре изразена както при острия, така и при хроничния стрес;
- вероятно е двете изследвани от нас модулиращи ноцицепцията системи, да взаимодействат помежду си и при двата вида индуциран стрес;
- ефектите на опиоидната система са по-силно изразени при остра имобилизация, докато канабиноидните модулации превалират при хроничен имобилизационен стрес.

6.2.2. Резултати от изследвания при плуване

Базална ноцицепция. За да изследваме участието на ендогенната опиоидна и канабиноидна система при модулацията на хипоалгезията след физическо натоварване проведохме две експериментални сесии за оценка на антиноцицептивната модулация: едната - при еднократно плуване, а другата при десетдневно плуване на плъхове.

Проведохме предварителна експериментална серия, за оценка на хипоалгезията при действие на механичен и термичен ноцицептивен стимул след плуване и проследихме нейната продължителност. Тези резултати са представени на Фигура 30А и Фигура 30В.





Фигура 30А. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг преди, веднага след, 15 min след и 30 min след еднократно плуване. * Статистически значима разлика (p<0.01) при сравнение със стойностите веднага след плуване. ● Статистически значима разлика (p<0.01) при сравнение със стойностите веднага преди плуване. (One-way ANOVA, Tukey's тест).*

Фигура 30В. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност преди, веднага след, 15 min след и 30 min след еднократно плуване. ● Статистически значима разлика (p<0.05) при сравнение със стойностите веднага преди плуване. (One-way ANOVA, Tukey's тест).*

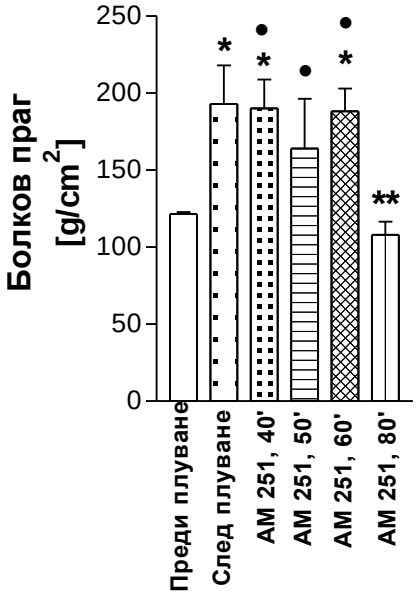
Резултатите показват, че плуването води до изразен хипоалгезичен ефект който е с продължителност до 30 min, както по отношение на механичен болков стимул ($p<0.01$), така и при термичен ($p<0.05$). Повишението при болковия праг е от 122.8 ± 14.7 g/cm^2 преди, на 192.8 ± 17.1 g/cm^2 веднага след плуването. Повишението при латентността е от 3.9 ± 0.3 sec, на 10.7 ± 1.9 sec, съответно, т.е. при механична стимулация повишението на болковия праг е с 50 ± 3.5 %, а при термични болкови стимули с 174.4 ± 8.2 %.

6.2.2.1. Ефекти на блокери на опиоидни и канабиноидни рецептори при остър стрес

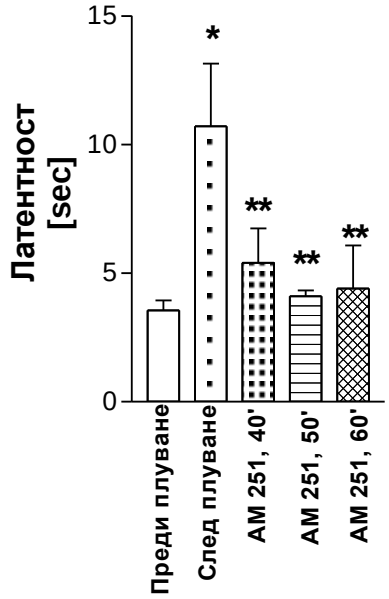
Ефекти на CB1-рецепторен антагонист – AM251

При инжектиране на 0.1 ml, 1.25 mg/kg AM251-блокер на CB1 рецепторите, веднага след края на плуването се наблюдава временна хипоалгезия при механични стимули, която продължава 60 min след инжектиране на субстанцията. Има статистически значима разлика в стойностите на болковия праг на 40-та, 50-та и 60-та min, в сравнение с тези, измерени на 80-та min от въвеждането му. Те са 190 ± 8.2 g/cm^2,. 164.3 ± 14.4 g/cm^2, 188.1 ± 6.6 g/cm^2 и 108.2 ± 12.3 g/cm^2, съответно (Фигура 31A). Тъй като понижението в болковите прагове при i.p. инжектиране на CB1 рецепторния антагонист е налице 80 min след въвеждането на AM251, именно тази стойност е взета за сравнение на резултатите от инжектирането на налоксон и едновременното инжектиране на двата блокера.

Стойностите на латентността са понижени ($p<0.01$) на 40-та, 50-та и 60-та min от въвеждането на CB1 рецепторния блокер спрямо стойностите след плуване, т.е. хипоалгезичната модулация след инжектиране на AM251 липсва при термичен болков стимул (Фигура 31B; Таблица 14).



Фигура 31A. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг преди, веднага след плуване, 40, 50, 60 и 80 min след i.p.въвеждане на 1.25mg/kg AM251. *Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите преди плуване. ● Статистически значима разлика ($p<0.01$) при сравнение със стойностите 80 min след въвеждане на AM251; **Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите веднага след плуване. (Tukey's тест).*



Фигура 31B. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност преди, веднага след плуване, 40-, 50-, 60- и 80 min след i.p.въвеждане на 1.25 mg/kg AM251. *Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите преди плуване. **Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите веднага след плуване.(One-way ANOVA, тест).*

Таблица 14. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на механичен болков праг (PP - праг; g/cm^2) и латентност (HP - латентност; sec) преди, веднага след плуването, 40-,50-, 60- и 80 min след въвеждането на AM 251 (1.25 mg/kg, 0.1 ml i.p).*

			След въвеждане на AM251			
	Преди плуване	**Веднага след**	**40 min**	**50 min**	**60 min**	**80 min**
PP –праг (g/cm^2)	122.8 ± 7.2	192.8 ± 9.4	190± 8.4	164± 14.4	188± 6.6	108.0± 9.1
HP – латентност (sec)	3.9± 0.3	10.7± 0.9	5.4± 0.6	4.1± 0.3	4.4± 0.7	4.3± 0.4

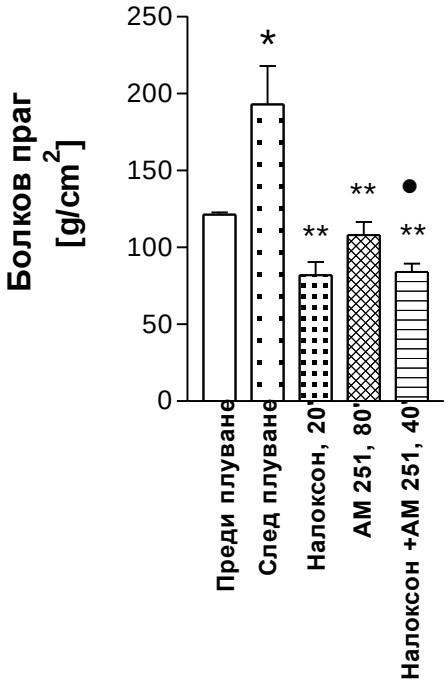
Опиоидна и канабиноидна модулация на болков праг и латентност при остър стрес

Стойностите на болковия праг се понижават статистически достоверно ($p<0.01$) след въвеждане на налоксон, с 57.0 ± 5.3 % на 80-та min от въвеждането на AM251, болковия праг се понижава с 43.6 ±11.3 %, а при инжектиране на двете субстанции понижението е с 56.4 ± 5.6 %, спрямо тези след плуване (Фигура 32A). Понижението в стойностите на латентността е с 66.4 ± 4.6 % при въвеждане на неселективен опиоиден рецепторен антагонист, с 60.6 ± 7.2 % , 40 min след инжектиране на AM251 и с 57.9 ± 8.1 % при едновременно въвеждане на двата антагониста. (Фигура 32B; Таблица 15).

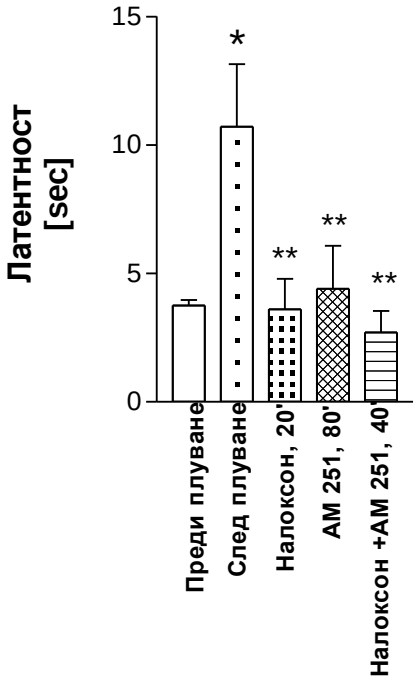
Резултатите показват, че антиноцицептивният ефект след остро плуване се модулира предимно от опиоидната ендогенна система при механични болкови стимули, докато в модулацията на термични алгогенни стимули участват и ендоканабиноиди.

Таблица 15. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на механичен болков праг (PP – праг; g/cm^2) и термичен болков праг (HP-латентност; sec) преди, веднага след плуването, 20 min след въвеждането на налоксон (2 mg/kg), 80 min след въвеждане на AM251 (1.25 mg/kg) и 40 min след въвеждането на комбинацията от двете вещества.*

	Преди плуване	**След плуване**	**20 min след въвеждане на налоксон**	**80 min след въвеждане на AM 251**	**40 min след въвеждане на AM 251 + налоксон**
PP –праг (g/cm^2)	122.8± 7.8	192.8± 12.9	82.0 ±10.1	108.0± 9.1	84.0± 7.6
HP – латентност (sec)	3.9± 0.3	10.7± 0.9	3.6± 0.5	4.3± 0.4	4.5±0.6



Фигура 32А. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг преди, веднага след плуване, 20 min след инжектиране на 2 mg/kg налоксон, 80 min след въвеждане на 1.25 mg/kg AM251 и 40 min след едновременното въвеждане на двете вещества. *Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите преди плуване. ●Статистически значима разлика (p<0.01) при сравнение със стойностите 80 min след въвеждане на AM251; **Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите веднага след плуване. (One-way ANOVA, Tukey's тест).*



Фигура 32В. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност преди, веднага след плуване, 20 min след инжектиране на 2 mg/kg налоксон, 80 min след въвеждане на 1.25mg/kg AM251 и 40 min след едновременното въвеждане на двете вещества. *Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите преди плуване. **Статистически значима разлика (p<0.05) при сравнение със стойностите веднага след плуване.(One-way ANOVA, Tukey's тест).*

6.2.2.2. Ефектите на блокери на опиоидни и канабиноидни рецептори при хроничен стрес

Базална ноцицепция. В Таблица 16 са проследени промените в PP-прага и HP-латентността преди плуването (първия ден), стойностите на двата параметъра веднага след края на плуването (десети ден) и 15 min след края на последното плуване. Резултатите показват увеличение ($p<0.01$) на стойностите на PP-прага на десетия ден веднага след плуването с 128.9 ± 8.9 %, докато 15 min след края на последното плуване, увеличението е с 43.3 ± 10.1 %. При HP-латентността повишението е статистически недостоверно ($p>0.05$).

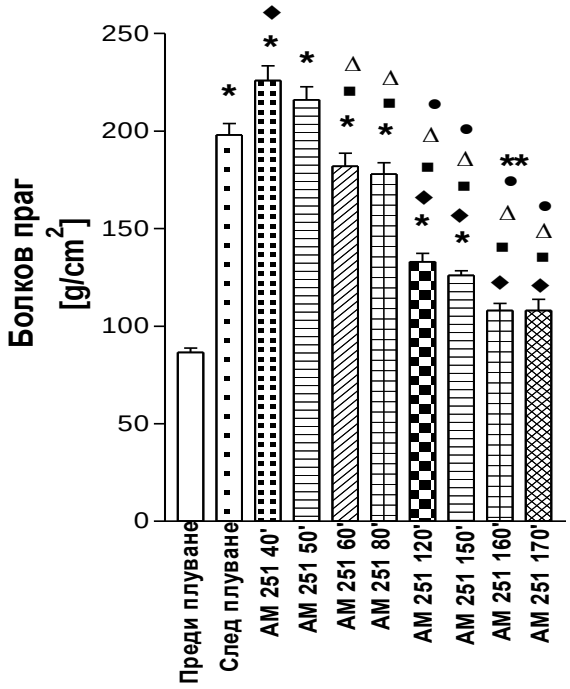
Таблица 16. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на механичен болков праг (PP-праг; g/cm^2) и латентност (HP-латентност; sec), преди плуване (в началото на експеримента), веднага след плуването на десетия ден (края на експеримента) и 15 min след края на последното плуване.*

	Преди плуване	**Веднага след плуване (десети ден)**	**15 min след последното плуването**
PP –праг (g/cm^2)	86.5 ± 9.7	198.0 ± 13.0*	124.0 ± 11.5*
HP – латентност (sec)	3.8 ± 0.7	4.0 ± 0.7	3.3 ± 0.9

*Статистически достоверна разлика (p<0.01) в сравнение със стойностите преди плуване (Wilcoxon тест).

Ефекти на CB 1-рецепторен антагонист – AM251

Подобно на резултатите от остро плуване, и при хроничното е налице повишение в стойностите на болковия праг след въвеждане на CB1 рецепторния блокер.



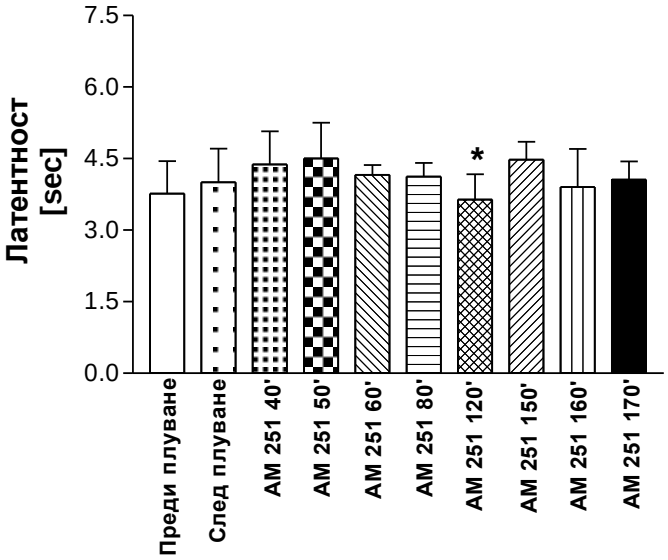
Фигура 33А. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг преди, веднага след плуване, 40-, 50-, 60-, 80-, 120-, 150-, 160- и 170- min след i.p.въвеждане на 1.25 mg/kg AM251. *Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите преди плуване.* ♦*Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите след плуване.* ▪*Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите 40 min след въвеждане на AM251.*

▲*Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите 60 min след въвеждане на AM251;* ●*Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите 80 min след въвеждане на AM251; **Статистически значима разлика (p<0.001) при сравнение със стойностите 120 min след въвеждане на AM251. (One-way ANOVA, Tukey's тест).*

Това повишение е статистически достоверно (p<0.001) при сравняване на стойностите веднага след плуване и на 40-та min след инжектиране на AM251, т.е. въвеждането на CB1 рецепторен блокер потенциира хипоалгезичния ефект на десетдневното плуване. След 80-та

min след края на плуването, PP-прагът постепенно се понижава, като на 160-та min е 108.0 ± 8.4 g/cm^2, докато на 80-та min е 226.0 ± 16.7 g/cm^2 (Фигура 33A).

Стойностите на латентността не се различават статистически достоверно, нито при сравнение преди и след хроничното плуване, нито при проследяване на стойностите във времето. Статистически достоверно ($p<0.05$) е само понижението на латентността, определена 120 min след въвеждане на AM251, при сравнение с латентността след плуване (Фигура 33B).



Фигура 33B. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност преди, веднага след плуване, 40-, 50-, 60-, 80-, 120-, 150-, 160- и 170 min след i.p. въвеждане на 1.25mg/kg AM251. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение със стойностите след плуване.(One-way ANOVA, Tukey's тест).*

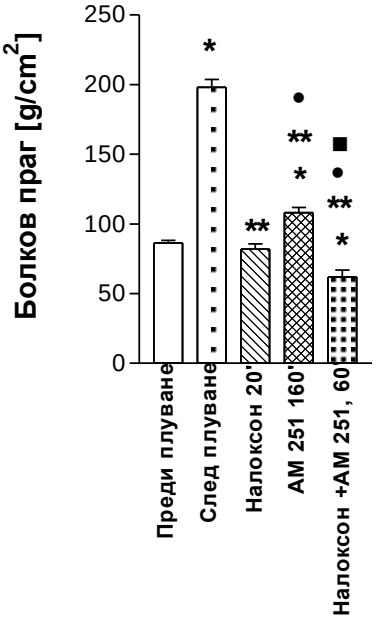
Опиоидна и канабиноидна модулация на болков праг и латентност след хронично плуване

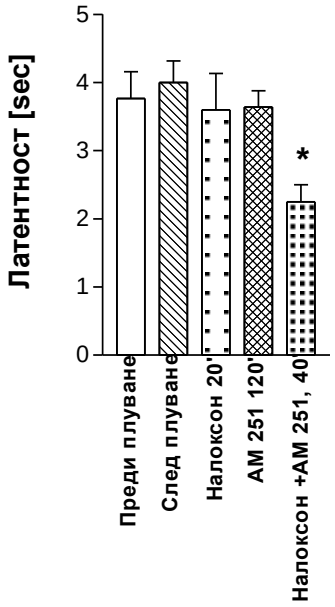
На Фигура 34A и Таблица 17 са представени данните от изследване на промените в болковия праг след въвеждане на налоксон, AM251 и комбинацията от налоксон и AM251. Поради продължителната хипоалгезия след въвеждане на канабиноидния блокер, при сравняване на стойностите между отделните вещества е взета тази на 160-та min след въвеждането му.

Статистически достоверно ($p<0.001$) е понижението на болковия праг спрямо стойността му след плуване при въвеждане на налоксон, AM251 и при едновременното въвеждане на двата блокера, като стойностите се съответно 198.0 ± 13.0 g/cm^2, 82.0 ± 8.4 g/cm^2, 108.0± 8.4 g/cm^2 и 80.0 ± 8.4 g/cm^2. Най-силно е изразено понижението след инжектиране на налоксон и комбинацията от двата антагониста, с 57.0 ± 7.6 % и 56.4 ± 5.8 %, съответно. Резултатите показват, че вероятно опиоидите участват в по-голяма степен при модулация на механичните болкови стимули, в сравнение с канабиноидите. Налице е обаче и антиноцицептивно потенциране между двете системи, тъй като има статистически достоверна разлика ($p<0.05$) между стойностите на болковия праг: – след въвеждане на

налоксон (82.0 ± 8.4 g/cm^2), след въвеждане на AM251 (108.0 ± 8.4 g/cm^2) и при едновременно въвеждане на двата блокера (80.0 ± 8.4 g/cm^2) (Фигура 34A; Таблица 17).

При изследване на промените в болковите параметри, при термичен стимул се установи, че хроничното плуване не повлиява съществено на продължителността на латентността. Статистически достоверно ($p<0.05$) е само понижението на латентността след едновременното инжектиране на AM251 и налоксон, спрямо тази след плуване, 4.0 ± 0.7 sec и 2.3 ± 0.3 sec, съответно. Вероятно, при модулация на ноцицепцията при хронично плуване е налице силно изразен синергичен ефект на взаимодействие между ЕОС и ЕКС (Фигура 34B; Таблица 17).





Фигура 34A. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг преди, веднага след плуване, 20 min след инжектиране на 2mg/kg налоксон, 160 min след въвеждане на 1.25 mg/kg AM251 и 60 min след едновременното въвеждане на двата блокера. *Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите преди плуване. ●Статистически значима разлика ($p<0.01$) при сравнение със стойностите след въвеждане на 2 mg/kg налоксон. **Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите веднага след плуване.▪Статистически значима разлика ($p<0.01$) при сравнение със стойностите след въвеждане 1.25 mg/kg AM251. One-way ANOVA, Tukey's тест.*

Фигура 34B. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на латентност преди, веднага след плуване, 20 min след инжектиране на 2 mg/kg налоксон, 120 min след въвеждане на 1.25 mg/kg AM251 и 40 min след едновременното въвеждане на двата блокера. *Статистически значима разлика ($p<0.001$) при сравнение със стойностите след плуване. One-way ANOVA, Tukey's тест.*

Таблица 17. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD), на механичен болков праг (PP - праг; g/cm^2) и латентноост (HP - латентност; sec) преди плуване (в началото на експеримента), веднага след плуването на десетия ден (края на експеримента), 40 min, 50 min, 60 min, 80 min, 120 min, 150 min, 160 min, 170 min след въвеждане на 1.25 mg/kg AM 251.*

			Време след въвеждане на AM251							
	Преди плуване	**След плуване**	**40 min**	**50 min**	**60 min**	**80 min**	**120 min**	**150 min**	**160 min**	**170 min**
PP-праг (g/cm^2)	86.5 ± 4.7	198.0 ± 13.0	226.0 ± 16.7	216.0 ± 15.2	182.0 ± 14.8	178.0 ± 13.0	133.0 ± 9.7	126.0 ± 5.5	108.0 ± 8.4	108.0 ± 13.0
HP-латентност (sec)	3.8 ± 0.7	4.0 ± 0.7	4.4 ± 0.7	4.5 ± 0.8	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.3	3.6 ± 0.4	4.5 ± 0.4	3.9 ± 0.8	4.1 ± 0.4

6.3. Изследване на хипералгезия при ексцентрични мускулни съкращения – мускулна треска (DOMS)

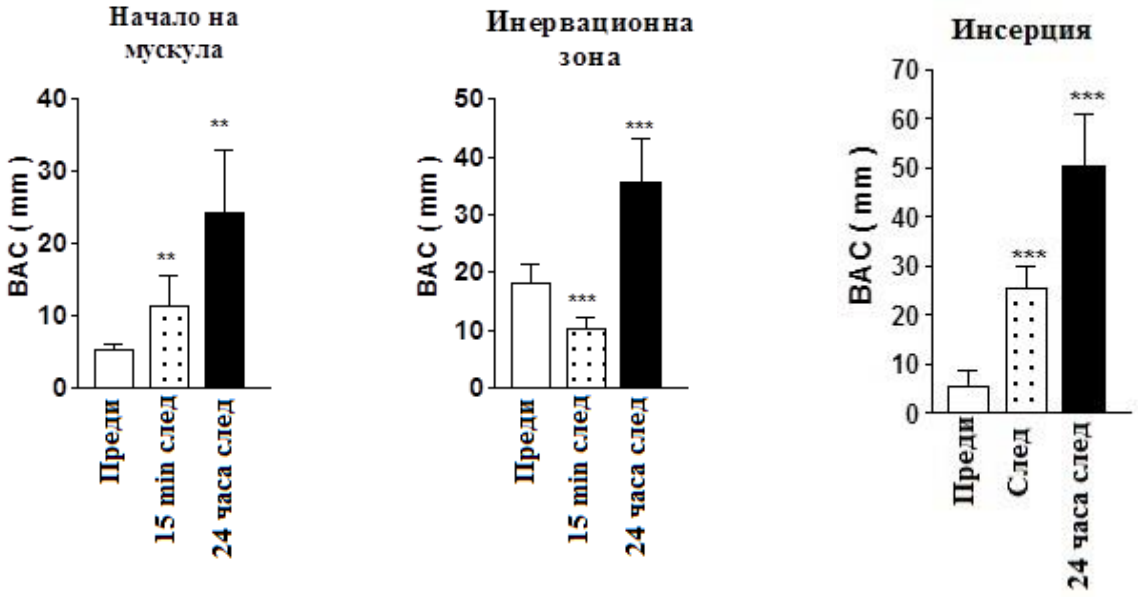
В този раздел са представени различни модели на забавена мускулна болезненост (DOMS), при които се наблюдава понижение на болковия праг след физическо натоварване Тези модели на мускулна болка могат да бъдат използвани както за проследяване на микроувреди и биохимични маркери в натоварените мускули/мускулни групи, така и за проследяване на действието на техники за преодоляване на мускулната треска.

6.3.1. При флексори на мишницата с тежест

При приложения от нас модел, индуцирахме мускулна болезненост с тежест от 5 kg при екстензия в лакътната става от 90° до 0° (по посока на гравитацията) за 15 min. Веднага след натоварването, изследваните лица имаха силно изразена мускулна слабост както в мишницата, така и в предмишницата и китката. Към мускулите, участващи във флексията на предмишницата се отнасят m. biceps brachii, m. brachoiradialis, m. brachialis и отчасти m. pronator teres, но болковите параметри са определени в областта на основния флексор на предмишницата – m. biceps brachii. За оценка на болкови параметри използвахме два лесно достъпни и широко прилагани техники – палпация и турникетова техника с апарат за кръвно налягане.

На Фигура 35 са представени резултати от оценка на болкова чувствителност по ВАС, при палпация след ексцентрични мускулни съкращение на флесорите на лакътната става.

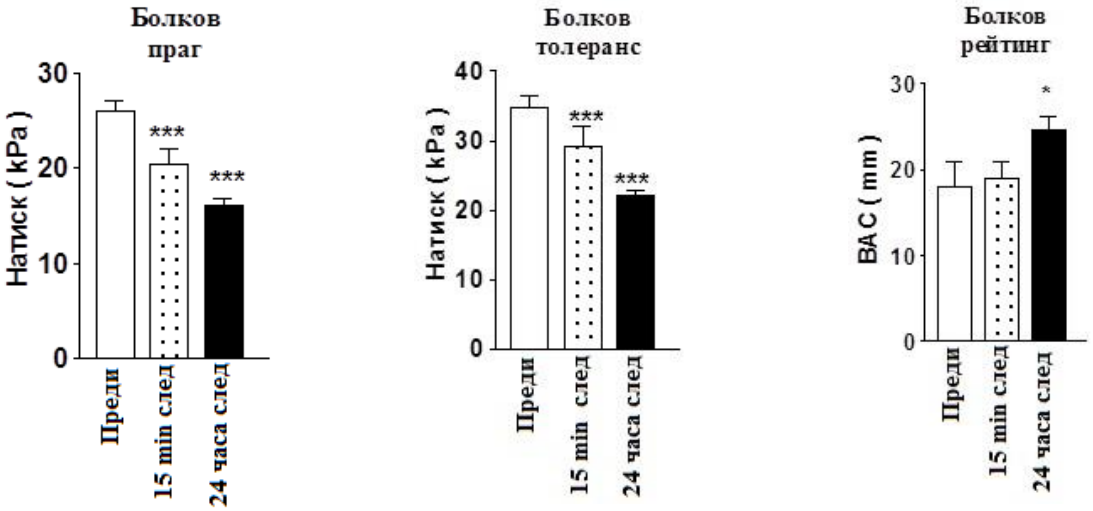
Промените в болковия рейтинг (Фигура 36) са най- силно изразени 24 часа след натоварването, като повишението на рейтинга е най-голямо ($p<0.001$) в инсерцията на мускул biceps brachii (27.2 ± 12.5 mm). Вероятно увредите в тази област са най-големи, което е логично от биомеханична гледна точка.



Фигура 35. *Експериментална болка ($\overline{X}$ ±SD; mm) по визуално-аналогова скала (ВАС) при палпация в началото, инервационна зона и инсерцията на biceps brachii, преди и след ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя. Статистически достоверна разлика спрямо групата преди натоварване при* ***$p<0.001$ *и* **$p<0.01$. *(Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*

Налице е увеличение в стойностите на ВАС, т.е. хипералгезия (Фигура 35). Болковото усещане (т.е. ВАС) в областта на инервационната зона, се увеличава 24 часа след натоварването с около 50 %. Болковият праг и болковият толеранс (критерий за издръжливостта към болка) се понижават ($p<0.001$), което е по-изразено също 24 часа след ексцентричното натоварване (Фигура 36).

За да характеризираме промените при този опростен модел на мускулна треска проследихме промените 15 min и 24 часа след натоварване в следните параметри: обиколката на мишницата, обемът на движение в лакътната става, изометричнта сила на флексорите на пръстите, артериално кръвно налягане и артериален пулс (Таблица 18).



Фигура 36. *Притискане на m. biceps brachii с турникет ($\overline{X}$ ±SD; kPa) за оценка на болков праг, болков толеранс и болков рейтинг (стимул = RRd+50 mm Hg; по BAC визуално-аналогова скала, $\overline{X}$ ±SD в mm), преди и след ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя. Статистически достоверна разлика спрямо групата преди натоварване при* ********* *p<0.001 и* *******p<0.05. (Kruskal-Wallis ANOVA, последвана от Dunns's тест).*

Таблица 18. *Сравнение на антропометрични данни (Δ mm и Δ°), максимална изометрична сила (ръчна динамометрия), пулс и артериално кръвно налягане (mm Hg) преди и след (15 min или 24 часа) ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя.*

Параметри	Преди натоварване	След натоварване	
		15 min	24 часа
Обиколка на мишница (Δ mm):			
флексия	0	9.2 ± 3.2	9.3 ± 2.8
екстензия	0	9.1 ± 2.6	8.9 ± 3.0
Обем на движение в лакътна става (Δ°):			
флексия	0	- 4.5 ± 1.9	- 4.6 ± 2.7
екстензия	0	0	0
Максимална изометрична сила (% преди)	100	89.5 ± 17.8	90.0 ± 11.5
Пулс (уд./min)	70.4 ± 7.1	110.2 ±10.5	73.0 ± 7.1
Артериално кръвно налягане (mm Hg):			
систолично	125.8 ± 12	127.0 ± 11	130.2 ± 12
диастолично	83. 8 ± 8	84.6 ± 7	82.4 ± 8

6.3.2. При флексори на мишницата с изокинетичен динамометър

С протокола за генериране на DOMS, описан в точка 5.4.2. бяха проследени силови параметрите при ексцентрично и концентрично натоварване на флексорите на лакътя при 10 серии от 6 повторения. Данните за всяка серия, представени в Таблица 19 се отнасят до: - осредната (от 6-те повторения в протокола) максимална сила на флексорите при ексцентричното или концентричното изокинетично съкращение; - осредната (от 6-те повторения) мощност; и - общата работа, сумирана за 6-те повторения. При ексцентричната

фаза са представени и данните за времето, необходимо за генериране на DOMS. Представените данни се отнасят за един характерен случай, а не за осреднени стойности за всички изследвани лица, защото ексцентричното натоварването е строго индивидуално за всяко лице, но при всички лица процентът от максималния волеви изометричен торг (който е индивидуален) е 86 %, което стандартизира натоварването. В сравнителен аспект са представени и данните за силовите параметри по време на концентричната фаза на флексорите, която не може да се избегне, но целта на протокола е да бъде с минимална мощност, което се постига с малка скорост на движение от 10°/s. Не се наблюдаваха съществени различия в характера на промените при изследваните лица, което ни позволява да анализираме отделен случай.

Таблица 19. *Осреднени стойности* за максималната сила на флексорите при ексцентрично и концентрично изокинетично съкращение за 6-те контракции от всяка серия при изследвано лице с шифър 05. Силата на флексорите при ексцентричното изокинетично съкращение е в обема от 90° до 0°, със скорост 60°/s, а при концентричното е 0° до 90°, със скорост 10°/s. Максималният изометричен пиков торг на лицето е 65 Nm.*

Параметри	**Стойности за всяка от 10-те серии по 6 контракции**									
Флексори на лакътя при ексцентрично съкращение от 90° до 0° със скорост 60°/s										
Пиков торг (Nm)	56	55	49	56	48	51	61	41	59	59
Време за достигане на пиковия торг (msec)	520	450	200	120	550	490	190	100	470	310
Работа (J)	296	259	235	228	256	161	80	148	186	251
Мощност (W)	34	27	26	27	28	25	19	23	29	30
Флексори на лакътя при концентрично съкращение от 0° до 90° със скорост 10°/s										
Пиков торг (Nm)	39	37	50	49	49	32	42	38	49	38
Работа (J)	182	168	115	125	139	119	139	137	115	86
Мощност (W)	3.2	2.9	1.7	2.1	1.8	2.0	2.1	2.4	1.9	1.3

***Не са представени стандартни отклонения, защото в разпечатката на протокола от изследването с динамометричната система Biodex, те са осреднени и се представят като "average".*

Представените резултати показват, че:

- силата не се променя съществено по време на натоварването, което означава че не настъпва умора;
- времето за достигане на максимален торг в хода на натоварването не се увеличава, което също говори, че по време на натоварването не настъпва умора и респективно

натоварването е ефективно, тоест удължаващите съкращения могат да се поддържат достатъчно дълго;

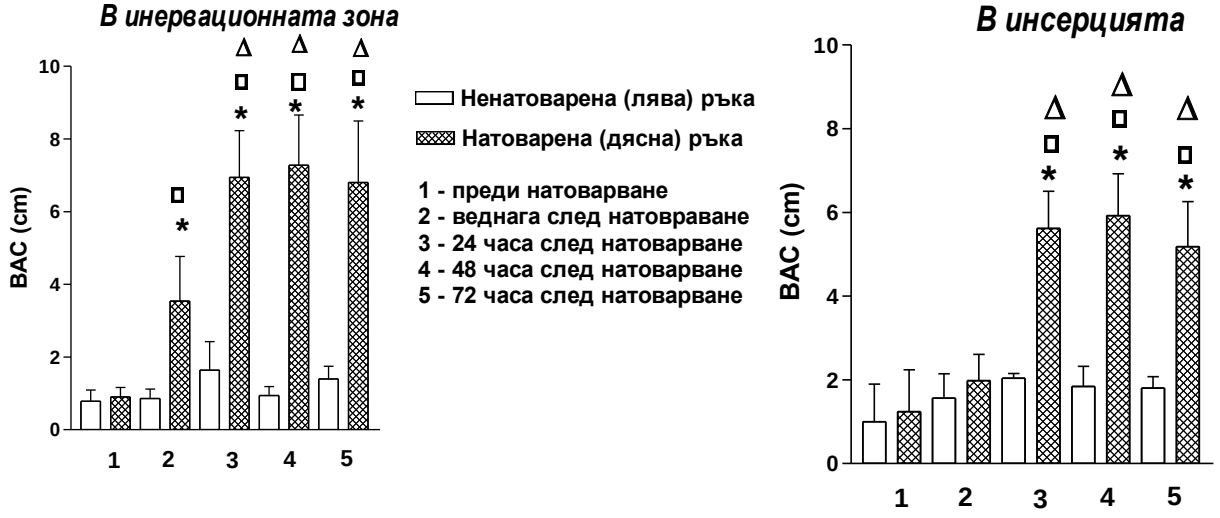
- работата, която се извършва при ексцентричното натоварване е значително по-голяма от тази при концентричното;
- мощността на ексцентричната фаза е между 10 до 20 пъти по-голяма от тази на концентричната. Видно е, че целите на протокола за минимизиране на концентричния режим и преобладаване на ексцентричния, като работа и мощност, са постигнати, без да се генерира умора или понижение на силата. Това показва, че чрез изокинетичен динамометър могат да се прилагат стандартизирани модели за генериране на DOMS, които са възпроизводими, а силовите параметри са индивидуални и могат да се дозират.

Оценка на болкова перцепция и болков праг след натоварване.

Болковият праг при този модел на DOMS беше измерен с алгометър Somedic в различни точки на m. biceps brachii (инсерция, инервационна зона, caput longum и caput breve). Това позволи да се изследват хипералгезичните ефекти, индуцирани при режим на натоварване, в който преобладават ексцентрични мускулни съкращения. За оценка на болковата сетивност в инервационната зона и в областта на инсерцията, беше приложена палпация, а оценката беше скалирана с ВАС. Основните цели при тази серия експерименти бяха:

- да се сравни болковата сетивност при палпация в натоварената и ненатоварената ръка;
- да се прецени ефективността на един протокол за генериране на DOMS чрез натоварване с точно определени прецизни параметри на торг и брой повторения в серия, стандартизирани с изокинетичен динамометър;
- да се проследи нивото и продължителността на хипералгезията във времето;
- да се сравнят болковите прагове в различни места на изследвания мускул.

На Фигура 37 са представени сравнителните данни за болковата сетивност, оценени чрез палпация и ВАС в инервационната зона и инсерцията на m. biceps brachii между ненатоварената лява ръка и дясната ръка, която беше подложена на стандартизиран протокол за натоварване с изокинетичен динамометър при преобладаващи ексцентрични мускулни съкращения.



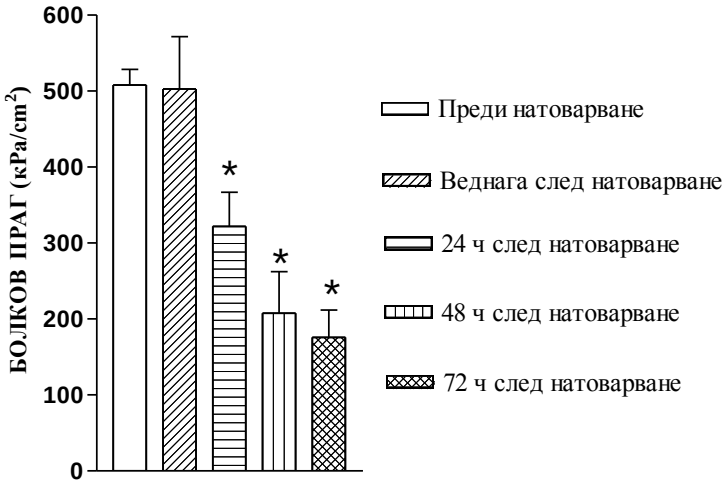
Фигура 37. *Промени в болковата перцепция в инсерцията и в инервационната зона на biceps brachii, измерени при механична стимулация с палпация чрез визуално-аналогова скала (BAC) преди и след (веднага след и след 24-, 48- и 72 часа) ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя. *Статистически значими различия ($p<0.05$) в сравнение със стойностите на ненатоварената ръка; □ Статистически значими различия ($p<0.05$) в сравнение със стойностите преди- или преди- и веднага след натоварване на дясната ръка; ΔСтатистически значими различия ($p<0.05$) в сравнение със стойностите преди и веднага след натоварване (ANOVA и Tukey post тест).*

От представените данни за промените в болковата перцепция в инсерцията и в инервационната зона на biceps brachii вследствие на приложения от нас модифициран модел за генериране на DOMS, могат да се посочат следните тенденции:

(1) веднага след натоварването болката при палпация в инсерцията и в инервационната зона се повишава, в сравнение с тази на ненатоварената ръка и с усета преди натоварване на двете ръце, но статистически достоверно е повишението само в инервационната зона. Следователно в инсерцията тя е сходна с болковата перцепция преди натоварване и отговаря на определението за забавено начало, защото се проявява 24 часа след натоварването;

(2) Манифестирана хипералгезия, регистрирана при палпация в инсерцията и в инервационната зона ($p<0.05$), се наблюдава на 24-ия, 48-ия и 72-ия час в сравнение с тази преди натоварване на двете ръце, а в областта на инервационната зона тя е повишена и веднага след натоварване. Няма достоверни разлики в хипералгезичните ефекти на 24-ия, 48-ия и 72-ия час, тоест всички стойности са достоверно по-ниски от стойностите, измерени веднага след натоварването и преди натоварването.

Тези резултати показват, че приложеният модел на DOMS е надежден. Тази динамика е типична за забавено начало на мускулна болезненост, генерирана от ексцентрично натоварване. Хипералгезията има достатъчен интензитет и поне 3 дневна продължителност.



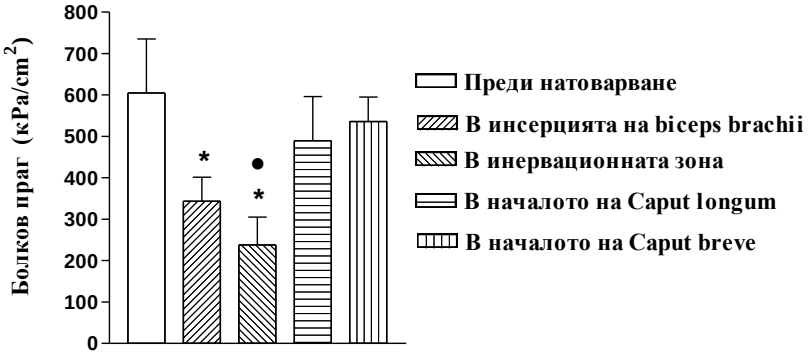
Фигура 38. *Промените в болковите прагове (в kPa/cm^2), измерени **в инсерцията** на biceps brachii преди и след ексцентрично натоварване на флексорите с алгометър Somedic на лакътя (ANOVA и Tukey post тест). *Статистически значими различия ($p<0.05$) в сравнение със стойностите веднага след натоварване.*

Поради по-субективния характер на измерването с палпация, което ни дава основание за един по-общ анализ на болковата перцепция, паралелно сравнихме промените в болковите прагове (в kPa/cm^2), измерени **в инсерцията** на biceps brachii преди и след ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя. Както бе пояснено, експерименталната болка се инициира при механична стимулация с алгометър Somedic, но проследяването обхващаше период от 72 часа, а началното измерване се провеждаше веднага след ексцентричното натоварване. От получените резултати, представени на Фигура 38 може да се заключи, че:

- болковият праг, измерен веднага след натоварването, не се различава от този преди натоварването. Следователно базалната ноцицепция не се променя веднага след натоварването, а се „забавя“, което съответства на предполагаемия механизъм за генериране на DOMS;
- болковите прагове намаляват статистически достоверно ($p<0.05$) и наблюдаваната хипералгезия, с размер от около 200 kPa/cm^2, е манифестирана в целия тридневен период на проследяването на болковите прагове;
- няма достоверни разлики в хипералгезичните ефекти на 24-ия, 48-ия и 72-ия час, тоест всички стойности са достоверно по-ниски от стойностите измерени веднага след натоварването и/или преди натоварването. Тези данни показват, че приложеният модел на ексцентрично натоварване генерира DOMS с характерна симптоматика и има продължителност от поне 3 дни.

Локализацията на болката, при целенасочено провеждане на натоварване с преобладаващи удължаващи съкращения на определени мускулни групи, има информативност по отношение на евентуалния механизъм на хипералгезията, индуцирана при ексцентрично натоварване. В тази връзка резултатите от измерванията на болковия праг показаха, че най-манифестирани са хипералгезичните ефекти в инсерцията и в инервационната зона, при това

противно на очакванията и литературните данни, понижението в инервационната зона на болковия праг е максимално ($p<0.05$). Липсваше достоверно понижаване на стойностите на болковите прагове в началото на двете глави на m. biceps brachii, което от биомеханична гледна точка е логично и показва, че механичното теглене и респективно повлияване в началото на скелетния мускул при разтягащи упражнения е минимално. От друга страна местата върху които се упражнява най-голямо въздействие са инсерцията и инервационната зона (Фигура 39).



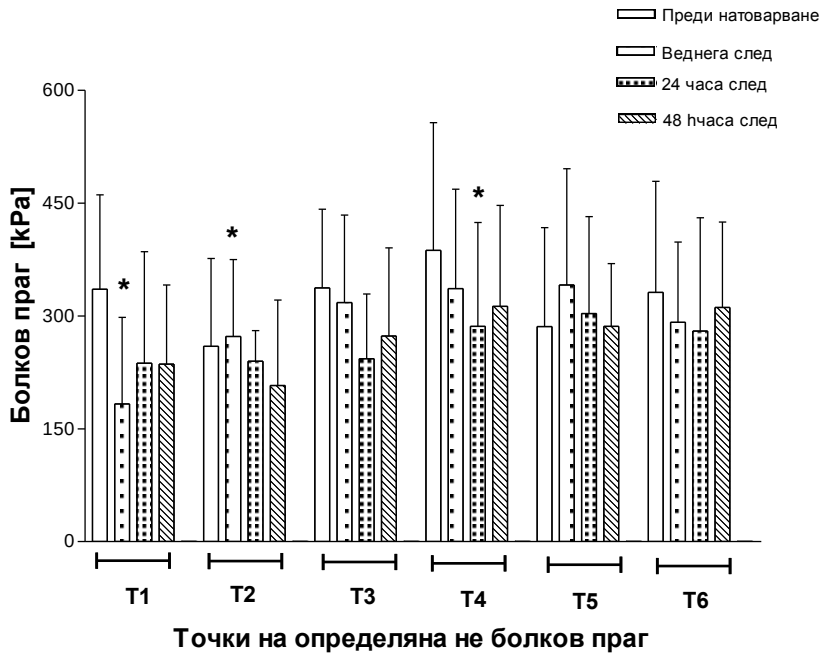
Фигура 39. *Хипералгезични ефекти (DOMS), предизвикани с ексцентрично натоварване на флексорите на лакътя с изокинетичен динамометър Biodex и измерени чрез оценка на болкови прагове на 48-ия час след натоварването, с алгометър Somedic в инсерцията, инервационната зона и началото на дългата глава (caput longum) и късата глава (caput breve) на m. biceps brachii. Стойностите преди натоварване са осреднени от измервания върху всички измерени места. * Статистически достоверна разлика в сравнение с осреднения праг преди натоварване. • Статистически достоверна разлика, в сравнение с всички други измервани зони (ANOVA и Tukey post тест).*

6.3.3. При мускул flexor digitorum profundus

Изследването е проведено в Център за изследване на болката (Pain Research Centre) към Leeds Metropolitan University (UK), във връзка с докторантско обучение по проект на МОН.

Всички участници в изследването имаха болка в недоминантната ръка веднага след натоварването оценка на болката по ВАС беше 33.0 ± 25.1 mm в покой и 31.3 ± 16.2 mm при флексия на показалеца без съпротивление.

24 часа след натоварване, всички изследвани лица имаха болка при флексия на „натоварения“ пръст при ВАС = 10.8 ± 14.7 mm, но само 3-ма от тях имаха мускулна болезненост в покой (27.7 ± 24.1 mm). Освен в засегнатия пръст, мускулна болезненост се наблюдаваше и в палеца, дланта, китката, предмишницата, мишницата (областта на m. biceps brachii) и рамото. Болката беше описана като силна, продължителна, с усещане за тежест. Болковият праг, веднага след физическото усилие, беше значително по-нисък ($p<0.01$) в недоминантната ръка, 1 cm над medial epicondyle и 1 cm под medial epicondyle (в близост до залавните места на m. flexor digitorum profundus), докато 24 часа след натоварването хипералгезичните промени бяха най-изразени ($p<0.01$) в областта на „коремчето“ на m. flexor digitorum profundus (Фигура 40).



Точки на определяне на болков праг: T1 – 1 cm над medial epicondyle на мишничната кост; T 2 – 1 cm под medial epicondyle на мишничната кост; T 3 – латералното "коремче" на m. flexor digitorum profundus; T 4 – медиалното "коремче" на m. flexor digitorum profundus; T 5 – средната част на предмишницата (сухожилията на флексорите на пръстите); T 6 – 1 cm над procesus stiloideus radii.

Фигура 40. *Стойности ($\overline{X}$ ±SD) на болков праг, определен чрез ръчен алгометър, преди, веднага след натоварване с ръчен динамометър, 24 часа и 48 часа след натоварване с ръчен динамометър. *Статистически значима разлика ($p<0.05$) при сравнение с стойностите преди натоварване (Kruska-Wallis тест).*

7. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

В настоящата разработка изследвахме промените в болковата перцепция след различни по вид физически натоварвания – максимални и/или субмаксимални и физически усилия, с преобладаващи ексцентрични съкращения. За оценка на хипоалгезичните и хипералгезичните промени, преди и след натоварване, използвахме различни техники за оценка на дълбока механична болка (deep tissue pain).

За да изследваме опиоидните и канабиноидни механизми, повлияващи аналгезичните ефекти на физическото натоварване, проведохме и експериментални серии с животни и два модела на стрес-индуцирани реакции – имобилизация и плуване.

А. Изследвания с хора

Хипоалгезични ефекти след физическо натоварване

Базална ноцицепция. Стойностите на болковия праг и болковия толеранс, оценени с компютъризирана система за пресорна алгометрия и ръчен алгометър на левия крак, показват статистически достоверна разлика ($p<0.05$) с десния, като доминантният крак (десния) има по-високи стойности. Подобна зависимост е доказана при прилагане на други изследователски техники (McMillan, 1995; Polianskis et al., 2002), като се предполага, че това е адаптационен механизъм за повишаване на издръжливост и трениране на по-натоварения крайник или по-често упражнявания. Нещо повече, нашите резултати показват, че латералната глава на GS има по-високи стойности на болковия праг. Трудно обаче може да се направи извод, че именно тя е по-натоварена при ходене и друга физическа активност, тъй като в литературата съществуват противоречиви данни за активността на двете глави на прасцевия мускул при ходене и/или спортни занимания. Riemann et al. (2011) изследват ЕМГ активността на латерална и медиалната глава, като получените резултатите показват по-голяма активност на медиалната при външна ротация на ходилото, а при вътрешна ротация в глезена – при латералната глава., т.е. активността на GS зависи от позицията на ходилото. При изометрични съкращения при плантарна флексия, Fiebert et al. (2000) докладват за по-голяма активност на медиалната глава, като различията между ЕМГ активността са по-изразени при по-малки съпротивления на натоварването. Polianskis et al. (2001) показват също по-ниски стойности на болковия праг за латералната глава на мускула, което обясняват със структурни особености ню тази част на мускула и позицията на n. sural cutaneous lateralis. Тези различия могат да се дължат също така или на различната позиция на подбедрицата при определянето на болковите прагове, което ще

доведе до различна активност на двете глави и това може да повлияе на чувствителността, или пък на структурни особености и в частност на това, че латералната глава е по-малка и по-плътно „лежи“ върху костите, т.е. осигурява се по-твърда „опора“ при определяне на прага. Това се потвърждава и от значително високите стойности на болковия праг на периосталната повърхност на tibia -та.

Когато се тестват различни точки на даден мускул с ръчен алгометър, трябва да се вземат предвид и някои възможни грешки при измерването. Например, понеже контролът върху степенната на увеличаване на налягането, повърхността и точното позициониране е много важен при ръчната алгометрия и тъй като скоростта на увеличаване на налягането се следи визуално, понякога поддържането на една и съща скорост в хода на изследването е затруднено.

Въпреки, че ръчната алгометрия е широко използвана като метод за оценка както на експериментален болков праг, така и на болков толеранс, но поради трудното поддържане на градиента на налягане по-продължително време и силните деформации, които оказва алгометъра върху кожата, ние използвахме алгометър само за оценка на механичен болков праг. Оценката на болковия толеранс с този апарат е трудно приложима поради малката повърхност на пробата, което може да доведе до различни странични неприятни усещания и последствия при опитните лица, а освен това не позволява поддържане на достатъчно продължителен натиск върху мускула, необходим за оценка на болков толеранс. Тестването е по-добре да бъде извършвано от един и същи изследовател.

Липсата на разлика между повторно измерените стойности на болковите параметри през 5 минутни интервали или на добра възпроизводимост, т.е. предварителното „размачкване“ на тъканите, не оказва влияние върху оценката на болковия стимул и е възможно да се дължи и на методична грешка при тестването, тъй като в литературата по-често се цитират резултати, в които повторните измервания водят до повишение на болковите параметри (Pfeiffer-Jensen et al., 1996). Въпреки това, непроменениият болков праг би могъл да се обясни с това, че тестването е направено с механичен дразнител, което не води до промяна в температурата на кожната област, а и тестването е с по-малка продължителност, което не води до силно изразени исхемични промени в дълбоките тъкани и кожата.

Оценката за влияние на градиента на налягане има отношение към времевата сумация на постсинаптичните потенциали при механични болкови стимули. Стойностите на болковия праг се повишават при увеличаване на градиента от 0.25 kPa/s до 0.50 kPa/s, но остават непроменени при 1.00 kPa/s, докато болковият толеранс се увеличава при по-високи стойности

на градиента. Резултатите са подобни на тези получени от McMillan et al. (1995) и Polianskis et al. (2001), т.е. адаптацията на периферните ноцицептори и дифузния инхибиторен контрол на алгогенния дразнител се предполага, че води до повишение на болковия толеранс на супраспинално ниво, докато изследвания с термичен дразнител, показват противоположни резултати (Svensson et al., 1998; Tillman et al., 1995; Yarnitsky et al.,1990).

Определянето на болкови прагове върху m. biceps brachii на лявата и дясната ръка в покой, не показа разлики между двете ръце, като резултатите са сходни с тези получени от Schaffner et al. (2008), само че при действие на топлинен дразнител. Това може да е свързано с приблизително еднаквата натовареност на двете мишници и ако има различие в механичните болкови прагове, то вероятно би било по-изразено върху дланите. Според Schaffner et al. (2008), обаче, разлика в болковия усет между двете ръце може да е индикация за предразположение за полиневропатия. Друго възможно предположение е, че праговете на двете ръце имат сравнително еднакви стойности, но толерансът към болковия стимул (не е определян в настоящето изследване) е различен в зависимост от доминантността (Pud et al., 2009), т.е. доминантният крайник има по-голяма толерантност към болка, защото е по-упражняван.

Ноцицепция след физическо натоварване

По литературни данни (Koltyn et al, 2002, Slater et al., 2010), субмаксималните и максималните натоварвания водят до повишени стойности на болковия праг и болковия толеранс и понижение на болковия рейтинг до един час след натоварването, а при системно трениращи, хипоалгезичните промените в болковата перцепция са налице и в покой. Предполага се, че причините за това са:

- промяна в субективната оценка спрямо болковия стимул на изследваните лица, системно трениращи („no pain, no gain“) и изложени на травми и с повишени енергийни и метаболитни изисквания на организма;
- повишени нива на ендогенните опиоиди и канабиоиди;
- промени в активността на хормони и невромодулатори, свързани с адаптацията към повишените изисквания на организма и модулацията на ноцицепцията;
- промени в сетивността и сърдечно-съдовите и респираторни показатели.

Резултатите от нашите изследвания показват, че максималния тест до отказ индуцира промяна в болковата перцепция, която е свързана с повишени нива на болковия праг и болковия толеранс и понижени стойности на болковия рейтинг. Тези резултати са сходни с

литературни данни от натоварвани със субмаксимален и максимален характер (Droste et al., 1991, Drury et al., 2005), т.е натоварвания с интензивност между 65 и 80 % от максималната кислородна консумация.

Динамиката в хипоалгезията беше проследена и при същите изследвани лица, но при различен тест за индиректна оценка на аеробен капацитет – *тест на Купър*. Данните показват, че въпреки сравнително продължителното (7-12 min) физическото усилие, е налице повишение на болковия праг до 15 min след натоварването. Хипоалгезичните промени засягат, както „работещата мускулатура“ така и „неработещата“, т.е. и кратките аеробни натоварвания водят до различна степен на аналгезия. Това съвпада с литературните данни, според които само по-продължителните и с по-висока мощност натоварвания, водят до силно изразена аналгезия (Koltyn et al., 2006; Naugle et al., 2012). Механизмите, отговорни за тази ХИФН, обаче остават дискусионни. Някои автори предполагат, че усилената проприорецептивната аферентация „задръства“ и пречи на ноцицептивната аферентация и това е причина за настъпващото „обезболяване“ (Hoffman et al., 2004; O'Connor & Cook, 1999). Тази хипотеза е свързана с „контрола на врата“ („gate – control“), като според нея нервната система обработва първо информацията, предавана по аферентите с по-голям диаметър (пренасят финната тактилна и проприрецептивната сетивност), за сметка на тази предавана по аферентите с по-малък диаметър, които пренасят информация от дълбоки механични, термични и болкови стимули (Porth, 2004). Следователно мощната проприорецептивна аферентация при физическо натоварване е сигнал, който има приоритет и това е биологически целесъобразно, защото осигурява контрола на дължината и напрежението в мускулите, което е изключително важно за локомоцията. Тези сигнали вървят по нервните влакна с голям диаметър и пренасят информация чрез пътя на задните снопове Lemniscus medialis (пътища на Гол и Бурдах). Според други автори, причина за ХИФН е повишаване в стойностите на артериалното кръвно налягане, тъй като има изследвания, които доказват, връзка между модулация в ноцицепцията и сърдечно-съдовата система (Randich & Maixner, 1984 и Kotlyn et al. 2006), като предполагаемите механизми са повишено стимулиране на барорецепторите, макар че голяма част от резултатите не потвърждават тази хипотеза (Drury et al., 2005). В нашите изследвания не проследяваме тази корелация, но и не потвърждаваме връзката между промените в болковите параметри и повишените стойности на кръвното налягане, тъй като ноцицептивният праг, рейтинг и болков толеранс, са определяни 15 min след натоварване, при нормализиране на сърдечно - съдовите показатели.

Друг механизъм, който се предполага, че участва пряко в модулацията на болковата перцепция е освобождаването на различни невромодулатори и хормони по време на физическото натоварване като моноамини, катехоламини, соматотропен хормон, АКТХ и глюкокортикоиди, а също и ендогенни опиоиди и канабиноиди.

Резултатите, от нашето изследване показват, че мускулатурата, която участва пряко в изпълнение на физическото усилие („работещата“) има по-силно изразена хипоалгезия, т.е. повишението в болковия праг е по-силно изразено върху прасцевия мускул при сравнение с промяната на прага, определян върху m. biceps brachii. Данните, подобни на получените от Henriksen et al. (2013), показват, че въпреки, че хипоалгезия е повсеместна (засяга цялото тяло), тя е най-изразена в активно работещата мускулатура. Аналгезията е налице, както в „работещата“ мускулатура, така и в „неработещата“, т.е. и кратките аеробни натоварвания (като тест на Купър) водят до различна степен на антиноцицептивни ефекти.

И след натоварването латералната глава на мускул GS има по-висок праг от медиалната, което може да се дължи, както на по-голямото натоварване при велоергометричен тест, така и на по-високите стойност при покой, т.е. модулация на базална ноцицепция. И двете глави на GS участват като при ходене, така и при различни типове натоварване на участващия мускул във флексия в коляното и в плантарната флексия на ходилото.

Въз основа на литературните данни и нашите изследвания, може да се напвави извода, че физическите натоварвания водя до силно изразни хипоалгезични промени, чиято продължителност зависи както от интезитета, така и от продължителността на физическото усилие. Причините за промяната в болковата перцепция, вероятно се дължът на различни фактори: като на приоритетната обработака на усилена сетивна информация от соматосензорните рецептори, промяна в терморегулацията и синтез и секреция на различни хормони и невромодулатори. Хипоалгезичните промени засягат цялото тяло, но са най- силно изразена в мускулатурата пряко участваща във физическите упражнения.

Корелация ниво на хипоалгезия и изокинетична мускулна сила

Мускулната сила е показател не само за състоянието на мускулите/мускулните групи, но отразява и функционалните възможности на цялото тяло. Тъй като тя може да бъде модулирана от различни ендогенни системи, за някои от тях се смята, че участват в модулация на болковата перцепция. В литературата основно се изследва промяната в нейните стойности при модели на хипералгезия и/или при различни мускулно - скелетни заболявания

(фибромиалгия, остеоартрит и др.). Така, че ние изследвахме корелационната зависимост между нивото на хипоалгезия и изокинетичната мускулна сила.

Установихме, че няма корелация между размера на хипоалгезията и силата на дорзалните флексори на ходилото на същия крак, но съществува умерена корелация между степента на ХИФН в латералната глава на GS и силата на плантарните флексори на ходилото. Силно изразена е връзката между хипоалгезичните промени и силата на флексорите на коляното, а при екстензорите корелацията е незначителна или колкото по-голяма е силата на даден мускул/мускулна група, толкова хипоалгезичните промени са по-изразени. Тези данни са подобни на скорошно изследване на Henriksen et al. (2013), който проследяват връзката между стойностите на болковия праг, определен върху m. vastus lateralis и силата на екстензорите на коляното, като установява, че по-малката болкова чувствителност е свързана с по-голяма изометрична сила. Не е открита обаче, подобна корелация при действието на химичен алгогенен дразнител (инжектиране на хипертоничен физиологичен разтвор), поради което се предполага, че при здрави лица мускулните функции се свързани с чувствителността към механични стимули. Изследване на Jespersen et al. (2007) доказват, че мускулната сила е свързана с ноцицептивната чувствителност в съседна област. Например, при пациенти с фибромиалгия, вероятно постепенното пространствено разпространение на сенситизацията и хипералгезията при мускулно - скелетната болка, е в резултат на минимално увреждане и води до значително намаляване на мускулната сила, а при здрави лица вероятно зависимостта е обратна. Това предположение все още не е доказано като механизъм.

Алтернативна хипотеза за корелацията между мускулната сила и хипоалгезията, може да се търси във възможността на ноцицепторите да реагират на механична стимулация. Някои автори предполагат, че голямо по сила налягане води до същите интрамускулни биомеханични деформации, като тези при мускули, осъществяващи мощно съкращение, в сравнение с тези с по-малки съкратителни възможности (Finocchietti et al., 2011).

Данните получени при нашето изследване предполагат, че при хора, които системно се натоварват и системно активират ендогенната опиоидна и канабиноидна система, имат адаптационни изменения, вероятно централни и периферни, които променят базалната ноцицепция. Това води до по-манифестирана хипоалгезия при натоварване, по-голяма издръжливост и модулация на централния драйв от моторната кора, а това предизвиква генериране на по-голяма мускулната сила.

Сравнение на хипоалгезични промени между тренирани и нетренирани

В литературата има редица изследвания (Smith, 2004; Spector et al., 1996; Tajet-Foxell&Rose, 1995) относно разликите в болковата перцепция между тренирани или лица, които имат редовна двигателна активност (поне два пъти седмично) и нетренирани, имащи двигателна активност по-малко от два пъти седмично. Според различните автори, разликите между двете групи са, както по отношение на болковия праг, така и по отношение на прагът на болковия толеранс. Редица изследвания проследяват ефекта на еднократно физическо усилие върху болковата перцепция, но сравнително малко са тези които анализират адаптационните причини за аналгезията при системно физическо натоварване (Geisser et al., 2008).

В проведената от нас експериментална сесия, изследвахме разликите в следните болкови параметри: болков праг, праг на болковия толеранс и болков рейтинг, оценени чрез палпация и пресорна алгометрия, преди и след максимален тест до отказ.

Болковият рейтинг, определен чрез палпация и чрез пресорна техника е по-нисък при танцьорите ($p< 0.05$) в сравнение с нетренираните, т.е. тренираните имат нисък праг на болковата чувствителност в сравнение с нетренираните. Танцьорите имаха, също така, по-високи стойности на силната поносима и непоносима болка (болков толеранс), както в покой, така и след натоварването, но разлика между болковите прагове на двете изследвани групи, преди и след физическото усилие, не беше установена. Данните са сходни с публикуваните Wetterslev et al. (2008), които доказват, че стойностите на болковия праг при професионалните спортисти, показват голяма вариабилност и не може да бъде категорично потвърдено, че имат по-високи стойности от тези при нетренираните. Предполагаме, че именно болковият толеранс при системно натоварващи се хора е значително по-голям, докато стойностите на болковия праг са близки с тези при нетренираните (Nicholls et al., 2007; Ord & Gijsbers, 2003). По-високите стойности на толеранса вероятно се дължат на факта, че оценката на болковия праг е доста субективна и по-скоро зависи от генетични фактори, докато той може да бъде модулиран от различни психо-физиолологични и психични фактори (Quiton & Greenspan, 2008; Harkins & Price, 2001; Chen et. al.,1989). Така например, уменията за справяне и самодисциплинираността значително корелират със стойностите на ноцицептивния толеранс (Motl et al., 2007). От друга страна, атлетите и професионалните танцьори са изложени на постоянни/ежедневни дискомфортни сетивни преживявания и високата физическа и психологическа устойчивост са особено важни по време на изтощителни тренировки, репетиции, спортни състезания и концерти. Тази хипотеза обяснява и нашите данни за по-ниски стойности на болковия рейтинг

при танцьорите. Според Tesarz et al. (2012) тази хипотеза, обаче много трудно може да бъде потвърдена, тъй като не могат да бъдат оценени директно конкретни количествени параметри.

Възможна хипотеза, която може да обясни механизмите на антиноцицептивна модулация при системно трениращи, което потенциира повишения болков толеранс, е свързана с повишено освобождаване на ендогенни канабиноиди (Galdino et al., 2014) и опиоди (Пенчева и Божкова, 2004) в резултат на ФН. Установено е, че CB1 рецептори са разположени в зони на главния мозък, свързани с мотивацията, възнаграждението и спомените от предходно действали върху организма увреждащи стимули (личен опит), като префронталната кора, мезолимбичната система, цингуларния кортекс, амигдала (Tracey & Mantyh, 2007). Освен това, увеличение в експресията на CB1 рецептори е доказана, както при системно тренирани (Gomes da Silva et al., 2010; Hill et al., 2010), така и след еднократно физическо натоварване (Galdinoet al., 2014). В допълнение на това, повишена експресия а CB1 рецептори се наблюдава и в дорзолатералната и ветролатералнзата зона на PAG, която пък участва в модулацията на болковата перцепция, като по този начин се намалява инхибиторното влияние на ГАМКергичните неврони, които имат проекции върху „off-невроните“ на RVM (Vaughan et al., 2000). Съществува вероятност CB2 рецепторите също да участват в модулацията на ХИФН (Guindon et al., 2011; Alhouayek et al., 2011). Счита се, че те са разположени предимно върху имунните клетки – макрофаги, natural killers - клетки, моноцити и неутрофили (Di Marzo et al., 2004), и в по-малка степен се откриват на спинално и супрасипнално ниво (Onaivi et al., 2012), но е възможно техните антиноцицептивни ефекти да са локализирани в периферията. Например Mense (1993) предполага, че при уреда на мускулните фибри, се активират редица имунни клетки, а по този начин и CB2 рецептори, които от своя страна участват в „обезболяването“.

Предполага се също така, че CB1 и CB2 рецепторите участват в моторния контрол, тъй като са открити в базалните ганглии и малкият мозък, а и нивата на анандамид при системно трениращи са значително повишени (Sparling et al., 2003). CB1 рецептори се откриват и в хипоталамуса, като вероятно участват и в модулацията на терморегулацията по време на натоварване (Rawls & Benamar, 2011). Нещо повече, изследване на Keeney et al. (2008) предполага участието на ЕКС в регулация на аеробния капацитет, тъй като мишките, третирани с CB1 рецепторен антагонист, имат по-ниска скорост на бягане и по-малка дължина на пробяганото разстояние, а Dubreucq et al. (2013) докладват, че мишки без CB1 рецептори в ГАМКергичните неврони, имат по-малка аеробна издръжливост в сравнение в дивия тип, при бягане на колело. Доказано е участието на ЕК и при други важни физиологични процеси по

време да натоварване, като вазодилатация в мускулите, еуфория, бронходилатация и пр. (Dietrich, 2004).

Противоречиви са данните относно системно повишени нива на бета-ендорфин при тренирани (McGowan et al., 1993; Kapasi et al., 2001). Някои автори докладват за повишени нива в покой на бета - ендордина при лица с повишена двигателна активност (Kapasi et al., 2001; Farrell et al., 1982), а според други няма разлика в бета -ендорфиновите нива при спортисти (Lobstein & Rasmussen, 1991). При търсене на зависимост между концентрациите на опиоидите и нивото на аеробна работоспособност и /или стойности на лактатен праг, също не се наблюдава корелация (Goldfarb et al., 1991). Не може да бъде потвърдено предположението, че високата работоспособност и високия лактатен праг (каквито се регистрират при някои атлети), се обуславят и от високи нива на бета - ендорфин. Хроничното излагане на стрес при физически усилия, повлиява секрецията на хормони от предния дял на хипофизата. И въпреки, че теоретично може да се очаква повишено освобождаване на опиоиди, такова към момента не е доказано. Нещо повече, опиоидите са големи белтъчни молекули и трудно биха могли да преминат кръвно - мозъчната бариера, ако приемем, че по-високите стойности на болков толеранс се обуславят предимно от психогенната компонента, модулираща ноцицептивната реакция. В противоречие на това са твърденията на Urhausen (1993), че състоянията на претрениране и решението за прекратяването на системните физически занимания, се дължи на понижени нива на бета-ендорфина.

Тези литературни данни, предполагат значителното участие на ЕКС при адаптацията на организма към повишените изисквания на средата при системни физически натоварвания, тъй като ХИФН е само един аспект от т. нар. „runners high“. Повишените стойности на болковия толеранс могат бъдат обяснени, както с увеличения брой CB1 рецептори на супрасинално ниво (Dubreucq et al., 2013) – в структури на десцедентната инхибираща болката система и в тези, обуславящи мотивацията и промените във физиологичните промени на организма (повишена необходимост от кислород и енергетични субстрати) при високо интензивни натоварвания, така и на периферно ниво с участието на CB2 рецепторите и високите плазмени нива на анандамид.

Литературните данни до този момент и резултатите от нашите изследвания, дават основание да предположим, че ЕОС и повишеното освобождаване на опиоди след ФН е по-скоро механизъм, участващ в моделирането на болковия праг, на ниво базална ноцицепция, а вероятно и в някаква степен хипоалгезията след физическо натоварване. Вероятно, активирането на ЕКС, обуславя повишените стойности на болковия толеранс при

танцьорите/нетренирани, т.е. ЕК медиират болкова издръжливост, поради техните доказани психогенни ефекти и възможността им да преминават кръвно – мозъчната бариера поради липидната си природа.

Въпреки, че двата метода, които приложихме за оценка на болковите параметри, дават възможност за оценка, както на междугрупови ноцицептивни различия, така и на промени след физическо натоварване, трябва да се отбележат някои предимства и лимитиращи фактори, които да се имат предвид при използването им.

При прилагане на палпацията като метод за оценка на експериментална болка, трябва да се имат предвид следните факти: (1) палпацията е твърде субективен метод, както по отношение на стимулацията с приложения натиск, така и при отчитане с визуално - аналогови скали, но пък е лесно приложим и дава възпроизводими стойности на болкови параметри, ако се прави от един и същ изследовател, дори и със субективно дозиран натиск; (2) палпацията дава възможност и за оценка на болкови промени в отделни зони (части) на даден мускул или мускулна група; (3) лимитиращ фактор за приложението й е, че чрез нея могат да се оценяват предимно хипералгезични промени, т.е. състояния на повишена болезненост, включително след физическо усилие. Оценка на хипоалгезични промени, след субмаксимални и максимални аеробни натоварвания с палпация е трудно постижима, особено ако се изследват професионални състезатели, системно трениращи лица или танцьори (балетисти и пр.).

Турникетовата техника дава възможност за изследване на пространствената сумация на постсинаптични потенциали на болковия стимул и проследяване на хипоалгезични промени след физическо натоварване. Методът би могъл да се използва както за оценка на повишение в стойностите на болковия праг, така и за понижението им при тренирани и нетренирани. Тестването трябва да се извършва от един и същ изследовател, със сравнително постоянна скорост на нарастване на налягането (т.е. субективността в градиента на налягане да е минимална). Тази експериментална установка не е подходяща за оценка на праг на болковия толеранс при състезатели и системно трениращи лица, защото те обикновено имат по–високи стойности от 79.98 kPa (600 mmHg).

Опиоидна и канабиноидна модулация на ноцицепцията при стрес-индуцирани реакции – имобилизация и плуване

Добре известно е, съществуването на т.нар. десцедентна инхибираща болката система, която модулира ноцицептивни отговори. Механизмите, които опосредстват антиноцицепция

обаче, остават не напълно изяснени. Предполага се, че това се дължи на действието на две взаимосвързани и взаимодействащи си системи – опиоидна и неопиоидна (Butler & Finn, 2009).

В настоящето изследване за да проследи влиянието на ендогенна опиоидна и канабиноидна система бяха приложени два модела на имобилизиционен стрес – остър и хроничен (четиридневен) и два модела на физическо натоварване (плуване) – еднократно и десетдневно.

Имобилизационен стрес. Имобилизацията е много често прилагана като модел на стрес - индуцирана антиноцицепция (Goyal & Anil, 2007; Stevens et al., 1995). Неотдавана бе показано, че освен природата на стресора, от изключително голямо значение за активиране на механизмите – опиоидни и неопиоидни, обезпечаващи болковата инхибиция, е и продължителността на действие на дразнителя (Parikh et al., 2011). Ето защо в настоящето изследване беше направен опит да се отдеференецират ефектите на двете системи.

Първоначално проведохме експериментална серия, в която проследихме промените в базалната ноцицепция при интактни животни и установихме, че неселективният опиоиден рецепторен блокер - налоксон, води до по-силно изразено понижение на болковия праг от CB1 рецепторния антагонист, както при действието на механичен, така и при действие на топлинен алгогенен дразнител. Резултатите предполагат и взаимодействие от страна на двете системи при антиноцицептината модулация, дори и без излагане на конкретно стресово въздействие (т.е. при базалната ноцицепция), което се предполага и от Cheung et al. (2003).

При сравнение на стойностите при хроничната имобилизация се наблюдава макар и слабо изразен хипоалгезичен ефект. При сравнение на PP - праг след стреса, в отделните дни е налице тенденция към постепенно понижение на стойностите му и възстановяването им до нивото от преди стреса. При сравнение на стойностите на болковия праг преди имобилизационния стрес и стойностите му на четвъртия ден след имобилизацията, не установихме статистически достоверна разлика. Това вероятно, се дължи на постепенна адаптацията на плъховете към новите условия на средата и намаляване действието на стресовите фактори.

Латентността по време на четиридневния стрес също не се променя значително, нито преди и след стреса в отделните дни, нито при сравнение стойностите на латентността преди началото на хроничния стрес и тази в края на четвъртия ден. Данните дават основание да се предположи, че при хроничния имобилизационен стрес термичната болкова сетивност не се полвиява съществено при есперименталн животни. Наблюдава се бърза адаптация към

експерименталните условия при *hot plate тест* и оценката на латентността е затруднена/маскирана.

Rushen & Ladewig (1991) и Paul et al. (2002) отбелязват, че острият имобилизационен стрес води до силно изразена стрес - индуцирана антиноцицепция - PP - прагът и HP - латентността се увеличават след стрес със 75.1% и 38.8%, съответно. Опиоидната модулация е по-добре изразена и при действие на двата болкови дразнителя, но още по-значително е понижението в болковите параметри след едновременното въвеждане на опиоиден и канабиноиден рецепторен антагонист и прилагане на механичен дразнител, което подсказва за добре изразен синергичен ефект между двете модулиращи болката системи, като тези данни са в унисон с резултати на Butler et al. (2008) и Trezza & Vanderschuren (2008). В литературата данните са оскъдни относно взаимодействието на двете системи при имобилизационен стрес.

Превалиращото действие на ЕОС при острия стрес е известно в литературата (Akil et al., 1986; McNally & Akil, 2001). Множеството изследвания върху хора и животни предполагат, че основно ендорфините и енкефалините медиират СИА, като бета - ендорфинът опосредства промените в болковия праг, а енкефалините медиират болковия толеранс (Urca et al., 1983). В противоречие с това са някои литературни данни от имунохистохимични изследвания, които доказват намаляване на [Met-^{5}-] енкефалин подобната имунореактивност в PAG след имобилизация и бета - ендорфиноподобната имунореактивност в PAG след социален конфликт (Kulling et al., 1988, 1989). На базата на нашите данни предполагат участието и опиоидни рецептори в опосредстването на СИА, което съвпада с резултатите на Watkins et al. (1992). Както е известно, активирането на опиоидните рецептори води до промени в синтезата на ГАМК/глутамат в редица невронални структури, част от десцедентната болкова система, като PAG, RVM, таламус, амигдала и гръбначен мозък.

Данните от хроничния имобилизационен стрес показаха по-голямо участие на ЕКС при модулацията на аналгезия в сравнение с ЕОС, както при тестване с *hot plate* тест, така и при *paw pressure* тест. Тези данни са в съответствие с Patel et al. (2004), според които хроничният стрес води до увеличени нива на 2-AG в хипоталамуса, докато острият стрес обратно понижава таламусната му концентрация. Тези данни ни дават основание да предпложим, че именно концентрацията на канабиноиди регулира секрецията на АКТХ по време на стрес. Тъй като при хроничния стрес синтезата на 2-AG е по-висока, то секрецията на АКТХ е понижена и раздразнителността е по-малка, т.е. налице е постепенна адаптация към новите условия на средата и постепенното намаляване степента на СИА. Трябва да се отбележи, също че ЕК

участват и в базалната регулация на хипоталамо-хипофизно-адреналната ос (Cota et al., 2007), която е ключова при стрес и натоварване.

При модулация на болковата перцепция след стрес, трябва да се отбележи също, че ЕК и в частност анандамидът, повлияват секрецията на други ключови хормони при стрес, а именно - кортикостероиди и експресията на c-fos в paraventricular nucleus (Wenger et al., 1997). При остър стрес, секрецията на кортикостероиди намалява при въвеждане на CB1 агонист, докато след инжектиране на CB1 антагонист концентрацията на кортикостероиите се увеличава, заедно с увеличена експресия на и c-fos. Установената от нас, добре изразена антиноцицептивна модулация след хроничен имобилизационен стрес при действие на термичен алгогенен стимул, вероятно се дължи на повишение в нивата на другия подробно изучен ЕК -анандамид, за който има данни, че при по-високи стойности на концентрациите му може да взаимодейства и с TRPV1 рецептора, който пък от своя страна активира канабиноидните рецептори. Това предполага, че между тези два вида рецептори има функционална връзка, още повече като се вземе предвид и експресията им върху едни и същи клетки на спинално и супраспинално ниво (Ross, 2003; Di Marzo et al., 2002; Cristino et al., 2006).

От литературните данни и резултатите от нашите експерименти, може да се предположи, че освен в потенцирането на адаптацията към действието на даден стресор, CB1 вероятно участват активно в модулацията на болковата перцепция на супраспинално ниво, особено при по-продължителна имобилизация. За ноцицептивната модулация на спинално ниво засега се предполага, че ЕК участват предимно като медиатори, но не и като модулатори (Butler & Finn, 2009; Suplita et al., 2006). Синергичният ефект на взаимодействие на двете модулиращи болката системи също е налице и след четиридневния имобилизационен стрес, отново при по-силно изразено действие на механичен алгогенен стимул.

Сравнителният анализ на резултатите от антиноцицептивната модулация при остър и хроничен имобилизационен стрес, позволява да се направят следните изводи: (1) модулацията на механичните болкови стимули в сравнение с термичните, е по-добре изразена както при острия, така и при хроничния стрес; (2) двете изследвани от модулиращи ноцицепцията системи, вероятно взаимодействат помежду си и при двата вида индуциран стрес; (3) ефектите на опиоидната система са по-силно изразени при остра имобилизация; (4) ефектитет на ЕКС преобладават при хроничен имобилизационен стрес.

Имунохистохимично изследване на плътността на CB 1 рецептори

Според литературни данни (Seifert et al., 2007, Rainville, 2002), префронталният кортекс участва предимно при формиране на психичната компонента на болковия усет и вероятно по тази причина е сравнително малко изследвана структура при модулацията на ноцицептивните стимули, посредством активиране на ендоканабиноидната антиноцицептивна система. Редица изследвания, както при животни, така и при хора показват, че в обработката на болковата информация участват множество структури на мозъчната кора – първичната соматосензорна кора, вторичната соматосензорна кора, париеталния оперкулум, инсулата, предния цингуларен кортекс и префронаталния кортекс (Apkarian et al., 2005). Предполага се, че тези области участват във формирането на афективно - мотивационен компонент, който е свързан с емоции, възбуда и формиране на специфично поведение. Тази дихотомия, т.е. отделното разглеждане на сетивно- дискриминационни и психогенни компоненти, се оказва че не е достатъчна, за да се обясни функционалната значимост на ноцицептивните кортикална мрежи (Treede et al., 1999). Това не са основни структури, участващи в десцедентния контрол на болковата перцепция, но въпреки това, голяма част от тях се изследват при фармакологично-индуцирана аналгезия (Rogers et al., 2004; Wanger et al., 2007). Доказано е влиянието на тези корови представителства при изследвания на placebo аналгезията (Benetti et al., 2005; Haour, 2005), като се предполага, че тя се опосредства от активирането на μ-опиоидните рецептори. Wagner et al. (2007) докладват за понижена активност в основните „болкови“ области – таламус, инсула и предния цингуларен кортекс, но от друга страна активността на префронталния кортекс се увеличава при очакване за действие на болков стимул. Колкото по – голямо е увеличението на активността му, толкова степента на placebo -аналгезията е по-голяма. Нещо повече, активността в PAG също е повишена, т.е. може да се предположи, че тази част от кората може да действа като „тригер” при освобождаването на опиоиди в десцедентната антиноцицептивна модулация (Wagner, et al., 2007). Добре известно е, че функционалните промени в медиалния PFC участват при хроничен стрес (Cook & Wellman, 2004), а също така участват в модулацията на хронична болка (Melz et al, 2008; Baliki et al., 2006).

Тъй като в литературата има малко данни за ролята на PFC при остър стрес и експресията на CB1 рецепторите, проведохме две отделни групи изследвания – проследяване ефектът на ендогенните канабиноиди при модулация на СИА и имунохистохимично изследване за гъстотата на CB1 в контролни животни без имобилизационен стрес и след имобилизационен стрес.

Данните от първия експеримент показват, че ендоканабиноидите не повлияват съществено СИА, но вероятно взаимодействат с опиоидите по време на този вид „обезболяване“. Резултатите от имунохистохимичното изследване доказват наличие на специфично разположени CB1-имунореактивни неврони в отделните слоеве на медиалния PFC, както при интактни животни, така и при тези изложени на остър имобилизационен стрес. Тяхната гъстота е по-голяма в дълбоките слоеве на кората, като се експресират върху сомата, дендритите и аксоните на коровите неврони, но по-силно изразена е ($p<0.05$) плътността им след стрес. Данните от две експериментални сесии ни дават основание да предположим, че или префронталния кортекс непряко участва при промяната в болковата перцепция след остър имобилизационен стрес, или постстресовото увеличение на CB1 рецепторите се дължи на взаимодействието на този тип пецептори с ендогенната опиоидна система, като медиира освобождаването на опиоидни пептиди. Друго възможно обяснение е, че тази част от кората, тъй като участва предимно при формиране на психичната компонента на болковия усет (Seifert et al., 2007, Rainville, 2002), то увеличеният брой CB1 рецептори вероятно опосредства или болковия толеранс и /или адаптационни промени в организма след стрес.

Физическо натоварване – плуване

Плуването е широко прилаган модел, както на физическо натоварване при експериментални животни, така и като модел на стрес - индуцирана аналгезия (Koltyn, 2000). За да проследим механизмите на модулация на болковата перцепция при различна по продължителност стресова ситуация, приложихме два модела на физическо натоварване – еднократно (15 min) и хронично (десетдневно – по 15 min/ден).

Хипоалгезични ефекти на AM251 при плуване. При инжектиране на 1.25 mg/kg AM251, веднага след края на плуването се наблюдава временна хипоалгезия при *paw pressure* тест, която продължава 60 min след инжектиране на веществото при остър стрес и 120 min при десетдневното плуване и е статистически достоверна ($p<0.01$). Причините за това могат да са свързани с действието на AM251 и неговата концентрация (Savinainen et al., 2003). При по-ниски концентрации той действа като неутрален CB1 рецепторен антагонист, но при по-високи проявява и допълнителен ефект на CB1 рецепторен агонист (Ночева-Димитрова, 2013). Друго възможно обяснение е, че AM 251 при определени условия може да действа като антагонист на канабиноидния рецептор, тъй като е доказано наличието на алостеричен център не само в CB1

рецептора, но и възможност за алостерична регулация от страна на блокера, т.е. AM251 може да има обратен канабиноидмиметичен ефект при взаимодействие с рецепторния алостеричен център, за да забави скоростта, с която антагониста се дисоциира от CB1 рецептора (Price et al., 2004).

Остър и хроничен стрес чрез физическо натоварване (плуване). След острото плуване и инжектиране на неселективен рецепторен блокер-налоксон, PP - праг и HP - латентността се понижиха съществено, като по-голямо беше понижението при термичния болков стимул с 57.0 ± 5.3 % и 66.4 ± 4.6 %, съответно. Данните съвпадат с изследване на Parikh et al. (2011), които също показват силно изразена аналгезия след плуване, като правят уточнението, че най-голямо е повишението на болковите параметри 5 min след натоварването, след което техните стойности постепенно намаляват. Данните, от нашето изследване също потвърждават постепенното „отшумяване“ на „обезболяването“ до 30 min след стреса.

На базата на литературни данни (Marek et al., 1992 и Rubinstein et al., 1996) възникват предположения, че основен модулатор на антиноцицептивните промени е бета-ендорфина. Изследване на Parikh et al. (2011) за влиянието на различните типове опиоиди в зависимост от продължителността на плуване (3 min и 15 min) при тестване на различни генотипове мишки, показват, че антиноцицептивният отговор се дължи предимно на опиоидите. Ефектът на бета - ендорфина е най-силно изразен в началото на стреса, което потиска развитието на забавена постстресова хипералгезия (30 min след плуване). При изследване ролята на енкефалините при 15 минутното плуване, не се установява съществено увеличение в концентрацията след плуването. Въпреки, че Parikh et al. (2011) показват математически разлики в стойности на HP-латентността в мишки див тип и генномодифицирани мишки без енкефалини, но няма статистическа разлика между стойностите, т.е. енкефалините или не участват в ноцицептивната модулация или функционалната им роля е минимална. В противоречие с това, Mogil et al. (1996) докладва, че СИА след 7 минутно плуване не може да бъде блокирана от налоксон. Данните за участие на динорфините са доста противоречиви, като например McLauglin et al. (2003) смятат, че именно те опосредстват промяната в болкова перцепция на спинално ниво след серия от плувания, докато Zadina et al. (1988) предполагат участие на ендоморфини. Следователно, в редица изследвания, се описва влиянието на опиоидна и неопиоидна компонента при плуване, но липсват данни за ролята на опиоидите при по-продължителен период на физическо натоварване при плъхове.

Може да се предположи, че опиоидната компонента на супраспинално ниво е по-манифестирана при тази форма на СИА (15 min плуване в топла вода), като степента на участието на отделните видове ендогенни опиоиди остава неясно. При дискусия и сравняване на отделните данни трябва да се имат предвид вида на използваните тестове за определяне на болкови параметри, да се отчита възрастта на експерименталните животни, тъй като се предполага, че има съществена разлика в това доколко се отключват опиоидна и неопиоидна модулация. Jackson & Kitchen (1989) предполагат, че: - при по-възрастни плъхове (след 25 дни) аналгезията при по-краткотрайно плуване е опосредствана от опиоидите, а при по-продължително плуване или при плуване в студена вода - от неопиоидната компонента; - при плъхове пред трета постнатална седмица, неврохимичната база за опосредстване на неопиоидната компонента на СИА не е достатъчно развита, което предполага, че „обезболяването“ се дължи само на ендогенните опиоиди, независими от продължителността на стресовата реакция и температурата на вода.

Получените от нас резултатите при десетдневното плуване показват, че болковата перцепция при механичен стимул се опосредства в по-голямата си част от ендогенните опиоиди, докато при действие на топлинен (термичен) дразнител канабиноидната модулация е силно изразена. Тези данни са сходни с някои литературните данни (Parikh et al., 2011; Jackson & Kitchen, 1989) и вероятно по тази причина при изследване на канабиноидно влияние върху болкова перцепция се използват предимно термични болкови стимули (*tail flick* тест и *hot plate* тест).

Въпреки, че стойностите на НР - латентността не се промениха съществено след хроничното плуване, то при инжектиране на CB1 рецепторен антагонист, латентността значително бе понижена. Това вероятно се дължи на повишената концентрация на анандамид след хроничното плуване и взаимодействието му с TRPV1 рецептор, който се активира също от капсаицин и силен топлинен дразнител (Cristino et al., 2006). Вероятно и 2-AG опосредства аналгезията на супрасинално ниво, поради неговия по-силен антиноцицептивен ефект (Guindon et al., 2007), докато повишените концентрации на анандамид е по-вероятно да са свързани с терморегулаторни механизми при натоварване и изобщо при стрес.

Взаимодействие между ендоканабиноидна и ендоопиоидна система

Резултатите от нашите изследвания ясно показват заимодействието на ЕКС и ЕОС при острите и хроничните модели на СИА, и при двата вида стресори – имобилизация и физическо натоварване.

Механизмите на тези взаимодействия в литературата са широко дискутирани и се обсъждат няколко различни хипотези. Добре известно е, че и двата типа рецептори са разположени пресинаптично и обикновено при активирането си потискат освобождаването на дадени невротрансмитери (Schlicker & Kathmann, 2001). Знае се също така, че те са ко-локализирани в структури като задните рога на гръбначния мозък, путамен, дорзалния хипокамп, субстанция нигра и в структурни части от десцедентната инхибиторната ноцицептивна система и такива, участващи в невроендокринните ефекти – PAG, nucleus raphe magnus, централното медиално таламично ядро и медиалната част на хипоталамуса (Romero et al., 1998; Lichtman et al., 1996). Установено е, че опиоидите и канабиноидите се свързват с различни рецептори, но и двата вида представляват G-куплирани белтъци и понеже това са различни G-протеини, вероятното взаимодействие се дължи на припокриване на двата каскадни процеса на ниво синтез на цикличен аденозин монофосфат (Massi et al., 2003). Vigano et al. (2005) предполагат, че двете системи вероятно си взаимодействат по различен начин в зависимост от ензимния профил на клетката, като това става на ниво G-протеин или цикличен аденозин монофосфат. Друга възможна хипотеза за синергичния ефект на двете модулиращи болката системи е възможността да взаимодействат на пострецепторно ниво, тъй като имат сходен вътреклетъчен сигнален механизъм. Така че при различни степени на активация на рецепторите, може да настъпят промени в клетъчната трансдукцията и да се създаде възможност за „cross“-толерантност и взаимно потенциране на ЕКС и ЕОС. В редица изследвания, в които се проследява връзката между двете системи, има предположения за взаимен ефект върху молекулярния отговор, обуславящ поведенческите и неврохимичните промени при морфин-зависими мишки (Manzaranares et al., 1998). Vigano et al. (2003), изследвайки промяната в концентрацията на ЕК при морфин зависими плъхове, предполагат, че нивата на 2-AG значително се повишават, а концентрацията на анандамид остава непроменена в структури като стриатум, мозъчна кора, хипокамп, лимбична система и хипоталамус. Gonzalez et al. (2003) също отбелязват непроменената концентрация на анандамид на супраспинално ниво, но пък установява промяна в афинитета и броя на CB1 рецепторите, което води до допълнително освобождаване на допамин в nucleus accumbens septi. Тези данни предполагат друг възможен механизъм на канабиноидно - опиоиден синергизъм, а именно активирането на CB1 рецептори, вероятно води до повишение в нивата на опиоидни пептиди, като се повлияват и μ-опиоидните или κ-опиоидните рецептори в мезолимбичната област (Ghozland et al., 2002; Walentiny et al., 2010). Всичко това повишава

допаминергичната активност като този механизъм може да бъде повлиян от редица фактори и вида на стресора.

В литературата съществуват данни (Laughlin et al., 1997 и Pugh et al., 1997), че въвеждането на налоксон или друг опиоиден неселективен рецепторен антагонист, блокира антиноцицептивните ефекти на канабиноиди. Резултатите са противоречиви, поради различието в използваните ноцицептивни тестове и приложението на концентрациите на налоксон. Например, *tail flick* тест оценява предимно спиналната компонента на болковата перцепция, а *hot plate* теста – супраспиналата, а и по-високите дози налоксон, блокират κ- μ- и δ- опиоидни рецептори. Редица автори предполагат, че именно κ- и μ- опиоидните рецептори, и то на супраспинално ниво, се повлияват при аналгезия, предизвикана от Δ-тетрахидроканабинол (Pugh et al., 1997; Smith et al., 1994). Martin et al. (1996) също предполага двупосочен „cross"-толеранс между морфина и Δ-тетрахидроканабинола. Edsall (1996) и Lichtman & Martin (1997) пък, предполагат кумулативен ефект на ендогенните опиоиди и канабиноиди, без това да се дължи на рецепторни взаимодействия. При едновременното въвеждане на морфин и Δ-тетрахидроканабинол, ефектите на морфина се опосредстват от μ-опиоидните рецептори, докато Δ-тетрахидроканабинолът повишава антиноцицептивния ефект чрез κ- и δ- опиоидни рецептори.

Резултатите от нашите експериментални серии недвусмислено показаха наличие на синергичен ефект между ЕКС и ЕОС при опосредстване на остра и хронична СИА, както при фзическо натоварване, така и при имобилизация. Това предполага, че ефектите на ендогенните канабиноиди са директно зависими от интактните опиоидни рецептори, тъй като при едновременно въвеждане на опиоиден и CB1 рецепторен блокер, антиноцицептивните им ефекти се потенциират.

Въпреки, съществуването на вече изложените по-горе хипотези за опиоидно-канабиноидното повлияване и синергичен ефект, трябва да се има предвид и следния факт: взаимодействието между двете системи е проследено главно при генномодифицирани експериментални животни при въвеждане на екзогенни рецепторни субстрати – морфин и Δ-тетрахидроканабинол. Установено е, че Δ-тетрахидроканабинолът и анандамидът повлияват различно активността на CB1 рецепторите и ефектите на двата субстрата в организма се различават (Manzanares et al., 1999; Vigaro et al., 2005). От друга страна, сравнително малко са проучени антиноцицептивните ефекти на 2-AG на супраспинално ниво (Pertwee, 2008; Guindon et al., 2007), където неговата концентрация е до 1000 пъти по-висока и има по-голям афинитет към CB1 рецепторите (Hohmann et al., 2005; Suplita et al., 2006) и взаимодействието му с ЕОС.

Предполага се също, че ендогенния канабиноид – палмитоилатаноламидът, който има 100 пъти по-силен антиноцицептивен ефект от другите ЕК, също може да потенциира действието на опиоидите (Calignano et al., 1998).

Следователно нашата хипотеза е, че между двета системи – ендоопиоидна и ендканабионоид е налице взаимодействие на рецепторно и/или пострецепторно ниво като най-вероятно от страна на ЕКС това става предимно чрез CB1 рецепторите, въпреки, че остава неясно точно конкретния ендогенен канабиноид, който се опосредства това взаимодействие.

Хипералгезия при модели на DOMS

Физическите усилия могат да доведат до различна промяната в болковата перцепция. Например, максимални и субмаксимални динамични натоварвания и изометрични натоварвания, обикновено са свързани с повишение в стойностите на болковия праг и на прага на болковия толеранс, веднага след края на физическото усилие. Както се изяснени, при еднократни и силно интензивни и продължителни натоварвания, е възможна появата на хипералгезични промени, съчетани с мускулна слабост и скованост при движение, т.е. DOMS. Както вече беше споменато, най-често DOMS се наблюдава след стречинг упражнения, плиометрична тренировка или натоварвания с преобладаващи ексцентрични мускулни съкращения (Nelson, 2013), като болковта симптоматика започва 12-24 часа след физическото усилие и може да продължи до 10 дни.

В настоящата разработка изследвахме три модела за експериментално индуцирана мускулна треска в мускулите на горния крайник: (1) чрез използване на тежест (гира 5 kg); (2) чрез изокинетичен динамометър за индуциране на DOMS във флексорите на лакътя; и (3) чрез ръчен динамометър за индуциране на DOMS в единичен мускул, флексор на показалеца – m. flexor digitorum profundus.

Резултатите при модела с тежест показаха, че веднага след натоварване е налице усещане на слабост и мускулната тежест в натоварваната ръка. Подобно на други автори (Denegar & Perrin, 1992; Lastayo et al., 2003) ние наблюдавахме най-изразено понижение в болковите прагове и болковия толеранс при стимулация на дълбоки механорецептори, и съответно повишение в болковия рейтинг 24 часа след натоварването. Установената повишена чувствителност към механични стимули, вероятно се дължи на микролезии в мускулните влакна и миофибрилите (Thompson et al., 1999). Трябва да се отбележи, че най-силна е палпаторната болка 24 часа след натоварването в областта на залавните места на m. biceps brachii. Това предполага, че именно там са най-големите увреди. Понижението на болковата

перцепция в областта на инервационната зона на мускула 24 часа след усилието, също е значително. Веднага след натоварване, обаче е налице леко понижение в ноцицептивната сетивност. Тези промени са логични от биомеханична гледна точка, тъй като именно инсерцията осигурява плавността на движението, докато вретеновидната анатомична структура на мускула предполага минимални поражения на ниво инервационна зона. По отношение на установената бързопреходна хипоалгезия веднага след натоварването в инервационната зона, може да се допусне и освобождаването на ендогенни опиоиди в областта на мионевралния синапс (Пенчева & Петрова, 2004).

От друга страна, очакваното намаление в мускулната сила и увеличение в обиколката на предмишницата веднага след натоварване, не бяха статистически достоверни (Bowers et al., 2004 и Proske & Morgan, 2001). Това предполага, че този модел на натоварване определя степента на DOMS.

Освен това, въпреки че не изисква специализирана техника, натоварването трудно се стандартизира и ефективността от неговото приложение не може да бъде оценена по време на мускулното усилие. Не регистрирахме съществена промяна на сърдечно - съдовите показатели по време на натоварване, което доказа, че натоварване с преобладаващи ексцентрични съкращения може да не е стандартизирано за фундаментални изследвания, но е препоръчително приложението му в рехабилитационни програми при хора с кардио - респираторни нарушения (Vallejo et al., 2006).

Представените от нас данни за разработен стандартизиран модел на DOMS чрез изокинетичен динамометър, показват добре изразено „забавено начало на мускулна болезненост“, генерирана от преобладаващо ексцентрично натоварване. В този случай хипералгезията има достатъчен интензитет и поне тридневна продължителност. Времето за достигане на максимален торг не се променя, от което следва, че натоварването не води до умора, което се подчертава и от други автори (LaStayo et al., 2003). Освен това, работата и мощността, които се реализират в ексцентричната фаза са по-големи от тези в концентрична, което предполага, че моделът е надежден и лесно може да се възпроизведе (Bowers et al., 2004).

Следователно той успешно може да се прилага при: (1) по-нататъшни изследвания върху за ефекти на физикални и рехабилитационни подходи за редуциране на DOMS в спорта и при клинични изследвания (Proske & Allen, 2005); (2) изследвания върху ефектите на вибрационния масаж и ролята на вибрационния рефлекс, както и при различните механизми на повлияване на DOMS чрез вибрационен масаж с различни характеристики преди натоварването и/или след натоварването (Aminian-Far et al., 2011); и (3) създаване на

кинезитерапевтични комплекси за ексцентрични натоварвания, при които скоростта на разтягане е малка, което редуцира ефекта на миотатичния рефлекс, който има антагонистично действие върху удължаващите мускулни съкращения (Sharman et al., 2006). Подобни комплекси са изключително ефективни при пациенти със сърдечно - съдови заболявания (не натоварват сърцето и дишането), здрави нетренирани лица и спортисти, защото генерират по-бърза и по-изразена хипертрофия на скелетната мускулатура, в сравнение с изометричните или аеробни натоварвания (Pencheva et al., 2004).

По отношение на локализацията на болката след ексцентрично натоварване, в настоящето изследване беше установено, че хипералгезията е максимална в инервационната зона и в инсерцията на m. biceps brachii.

Подобна локализация на болковите промени се установява и от други автори (Proske, Allen, 2005). Не е ясна, обаче, природата на въздействие върху инервационната зона, т.е. върху моторната плочка. Известно е, че при изометрични и концентрични съкращения се увеличава площта на моторната плочка като адаптационен механизъм, но понижението в болковия праг в инервационната зона при ексцентрични съкращения остава неясно.

В третата експериментална серия свързана с модели на DOMS, проведохме изследване със специално конструиран ръчен динамометър с цел инициране на DOMS в един мускул предимно – флексорът на показалеца, m. flexor digitorum profundus. Болковият праг, веднага след физическото усилие, беше значително понижен в областта на залавните места на мускула, а 24 часа след натоварването най-голямо беше понижението в областта на инервационната зона. Тя е разположена на около 3-4 cm дистално от медиалния epicondyle на мишницата (Bhadra et al., 1999). Тези данни съвпадат с тези, получени от нас при модела с използване на тежест, което предполага, че веднага след натоварването, увредите в областта на инервационната зона, където се предават нервните импулси, са „замаскирани“ вероятно от освобождаването на опиоидите и/или други модулатори на болковата перцепция, с цел поддържане на двигателната активност. 24 часа след натоварване обаче, промените там са най-манифестирани, вероятно като защитен механизъм, който ще повлияе на функционалното състояния на мускула, оттук идва и намалената мускулна сила след преобладаващи ексцентрични съкращения (Zainuddin et al., 2005). Не е ясно доколко полученият от нас модел на DOMS е оптимален, тъй като голяма част от доброволците съобщават за мускулна болезненост 24 часа след натоварване, не само в показалеца и предмишницата, но и в областта на мишницата и рамото. Това дава основание да се предположи, че индуцирането на DOMS в единичен мускул или в много малка група, е трудно и не е напълно изолирано. Това се

подкрепя и от сравнително малкото литературни данни (Samani et al., 2011) за индуциране на мускулната треска при флексия на показалеца. Друг тип модел на DOMS върху малка мускулна група е разработен при дъвкателни мускули (Türker et al., 2010).

Относно моделът на DOMS върху m. flexor digitorum profundus, трябва да се отбележи още, че веднага след натоварването, изследваните лица описваха промените в натоварения крайник като умора и тежест, което може да бъде тълкувано като недостатък на модела, тъй като според литературните данни, натоварването не трябва да води до умора (LaStayo et al., 2003). Приложеният от нас модел с ръчен динамометър обаче, целеше оптимизиране и тестване върху по-голям брой доброволци с цел охарактеризиране на сетивните и мускулните промени след подобен тип натоварване.

8. ИЗВОДИ

1. Установена е манифестирана хипоалгезия при физическо натоварване при здрави нетренирани мъже. Болковите прагове се повишават с 19.79 ± 2.40 %, а болковият толеранс с 46.93 ± 3.94 %.
2. Латералната глава на m. gastrocnemius – m. soleus има по-висок болков праг от медиалната, както преди, така и след физическо натоварване. Болковите прагове на доминантния крак имат по-високи стойности в сравнение с тези на недоминантния. Повишението на ноцицептивния праг е по-силно изразено в работещата мускулатура, а отделните области на мускула имат различна болкова чувствителност.
3. Няма разлика в болковите прагове на системно трениращи и нетренирани, но трениращите имат по-високи стойности на болковия толеранс, в сравнение с нетренираните, както преди, така и след натоварване, като толерансът е по-висок с 22.8 ± 4.9 % и ≥ 34.6 ± 5.8 %, съответно.
4. Съществува добре изразена корелация между степента на хипоалгезични промени след натоварване и мускулната сила, т.е. при по-голяма мускулна сила степента на аналгезия е по-голяма.
5. Разработен е стандартизиран модел за генериране на DOMS на флексорите на лакътя, който е характерен като хипералгезична болкова симптоматика, който не води до умора по време на натоварването и има достатъчна продължителност от 72 часа.
6. Създаден е модел на DOMS с ръчен динамометър на единичен мускул (m. flexor digitorum profundus).
7. Индуцираната аналгезия при остра имобилизация вероятно се опосредства предимно от ендоопиоидната система, докато аналгезията след хронична имобилизация, предимно от ендоканабиноидната система. По-добре изразена е ноцицептивната модулация при действието на механичен алгогенен стимул, в сравнение с термичен стимул.
8. При физическо натоварване чрез плуване антиноцицептивни ефекти вероятно, се обуславят, от активиране на ендоопиоидната и на ендоканабиноидната система.
9. Опиоидите участват в по-голяма степен в модулирането на базалната ноцицепция при експериментални животни и вероятно, опосредстват промените в болковия праг след стрес. Ендоканабиноидната система потенциирана освобождаването на опиоиди и/или медиира промените в болковия толеранс.

10. Между ендоопиоидната и ендоканабиноидната система има добре изразен синергичен ефект и/или взаимодействие, както при модулация на механични и термични стимули, така и при остър и хроничен стрес.

9. ПРИНОСИ

1. Представени са данни за статистически достоверна хиполагезия при различни модели на физическо натоварване и за нейните специфични аспекти при сравнително проследяване на: - натоварени и ненатоварени мускулни групи; - доминантен и недоминантен крайник; - ниво на тренираност; - базална ноцицепция.
2. Внедрени са и са охарактеризирани разнообразни техники за оценка на експериментална болка при хора и е анализирана тяхната приложимост в зависимост от целите на изследванията върху болков праг и болков толеранс, включително такива, свързани с физическо натоварване.
3. Представени са експериментални доказателства за синергичен ефект и диференцирана модулация на антиноцицепцията от ендогенната опиоидна и канабиноидна система при остър и при хроничен стрес с имобилизация и при остър и хроничен стрес с физическо натоварване. Опиоидната антиноцицептивна модулация е по-добре изразена при остър стрес, докато канабиноидната – при хроничен стрес.
4. Представени са експериментални доказателства за корелации между хипоалгезията, индуцирана при физическо натоварване в m. gastrocnemius и мускулната сила на плантарните флексори на глезена и на флексорите и екстензорите на коляното. Те допринасят за генериране на иновативна хипотеза за трайна модулация на моторния драйв към периферните моторни неврони от ендогенната опиоидна система, което корелира с механизми на умората, болката и издръжливостта при скелетно - мускулната работа.
5. Разработен е стандартизиран модел на DOMS с изокинетична динамометрия на група мускули (флексори на лакътя) и модел на DOMS при единичен мускул (m. flexor digitorum progundus). Стандартизираният модел може да се прилага при изследвания върху подходи за преодоляване на DOMS.

10. БИБЛИОГРАФИЯ

На кирилица

1. Ночева – Димитрова, Христина Христова. Ефекти на пептиди от семейството на Tyr-Mif-1 върху канабиноидната система при стрес – индуцирана аналгезия, дисертационен труд, 2013, София, МУ – София, 163 л.

2. Пенчева Н. (2007). Ексцентрични мускулни съкращения: феномени и участието им в спорта и рехабилитацията, Образование, наука, изкуство, I (1), 79 – 87.

3. Пенчева Н., Божкова Л. (2004). Опиоидни механизми на адаптационните промени при физическо натоварване, Спорт и наука, 2, 101 – 112.

4. Пенчева Н., Петрова Ю. (2004). Опиоидни медиаторни механизми на аналгезия и еуфория при физическо натоварване, Спорт и наука, 3, 97 – 104.

5. Болката. Патогенеза и лечение. Под редакцията на Пенко Шотеков, МИ „Лидер прес“, София, 1998, с. 61 -67. ISBN 954-8869-10-1.

На латиница

A

1. Akil H., Young E., Walker J.M., Watson S.J. (1986). The many possible roles of opioids and related peptides in stress-induced analgesia, Ann. N.Y. Acad. Sci, 467, 140-153.

2. Alhouayek M., Lambert D.M., Delzenne N.M., Cani P.D., Muccioli G.G. (2011). Increasing endogenous 2-arachidonoylglycerol levels counteracts colitis and related systemic inflammation, FASEB J., 25, 2711-2721.

3. Amann M., Blain G.M., Proctor L.T., Sebranek J.J., Pegelow D.F., Dempsey J.A. (2010). Group III and IV muscle afferents contribute to ventilatory and cardiovascular response to rhythmic exercise in humans, J Appl Physiol., 109(4), 966-76. doi: 10.1152/japplphysiol.00462.2010.

4. Aminian-Far A., Hadian M.R., Olyaei G., Talebian S., Bakhtiary A.H. (2011). Whole-body vibration and the prevention and treatment of delayed-onset muscle soreness, J Athl Train., 46(1):43-9. doi: 10.4085/1062-6050-46.1.43

5. Amit Z., Galina Z.H. (1986). Stress-induced analgesia: adaptive pain suppression, Physiol. Rev, 66, 1091-1120.

6. Apkarian A.V., Bushnell M.C., Treede R.D., Zubieta, J.K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease, Eur. J. Pain, 9, 463-484.

7. Arima T., Svensson P., Arendt-Nielsen L. (1999). Experimental grinding in healthy subjects: a model for postexercise jaw muscle soreness?, J Orofac Pain, 13(2), 104-114.

B

8. Bajic D., Proudfit H.K. (1999). Projections of neurons in the periaqueductal gray to pontine andmedullary catecholamine cell groups involved in themodulation of nociception, J. Comp. Neurol, 405, 359-379.

9. Baliki, M.N., Chialvo, D.R., Geha, P.Y., Levy, R.M., Harden, R.N., Parrish, T.B., Apkarian, A.V. (2006). Chronic pain and the emotional brain: specific brain activity associated with spontaneous fluctuations of intensity of chronic back pain, J. Neurosci., 26, 12165-12173.

10. Baird, M., Graham, S., Baker, J., Bickerstaff (2012). Creatine-Kinase and Exercise-Related muscle damage implications for muscle performance and recovery. Journal of Nutrition and Metabolism, 13. Article ID 960363.

11. Bartholomew J.B., Lewis B.P., Linder D.E., et al. (1996). Post-exercise analgesia: replication and extension, J Sports Sci, 14, 329-334.

12. Behbehani M.M., Park M.R., Clement M.E. (1988). Interactions between the lateral hypothalamus and the periaqueductal gray, J. Neurosci, 8, 2780-2787.

13. Bender T., Nagy G., Barna I., Tefner I., Ká-das É., Géher P. (2007). The effect of physical activity on beta-endorphin levels, Eur J Appl Physiol, 100, 371-382.

14. Bernatzky G., Doi T., Jurna I. (1983). Effects of intrathecally administered pento-barbital and naloxone on the activity evoked in ascending axons of the rat spinal cord by stimulation of afferent A and C fibres. Further evidence for a tonic endorphinergic inhibition in nociception, Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol, 323, 211-216.

15. Black J., Chesher G.B., Starmer G.A. (1979). The painlessness of the long distance runner, Med J Aust, 1, 522-523.

16. Blessing W.W. (2003). Lower brainstem pathways regulating sympathetically mediated changes in cutaneous blood flow, Cell Mol. Neurobiol, 23, 527-538.

17. Bodnar R.J., Commons K.G., Pfaff D.W. (2002). Gender differences in analgesia, In: Central Neural States Relating Sex and Pain, Johns Hopkins University Press, Baltimore.

18. Bodnar R.J., Kelly D.D., Spiaggia K.A., et al. (1978). Dose-dependent re-ductions by naloxone of analgesia induced by cold-water stress, Pharmacol Biochem Behav, 8, 667-72.

19. Boggio P.S., Brepohl N., et al. (2008). Modulatory effect of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers, European Journal of neurology, 15, 1124 - 1130.

20. Bowery N.G., Smart T.G. (2006). GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history, Br. J. Pharmacol, 147 (1), 109-119.

21. Buckley N.E., McCoy K.L., Mezey E., et al. (2000). Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice defi cient for the cannabinoid CB (2) receptor, Eur J Pharmacol., 396, 141-149.

22. Bush J.A., Kraemer W.J., Mastro A.M., Trplett-McBride N.T., Volek J.S., Putukian M., Sebastianelli W.J., Knuttgen H.G. (1999). Exercise and recovery responses of adrenal medullary neurohormones to heavy resistance exerise, Med. Sci. Sports Exerc., 31 (4), 554-559.

23. Butler R.K., Rea K., Lang Y., Gavin A.M., Finn D.P. (2008). Endocannabinoid-mediated enhancement of fear-conditioned analgesia in rats: opioid receptor dependency and molecular correlates, Pain, 140, 491-500.

C

24. Calignano A., La Rana G., Giuffrida A., et al. (1998). Control of pain initiation by endogenous cannabinoids, Nature, 394, 277-281.

25. Cannon J.T., Prieto G.J., Lee A., Liebeskind J.C. (1982). Evidence for opioid and non-opioid forms of stimulation-produced analgesia in the rat, Brain Res, 243, 315-321.

26. Chen A.C., Dworkin S.F., Haug J., Gehrig J. (1989). Human pain responsivity in a tonic pain model: psychological determinants, Pain, 1989, 37, 143-160.

27. Cichewicz D.L. (2004). Synergistic interactions between cannabinoid and opioid analgesics, Life Sci, 74, 1317-1324.

28. Cook S. C., Wellman C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex, Journal of Neurobiology, 60 (2), 236-248.

29. Cooper K**.,** Carmody J. (1982). The characteristics of the opioid-related analgesia induced by the stress of swimming in the mouse**,** Neurosci Lett**,** 31**,** 165-170**.**

30. Cota D. (2008). The role of endocannabinoid system in the regulation of hypothalamic – pituitary – adrenal axis activity, Journal of Neuroendocrinology, 20 (1), 35 – 38.

31. Connolly, D., Sayers, S., McHugh, M. (2003). Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness. Journal of Strength and Conditioning Research 17 (1), 197-208.

32. Crameri, R., Aagaard, P., Qvortrup, K., Langberg, H., Olesen, J.,Kjaer, M. (2007). Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction.The Journal of Physiology 583 (1), 365-380.

33. Cristino L., De Petrocellis L., Pryce G., Baker D., Guglielmotti V., Di Marzo V. (2006) Immunohistochemical localization of cannabinoid type 1 and vanilloid transient receptor potential vanilloid type 1 receptors in the mouse brain, Neuroscience, 139, 1405-1415.

34. Cruz L., Basbaum A.I. (1985). Multiple opioid peptides and the modulation of pain: immunohistochemical analysis of dynorphin and enkephalin in the trigeminal nucleus caudalis and spinal cord of the cat, J. Comp. Neurol, 240, 331-348.

D

35. De Felipe C., Herrero J.F., O'Brien J.A., Palmer J.A., Doyle C.A., Smith A.J., Laird J.M., Belmonte C., Cervero F., Hunt S.P. (1998). Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P, Nature 392, 394-397.

36. De Meirleir K., Naaktgeboren N., Van Steiteghem A., Gorus F., Olbrecht J., Block P. (1986). Beta-endorphin and ACTH levels in perorheral blood during and after aerobiv and anaerobic exercise, Eur. J. appl. Physiol. Occup. Physiol., 55(1), 5-8.

37. Deadwyler S.A., Hampson R.E., Mu J., Whyte A., Childers S. (1995). Cannabinoids modulate voltage sensitive potassium A-current in hippocampal neurons via a cAMP-dependent process, J Pharmacol Exp Ther, 273, 734-743.

38. deCharms R.C., Maeda F., Glover G.H., Ludlow D., Pauly J.M., Soneji D., Gabrieli J.D., Mackey S.C. (2005). Control over brain activation and pain learned by using real-time functional MRI, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 102, 18626-18631.

39. Dessem, D., Ambalavanar, R., Evancho, M., Yallampalli, A., Moutanni, C., Bai, G. (2010). Eccentric muscle contraction and stretching evoke mechanical hyperalgesia and modulate CGRP and P2X(3) expression in a functionally relevant manner. Pain 149 (2), 284-329.

40. Deyama S., Yamamoto J., Machida T., Tanimoto S., Nakagawa T., Kaneko S., Satoh M., Minami M. (2007). Inhibition of glutamatergic transmission by morphine in the basolateral amygdaloid nucleus reduces pain-induced aversion, Neurosci. Res, 59, 199-204.

41. Di Marzo V., Bifulco M., De Petrocellis L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation, Nat. Rev. Drug Discov, 3, 771-784.

42. Dietrich A., Sparling P.B. (2004). Endurance exercise selectively impairs prefrontaldependent cognition, Brain Cogn, 55, 516-524.

43. Droste C., Greenlee M.W., Schreck M., et al. (1991). Experimental pain thresholds and plasma beta-endorphin levels during exercise, Med Sci Sports Exerc, 23, 334-342.

44. Droste C., Meyer-Blankenburg M., Greenlee M.W., et al. (1988). Effect of physical exercise on pain thresholds and plasma beta-endorphins in patients with silent and symptomatic myocardial ischemia, EurHeartJ, 9, 25-33.

45. Droste, C., Greenlee, M., Schrek, M. and Roskamm, H. (1991). Experimental pain thresholds and plasma beta-endorphin levels during exercise, Medicine, Science in Sports and Exercise, 23, 334-342.

46. Drury D.G., Greenwood K., Stuempfle K.J., Koltyn K.F. (2005). Changes in pain perception in women during and following an exhaustive incremental cycling exercise, Journal of Sports Science and Medicine, 4, 215-222.

47. Dubreucq S., Durand A., Matias I., Bénard G., Richard E., Soria-Gomez E., Glangetas C., Groc L., Wadleigh A., Massa F., Bartsch D., Marsicano G., Georges F.,Chaouloff F. (2013). Ventral tegmental area cannabinoid type-1 receptors control voluntary exercise performance, Biol Psychiatry., 73(9), 895-903. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.10.025.

48. Dworkin B.R., Elbert T., Rau H., Birbaumer N., Pauli P., Droste C., Brunia C.H. (1994). Central effects of baroreceptor activation in humans: Attenuation of skeletal reflexes and pain perception, Proc Natl Acad Sci USA, 91, 6329-6333.

E

49. Edsall S.A., et al. (1996). Antisense oligodeoxynucleotide treatment to the brain cannabinoid receptor inhibits antinociception. NeuroReport, 7, 593-596.

50. Edwards T., Baker S.J., Eston R.G. (1996). A method of detecting the muscle pain threshold using an objective software mediated technique, Rercept. Motor Skills, 82, 955-960.

51. Engfred K., Mjaer M., secher N.M., Fiedman D.B., Hanel B., Nielson O.J., Bach F.W., Galbo H., Levine B.D. (1994). Hypoxia and training-indiced adaptation of hormonal responses to exercise in humans, Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol., 68 (4), 303 – 309.

F

52. Farquhar-Smith W.P., Jaggar S.I., Rice A.S. (2002). Attenuation of nerve growth factor-induced visceral hyperalgesia via cannabinoid CB(1) and CB(2)-like receptors, Pain, 97, 11-21.

53. Farrell P.A., Gates W.K., Maksud M.G., Morgan W.P. (1982). Increases in plasma beta-endorphin/beta-lipotropin immunoreactivity after treadmill running in humans, J Appl Physiol, 52, 1245-1249.

54. Favaroni Mendes L.A., Menescal de Oliveira L. (2008). Role of cholinergic, opioidergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. Life Sci., 83, 644 – 650.

55. Felder C.C., Joyce K.E., Briley E.M., et al. (1995). Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors, Mol Pharmacol, 48, 443-450.

56. Fiebert I. M., Spielholz N. I., Applegate B., Crabtree F. G., Martin L. A., Parker K. L. (2000). A comparison of iEMG activity between the medial and lateral heads of the gastrocnemius muscle during partial weight bearing plantarflexion contractions at varying loads, 8 (2), 65 -72

57. Filaretov A.A., Bogdanov A.I., Yarushkina N.I. (1996). Stress-induced analgesia. The role of hormones produced by the hypophyseal-adrenocortical system, Neurosci. Behav. Physiol, 26, 572-578.

58. Fillingim R.B., Roth D.L., Haley W.E. (1989). The effects of distraction on the perception of exercise-induced symptoms, J Psychosom Res, 33, 241-248.

59. Finn D.P., Jhaveri M.D., Beckett S.R., et al. (2003). Effects of direct periaqueductal grey administration of a cannabinoid receptor agonist on nociceptive and aversive responses in rats, Neuropharmacology, 45, 594-604.

60. Finn D.P., Jhaveri M.D., Beckett S.R., Madjd A., Kendall D.A., Marsden C.A., Chapman V. (2006). Behavioral, central monoaminergic and hypothalamo-pituitary-adrenal axis correlates of fear-conditioned analgesia in rats, Neuroscience, 138, 1309-1317.

61. Finocchietti S., Mørch C.D., Arendt-Nielsen L., Graven-Nielsen T. (2011). Effects of adipose thickness and muscle hardness on pressure pain sensitivity, Clinical Journal of Pain, 27(5), 414-424.

62. Fischer, AA. (1988). Documentation of myofascial triggers points, Arch Phys Med Rehabil, 69, 286-291.

63. Florin S., Suaudeau C., Meunier J.C., Costentin J. (1996). Nociceptin stimulates locomotion and exploratory behavior in mice. Eur. J. Pharmacol., 317(1), 9 – 13.

64. Fox R.J., Sorenson C.A. (1994). Bilateral lesions of the amygdala attenuate analgesia induced by diverse environmental challenges, Brain Res, 648, 215-221.

65. Fukuda T., Nishimoto C., Miyabe M., Toyooka H. (2001). The residual effects of hemorrhagic shock on pain reaction and c-fos expression in rats, Anesth. Anal, 93, 424-429.
66. Fuller A.K., Robinson M.E. (1993). A test of exercise analgesia using signal detection theory and a within-subjects design, Percept Mot Skills, 76, 1299-1310.

G

67. Galdino G., Romero T.R., Silva J.F., Aguiar D.C., de Paula A.M., Cruz J.S., Parrella C., Piscitelli F., Duarte I.D., Di Marzo V., Perez A.C. (2014). The endocannabinoid system mediates aerobic exercise-induced antinociception in rats, Neuropharmacology, 77, 313-324. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.09.022.

68. Garcia J.N., Petersen N.P., Nalivaiko E., Blessing W.W. (2001). Tail artery blood flow measured by chronically implanted Doppler ultrasonic probes in unrestrained conscious rats, J. Neurosci. Methods, 104, 209-213.

69. Garcia N., Jarai Z., Mirshahi F., et al. (2001). Systemic and portal hemodynamic effects of anandamide, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 280, 14-20.

70. Garcia-Arraras J.E., Murakoshi T., Yanagisawa M., Otsuka M. (1986). Descending inhibition of slow spinal reflex in an in vitro preparation of the newborn rat and its possible involvement in pain control, Brain Res, 379, 188-191.

71. Gatchel, R., Peng, Y., Peters, M., Fuchs, P., Turk, D. (2007). The biopsychosocial approach to chronic pain: scientific advances and future directions. Psychological Bulletin 133 (4), 581-624.

72. Gauldie S.D., McQueen D.S., Pertwee R., Chessell I.P. (2001). Anandamide activates peripheral nociceptors in normal and arthritic rat knee joints, Br J Pharmacol, 132, 617-621.

73. Geisser E.G., Wang W., Smick M., Koch L.G., (2008). Nociception before and after exercise in rats bred for high and low aerobic capacity, Neuroscience Letters, 443, 37-40.

74. George, S., Dover, G., Fillingim (2007). Fear of pain influences outcomes after exercise induce delayed onset muscle soreness at the shoulder. Clinical Journal of Pain 23 (1), 76-84.

75. George, S., Dover, G., Wallace, M., Sack, B., Herbstman, D.,Aydog, E., Fillingim, R. (2008). Biopsychosocial influence on exercise-induced delayed onset muscle soreness at the shoulder: pain catastrophizing and COMT diplotype predict pain ratings. Clinical Journal of Pain 24 (9), 793-801

76. Ghione S. (1996). Hypertension-associated hypalgesia. Evidence in experimental animals and humans, pathophysiological mechanisms, and potential clinical consequences. Hypertension.

77. Ghirardi O., Caprioli A., Ramacci M.T., Angelucci L. (1994). Effect of long-term acetyl-L-carnitine on stress-induced analgesia in the aging rat, Exp. Gerontol, 29, 569-574.

78. Ghozland S., Matthes H.W., Simonin F., Filliol D., Kieffer B.L., Maldonado R.(2002). Motivational effects of cannabinoids are mediated by mu-opioid and kappa-opioid receptors, J Neurosci., 22 (3), 1146-1154.

79. Girdler S.S., Maixner W., Naftel H.A., Stewart P.W., Moretz R.L., Light K.C., (2005). Cigarette smoking, stress-induced analgesia and pain perception in men and women, Pain, 114, 372-385.

80. Glass M., Dragunow M., Faull R.L.M. (1997). Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain, Neuroscience, 10, 1665-1669.

81. Godfrey R.J., Madgwick Z., Whyte G.P. (2003). Thexercise-induced growth hormone response in athletes, Sports Med, 33, 599-613.

82. Goldfarb A.H., Hatfield B.D., Potts J., Armstrong D. (1991). Beta-endorphin time course response to intensity of exercise: effect of training status, Int J Sports Med, 12, 264-268.

83. Gomes da Silva S., Araujo B.H., Cossa A.C., Scorza F.A., Cavalheiro E.A., Naffah Mazzacoratti Mda G., Arida R.M. (2010). Physical exercise in adolescence changes CB1 cannabinoid receptor expression in the rat brain, Neurochem. Int., 57, 492-496.

84. Gonzalez S., Schmid P.C., Fernandez-Ruiz J., Krebsbach R., Schmid H.H., Ramos J.A. (2003). Region-dependent changes in endocannabinoid transmission in the brain of morphine-dependent rats, Addict Biol, 8(2), 159-166.

85. Gordan N.F., Duncan J.J., Kohl H.W. (1989). Effect of opioid antagonism on the ability to tolerate maximal anaerobic exercise, S. Afr. Med. J., 76 (6), 268-269.

86. Goyal R., Anil K. (2007). Protective effect of alprazolam in acute immobilization stress-induced certain behavioral and biochemical alterations in mice, Pharmacological Reports, 59, 284-290.

87. Gui X., Carraway R.E., Dobner P.R. (2004). Endogenous neurotensin facilitates visceral nociception and is required for stress-induced antinociception in mice and rats, Neuroscience 126, 1023-1032.

88. Guieu R., Blin O., Pouget J., et al. (1992). Nociceptive threshold and physical activity, Can J Neurol Sci, 19, 69-71.

89. Guindon J., Desroches J., Beaulieu P. (2007). The antinociceptive effects of intraplantar injections of 2-arachidonoyl glycerol are mediated by cannabinoid CB_2 receptors, British Journal of Pharmacology, 150(6), 693-701.

90. Guindon J., Guijarro A., Piomelli D., Hohmann A.G. (2011). Peripheral anti- nociceptive effects of inhibitors of monoacylglycerol lipase in a rat model of inflammatory pain, Br. J. Pharmacol., 163, 1464-1478.

91. Gulyas A.I., Cravatt B.F., Bracey M.H., et al. (2004). Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala, Eur J Neurosci, 20, 441-458.

92. Gurevich M., Kohn P.M., Davis C. (1994). Exercise-induced analgesia and the role of reactivity in pain sensitivity, J Sports Sci, 12, 549-559.

H

93. Haier R.J., Quaid K., Mills J.S.C. (1981). Naloxone alters pain perception after jogging, Psychiatry Res, 5, 231-232.

94. Harkins S.W., Price D.D. (2001). Assessment of pain in the elderly, Turk DC, Melzack R, editors. Handbook of pain assessment. New York: Guilford Press, 317-321.

95. Hatakeyama S., Kawai Y., Ueyama T., Senba E. (1996). Nitric oxide synthase-containingmagnocellular neurons of the rat hypothalamus synthesize oxytocin and vasopressin and express Fos following stress stimuli, J. Chem. Neuroanat, 11, 243-256.

96. Handbook of pain assessment. Edited by Dennis C.Turk and Ronald Melzack, third edition, The Guilford press, New York, 2011.

97. Heitkamp H-Ch., Schmid K., Scheib K. (1996). Beta-endorphin and adenocorticotrophic hormone production during marathon and incremental exercise. Eur. J. Appl.Physiol., 66(3), 269-274

98. Herman J.P., Figueiredo H., Mueller N.K., Ulrich – Lai Y., Ostrander M.M., Choi D.C., Cullinan W.E. (2003). Central mevhanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo – pituitary – adrenocortical responsiveness, Front Neuroendocrinol., 24, 151 – 180.

99. Henriksen M., Klokker L., Bartholdy C., Graven-Nielsen Th., Bliddal H. (2013). The Associations between Pain Sensitivity and Knee Muscle Strength in Healthy Volunteers: A Cross-Sectional Study, Pain Research and Treatment, 1, 1-7, http://dx.doi.org/10.1155/2013/787054.

100. Herkenham M., Lynn A.B., Ross-Johnson M., et al. (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitive in vitro autoradiographic study, J Neurosci, 11, 563-583.

101. Hill M. N., Patel S., Campolongo P., Tasker J. G., Wotjak C. T., Bains J. S. (2010). Functional Interactions between Stress and the Endocannabinoid System: From Synaptic Signaling to Behavioral Output, Journal of Neuroscience, 10, 30(45), 14980 –14986.

102. Hillard C.J. (2000). Endocannabinoids and vascular function, J Pharmacol Exp Ther, 294, 27-32.

103. Hilty L., Lutz K., Maurer K., Rodenkirch T., Spengler Ch.M., Boutellier U., Jancke L., Amann M. (2011). Spinal opioid receptor-sensitive muscle afferents contribute to the fatigue-induced increase in intracortical inhibition in healthy humans, Exp Physiol 96 (5), 505-517.

104. Hoeger-Bement M.K.**,** Weyer A.**,** Hartley S.**,** Drewek B.**,** Harkins A.L.**,** Hunter S.K. (2011). Pain Perception After Isometric Exercise in Women With Fibromyalgia**,** Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**,** 92(1)**,** 89-95.

105. Hoffman, M., Shepanski, M., Ruble, S., Valic, Z., Buckwater, J., Clifford, P. (2004). Intensity and duration threshold for Aerobiv Exercise-Induced Analgesia to pressure pain, Archives of Physical Medcine and Rehabilitation, 85, 1183-1187.

106. Hoffmann P., Thoren P. (1988). Electric muscle stimulation in the hind leg of the spontaneously hypertensive rat induces a long-lasting fall in blood pressure, Acta Physiol Scand, 133, 211-219.

107. Hohmann A.G., Herkenham M. (1999). Localization of central cannabinoid CB1 receptor messenger RNA in neuronal subpopulations of rat dorsal root ganglia: a double label in situ hybridization study, Neuroscience, 90, 923-931.

108. Hohmann A.G., Martin W.J., Tsou K., Walker J.M. (1995). Inhibition of noxious stimulus-evoked activity of spinal cord dorsal horn neurons by the cannabinoid WIN 55, 212-2, Life Sci, 56, 2111-2118.

109. Hohmann A.G., Suplita R.L., Bolton N.M., et al. (2005). An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia, Nature, 435, 1108-1112.

110. Hohmann A.G., Tsou K., Walker J.M. (1999). Cannabinoid suppression of noxious heatevoked activity in wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat, J Neurophysiol, 81, 575-583.

111. Howlett A.C., Fleming R.M. (1984). Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes, Mol Pharmacol, 26, 532-538.

112. Hugues S., Deschaux O., Garcia R. (2004). Postextinction infusion of a mitogenactivated protein kinase inhibitor into the medial prefrontal cortex impairs memory of the extinction of conditioned fear, Learn Mem, 11, 540-543.

I

113. Iliev I. (1974). A method for complex testing of high-class athletes. BSFS, p. 77-86, Sofia.

114. Isselee H., De Laat A., Lesaffre E., et al. (1997). Short-term reproducibility of pressure pain thresholds in masseter and temporalis muscles of symptom-free subjects, Eur J Oral Sci., 105, 583-587.

J

115. Jackson H. C.& Kitchen I. (1989). Swim-stress antinociception in young rats, Br. J. Pharmacol., 96, 617-622.

116. Janal M.N., Colt E.W.D., Clark W.C., et al. (1984). Pain sensitivity, mood and plasma endocrine levels in man following long distance running: effects of naloxone, Pain, 19, 13-25.

117. Jenkins I.H., Brooks D.J., Nixon P.D., et al. (1994). Motor sequence learning: a study with positron emission tomography, J Neurosci, 14, 3775-3790.

118. Jennings E.A., Vaughan C.W., Christie M.J. (2001). Cannabinoid actions on rat superficial medullary dorsal horn neurons in vitro, J. Physiol, 534, 805-812.

119. Jespersen A., Dreyer L., Kendall S. et al. (2007). Computerized cuff pressure algometry: a new method to assess deep-tissue hypersensitivity in ibromyalgia, Pain, 131 (1-2), 57-62.

120. Jia H., Xie Y.F., Xiao D.Q., Tang J.S. (2004). Involvement of GABA ergicmodulation of the nucleus submedius (Sm) morphine-induced antinociception, Pain, 108, 28-35.

121. Juan H. (1981). Dependence of histamine-evoked nociception on prostaglandin release, Agents Actions, 11, 706-710.

122. Jung K-M., Mangieri R., Stapleton C., et al. (2005). Stimulation of endocannabinoid formation in brain slice cultures through activation of group I metabotropic glutamate receptors, Mol Pharmacol, 68, 1196-1202.

K

123. Kapasi Z.F., Catlin P., Beck J. A., Roehling T., Smith K. (2001). The Role of Endogenous Opioids in Moderate Exercise Training-Induced Enhancement of the Secondary Antibody Response in Mice, Physical TherapyNovember, 81 (11), 1801-1809.

124. Kapoor S. (2012). Emerging opioid alternatives to nebulized fentanyl for, mproving exercise capacity in patients with COPD, J Pain Symptom Manage, 44(4), e1; doi: 10.1016/j.jpainsymman.2012.07.004.

125. Katona I., Sperlagh B., Sik A., Kafalvi A., Vizi E.S., Mackie K., Freund T.F. (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons, J. Neurosci, 19, 4544-4558.

126. Kelly S., Chapman V. (2001). Selective cannabinoid CB1 receptor activation inhibits spinal nociceptive transmission in vivo, J Neurophysiol, 86, 3061-3064.

127. Kemppainen P., Paalasmaa P., Pertovaara A., et al. (1990). Dexamethasone attenuates exercise-induced dental analgesia in man, Brain Res, 519, 329-332.

128. Kemppainen P., Pertovaara A., Huopaniemi T., et al. (1985). Modification of dental pain and cutaneous thermal sensitivity by exercise in man, Brain Res, 360, 33-40.

129. Kemppainen P., Pertovaara A., Huopaniemi T., et al. (1986). Elevation dental pain threshold induced in man by physical exercise not reversed by cyproheptadine-mediated suppression growth hormone release, Neurosci Lett, 70, 388-392.

130. Kest B., Jenab S., Brodsky M., Sadowski B., Belknap J.K., Mogil J.S., Inturrisi C.E. (1999). Mu and delta opioid receptor analgesia, binding density, and mRNA levels in mice selectively bred for high and low analgesia, Brain Res, 816, 381-389.

131. Kieffer B.L. (1999). Opioids: first lessons fromknockoutmice, Trends Pharmacol. Sci, 20, 19-26.

132. Kinser, AM., et al. (2009). Reliability and validity of a pressure algometer, Journal of Strength and Conditioning Research, 23(1), 312-314.

133. Kolata G. (2002). Runners high? Endorphins? Fiction say some scientists, The NY Times.

134. Koltyn K. F., Umeda M. (2006). Exercise, Hypoalgesia and Blood Pressure, Sports Medicine, 36(3), 207-214.

135. Koltyn K.F. (2000). Analgesia following exercise: a review, Sports Med, 29, 85-98.

136. Koltyn K.F. (2002). Exercise-induced hypoalgesia and intensity of exercise, Sports Medicine, 32 (8), 477-487.

137. Koltyn K.F., Arbogast R.W. (1998). Perception of pain after resistance exercise, Br J Sports Med, 32, 20-24.

138. Koltyn K.F., Umeda M. (2006). Exercise, hypo-algesia and blood pressure, Sports Med, 36, 207-214.

139. Koltyn K.F., Umeda M. (2007). Contralateral Attenuation of Pain After Short-Duration Submaximal Isometric Exercise, The Journal of Pain, 8 (11), 887-892.

140. Koltyn K.F., Wertz A.L., Gardiner R.L., et al. (1996). Perception of pain following aerobic exercise, Med Sci Sports Exerc, 28, 1418-1421.

141. Kosek E., Ekholm J. (1995). Modulation of pressure pain thresholds during and following isometric contractions, Pain, 61, 481-486.

142. Kosek, E., Ekholm, J., Nordemar, R. (1993). A comparison of pressure pain thresholds in different tissues and body regions. Long-term reliability of pressure algometry in healthy volunteers, Scand J Rehabil Med., 25, 117-124.

L

143. Lannersten L, Kosek E. (2010). Dysfunction of endogenous pain inhibition during exercise with painful muscles in patients with shoulder myalgia and fibromyalgia, Pain, 151, 77-86.

144. Lastayo P.C., Woolf J.M., Lewek M.D., Snyder-Macker L., Reich T., Lindstedt S.L. (2003). Eccentric muscle contractions: Their Contribution to Injury, Prevention, Rehabilitation, and Sport, J orthop Sports Phys Ther, 33, 557-571.

145. Laughlin T.M., et al. Spinally administered dynorphin A produces long-lasting allodynia: involvement of NMDA but not opioidreceptors. (1997). Pain 72, 253-260.

146. Laura A., Law F., Evans S., Knudtson J., Nus S., Scholl K., Kathleen A. S. (2008). Massage Reduces Pain Perception and Hyperalgesia in Experimental Muscle Pain: A Randomized, Controlled Trial, The Journal of Pain, 9, 714-721.

147. Lazarou, L., et al. (2009). Effects of Intensity of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on Pressure Pain Threshold and Blood Pressure in Healthy Humans, Clin J Pain, 25, 773-780

148. Lee H.J., Choi J.S., Brown T.H., Kim J.J. (2001). Amygdalar nmda receptors are critical for the expression ofmultiple conditioned fear responses, J. Neurosci, 21, 4116-4124.

149. Lichtman A. H., Martin B.R. (1997). The selective cannabinoid antagonist SR141716A blocks cannabinoid – induced antinociception in rats, Pharmacol. Biochem. Behav., 57, 7-12.

150. Lichtman A.H., Hawkins E.G., Griffin G., Cravatt B.F. (2002). Pharmacological activity of fatty acid amides is regulated, but not mediated, by fatty acid amide hydrolase in vivo, J Pharmacol Exp Ther, 302, 73-79.

151. Lieber R.L., Friden J. (1991). Muscle damage induced be eccentric contractions of 25 % strain, J. Appl. Physiol., 74, 2498-1507.

152. Lobstein D.D., Rasmussen C.L. (1991). Decreases in resting plasma beta-endorphin and depression scores after endurance training, J Sports Med Phys Fitness, 31, 543-55.

153. Lorenz J.**,** Minoshima S.**,** Casey K. L. (2003). Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation**,** Medicine Brain**,** 126 (5)**,** 1079-1091.

154. Lundeberg T. (2001). Reliability and responsiveness of three different pain assessment, J Rehabil Med., 12, 2963-2965.

M

155. Madden J.t., Akil H., Patrick R.L., Barchas J.D. (1977). Stress-induced parallel changes in central opioid levels and pain responsiveness in the rat, Nature, 265, 358-360.

156. Maione S., Bisogno T., de Novellis V., et al. (2005). Elevation of endocannabinoid levels in the ventrolateral periaqueductal grey through inhibition of fatty acid amide hydrolase affects descending nociceptive pathways via both CB1 and TRPV1 receptors, J Pharmacol Exp Ther, 316, 969-982.

157. Maldonado R., Valverde O., Berrendero F. (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction, Trends Neurosci, 29, 225-232.

158. Manzanares J., Corchero J., Romero J., Fernandez-Ruiz J.J., Ramos J.A., Fuentes J.A. (1999). Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids, Trends Pharmacol Sci, 20, 287-294.

159. Mao J., Price D.D., Lu J., Keniston L., Mayer D.J. (2000). Two distinctive antinociceptive systems in rats with pathological pain, Neurosci Lett, 280, 13-16.

160. Marek P., Mogil J.S., Belknap J.K., Sadowski B., Liebeskind J.C. (1993). Levorphanol and swim stress-induced analgesia in selectively bred mice: evidence for genetic commonalities, Brain Res, 608, 353-357.

161. Marek P., Mogil J.S., Sternberg W.F., Panocka I., Liebeskind J.C. (1992). N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor antagonist MK-801 blocks non-opioid stress-induced analgesia. II. Comparison across three swim-stress paradigms in selectively bred mice, Brain Res, 578, 197-203.

162. Maren S. (2001). Neurobiology of Pavlovian fear conditioning, Ann. Rev. Neurosci, 24, 897-931.

163. Marsicano G., Wotjak C.T., Azad S.C., Bisogno T., Rammes G., Cascio M.G., Hermann H., Tang J., Hofmann C., Zieglgansberger W., Di Marzo V., Lutz B. (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories, Nature, 418, 530-534.

164. Martin W. J., Hohmann A. G., Walker J. M. (1996). J. Neurosci., 16, 6601-6611.

165. Martin W.J., Coffin P.O., Attias E., Balinsky M., Tsou K., Walker J.M. (1999). Anatomical basis for cannabinoid-induced antinociception as revealed by intracerebral microinjections, Brain Res, 822, 237-242.

166. Martin W.J., Hohmann A.G., Walker J.M. (1996). Suppression of noxious stimulus-evoked activity in the ventral posterolateral nucleus of the thalamus by a cannabinoid agonist: correlation between electrophysiological and antinociceptive effects, J Neurosci, 16, 6601-6611.

167. Martin W.J., Hohmann A.G., Walker J.M. (1996). Suppression of noxious stimulus-evoked activity in the ventral posterolateral nucleus of the thalamus by a cannabinoid agonist: correlation between electrophysiological and antinociceptive effects, J Neurosci, 16, 6601-6611.

168. Martin W.J., Patrick S.L., Coffin P.O., Tsou K., Walker J.M. (1995). An examination of the central sites of action of cannabinoid-induced antinociception in the rat, Life Sci, 56, 2103-2109.

169. Martin W.J., Tsou K., Walker J.M. (1998). Cannabinoid receptor-mediated inhibition of the rat tail-fl ick refl ex after microinjection into the rostral ventromedial medulla, Neurosci Lett, 242, 33-36.

170. Massi P., Vaccani A., Rubino T., Parolaro D. (2003). Cannabinoids and opioids share cAMP pathway in rat splenocytes, J Neuroimmunol, 145(1-2), 46- 54.

171. Matthijs K., Hesselink C., Kuipers H., Geurten P., Van Straaten H. (1996). Structural muscle damage and muscle strength after incremental number of isometric and forced lengthening contractions, Journal of Muscle Research & Cell Motility 17 (3), 335-341.

172. Mazzardo-Martins L., Martins D.F., Marcon R., Dos Santos U.D., Speckhann B., Gadotti V.M., Sigwalt A.R., Guglielmo L.G., Santos A.R. (2010). High-intensity extended swimming exercise reduces pain-related behavior in mice: involvement of endogenous opioids and the serotonergic system, J Pain, 11(12), 1384-1393. doi: 10.1016/j.jpain.2010.03.015.

173. McEwen B.S. (2001). Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load, Ann. N.Y. Acad. Sci, 933, 265-277.

174. McGowan R.W., Pierce E.F., Eastman N., Tripathi H.L., Dewey T., Olson K. (1993). Beta-endorphins and mood states during resistance exercise, Percept Mot Skills, 76, 376-378.

175. McMillan A.S. (1995). Pain-pressure threshold in human gingive, J Orofac Pain, 9, 44-50.

176. Meagher M.W., Arnau R.C., Rhudy J.L., (2001). Pain and emotion: effects of affective picture modulation, Psychosom. Med, 63, 79-90.

177. Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanus L., et al. (1995). Identifi cation of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors, Biochem Pharmacol, 50, 83-90.

178. Mechoulam R., Benshabat S., Hanus L., et al. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors, Biochem Pharmacol, 50, 83-90.

179. Meng I.D., Johansen J.P. (2004). Antinociception and modulation of rostral ventromedial medulla neuronal activity by local microinfusion of a cannabinoid receptor agonist, Neuroscience, 124, 685-693.

180. Meng I.D., Manning B.H., Martin W.J., Fields H.L. (1998). An analgesia circuit activated by cannabinoids, Nature, 395, 381-384.

181. Mense S. (1993). Peripheral mechanisms of muscle nociception in local muscle pain, J. Musculoskelet Pain, 1, 133-170.

182. Metz A. E., Yau H. J., Centeno M. V., Apkarian A. V., Martina M. (2006). Morphological and functional reorganization of rat medial prefrontal cortex in neuropathic pain, PNAS, 106 (7), 2423-2428, doi: 10.1073/pnas.0809897106.

183. Miura M., Sasaki M., Mizukoshi K., Shibasaki M., Izumi Y., Shimosato G., Amaya F. (2011). Peripheral sensitization caused by insulin-like growth factor 1 contributes to pain hypersensitivity after tissue injury, Pain, 152, 888-895.

184. Moisset X., Bouhassira D. (2007). Brain imaging of neuropathic pain., Neuroimage, 37 (1), 80-88.

185. Monhemius R., Azami J., Green D.L., Roberts M.H. (2001). CB1 receptor mediated analgesia from the Nucleus Reticularis Gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neuropathic pain, Brain Res, 908, 67-74.

186. Motl R.W., Gliottoni R.C., Scott J.A. (2007). Self-efficacy correlates with leg muscle pain during maximal and submaximal cycling exercise, J Pain, 8, 583-587.

187. Munro S., Thomas K.L., Abu-Shaar M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids, Nature, 365 (6), 1-5.

188. Murase S., Terazawa E., Queme F., Ota H., Matsuda T., Hirate K., Kozaki Y., Katanosaka K., Taguchi T., Urai H., Mizumura K. (2010). Bradykinin and nerve growth factor play pivotal roles in muscular mechanical hyperalgesia after exercise (delayed-onset muscle soreness), J Neurosci, 30, 3752-3761.

189. MuËller-Vahl K.R., Kolbe H., Schneider U., et al. (1999). Cannabis in movement disorders, Forsch Komplementarmed, 6, 23-27.

N

190. Nackley A.G., Makriyannis A., Hohmann A.G. (2003). Selective activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses spinal Fos protein expression and pain behavior in a rat model of infl ammation, Neuroscience, 119, 747-757.

191. Navarro M., Chowen J., Carrera M.R.A., et al. (1998). CB1 cannabinoid receptor antagonist-induced opiate withdrawal in morphine-dependent rats, Neuroreport, 9, 3397-3402.

192. Nicholls A.R., Polman R.C. (2007). Coping in sport: a systematic review, J Sports Sci, 2007, 25, 11-31.

193. Nelson N. (2013). Delayed onset of muscle soreness: Is the massage effective? Journal of Bodywork & Movement Therapies, 17, 475-482.

194. Nijs J., Kosek E., Van Oosterwijck J., Meeus M. (2012). Dysfunctional Endogenous Analgesia During Exercise in Patients with Chronic Pain: To Exercise or Not to Exercise?, Pain Physician, 15, 205-213.

195. Nosaka K., Newton M., Sacco P. (2002). Muscle damage and soreness after endurance exercise of the elbow flexors, Med Sci Sports Exerc, 34(6), 920-927.

O

196. O'Connor, P., Cook, D. (1999). Exercise and pain: The neurobiology, measurement, and laboratory study of pain in relation to exercise in humans, Exercise and Sports Science Reviews, 29, 119-166.

197. Olson G.A., Olson R.D., Kastin A.J. (1993). Endogenous opiates, Perpides, 15 (8), 1513-1556.

198. Onaivi E.S., Ishiguro H., Gu S., Liu Q.R. (2012). CNS effects of CB2 cannabinoid receptors: beyond neuro-immuno-cannabinoid activity, J. Psychopharmacol, 26, 92-103.

199. Ong Y.W., Mackie K. (1999). A light electron microscope study of the CB1 cannabinoid receptor in primate brain, Neuroscience, 92, 1177-1191.

200. Onodera K., Sakurada S., Furuta S., Yonezawa A., Hayashi T., Honma I., Miyazaki S. (2001). Age-related differences in forced walking stress-induced analgesia in mice, Drugs Under Exp. Clin. Res, 27, 193-198.

201. Ord P., Gijsbers K. (2003). Pain thresholds and tolerances of competitive rowers and their use of spontaneous self-generated pain-coping strategies, Percept Mot Skills, 97, 1219-1222.

P

202. Padawer W.J., Levine F.M. (1992). Exercise-induced analgesia: fact or artifact?, Pain, 48, 131-135.

203. Palazzo E., Marabese I., de Novellis V., et al. (2001). Metabotropic and NMDA glutamate receptors participate in the cannabinoid-induced antinociception, Neuropharmacology, 40, 319-326.

204. Paluska S.A., Schwenk T.L. (2000). Physical activity and mental health: current concepts, Sports Med, 29, 167-180.

205. Parhizgar S.E., Ekhtiari H. (2010). A review on experimental assessment of pain threshold in healthy human subjects, Basic and Clinical neuroscience, 1 (4), 61-66.

206. Parikh D., Hamid A., Friedman Th. C., Nguyen K., Tseng A., Marquez P., Lutfy K. (2011). Stress-induced analgesia and endogenous opioid peptides: The importance of stress duration, European Journal of Pharmacology, 160 (2-3), 563–567

207. Paul V.N., Chopra K., Kulkarni.S.K. (2002). Histaminergic modulation of stress-induced analgesia and cognitive dysfunction, Methods Find Exp Clin Pharmacol, 24 (7), 413-419.

208. Peake, J., Nosaka, K., Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. Exercise Immunology Review 11, 64-85.

209. Pencheva N., Grancharska K., Nikolova E., Kotcev Ch. (2008). Experimental pain measurement in different exercise models, Scientific Research Journal of SWU (Proceedings of the IX-th National Congress of the Bulgarian Society of Physiological Sciences), 1 (1), 51-56.

210. Pencheva N., Grancharska K., Kossev A. (2007). Methods for assessment of the specific pain symptoms after eccentric muscle contractions, The Science, the Education and the Art in 21st Century, 2, 32-34.

211. Pertovaara A. (2006). Noradrenergic pain modulation, Progress in Neurobiology, 80, 53-83.

212. Pertovaara A., Huopaniemi T., Virtanen A., et al. (1984). The influence of exercise on dental pain thresholds and the release of stress hormones, Physiol Behav, 33, 923-926.

213. Pertwee R.G. (2008). Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond, Addict Biol., 13(2), 147-159. doi: 10.1111/j.1369-1600.2008.00108.

214. Pfeiffer-Jensen M., Nielsen J., Drewes A. M., Olesen A. V., Arendt-Nielsen L., Stengaard-Pedersen K. (1996). Influence of pressure rate and pressure area on pressure-pain threshold using a new computer-controlled pneumatic pressure algometer, In: 8th World Congress on Pain. IASP Press, Vancouver

215. Pickel V.M., Chan J., Kash TL., Rodriguez J.J., MacKie K. (2004). Compartment-specific localization of cannabinoid 1 (CB1) and mu opioid receptors in rat nucleus accumbens, Neuroscience, 127, 101-112.

216. Pierce E.F., Eastman N.W., Tripathi H.L., Olson K.G., Dewey W.L. (1993). Endorphin response to endurance exercise: relationship to exercise dependence, Percept Mot Skills, 77, 767-770.

217. Piomelli D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling, Nat Rev Neurosci, 4, 873-884.

218. Pistis M., Porcu G., Melis M., et al. (2001). Effects of cannabinoids on prefrontal neuronal responses to ventral tegmental area stimulation, Eur J Neurosci, 14, 96-102.

219. Polianskis R., Graven-Nielsen T., Arendt-Nielsen L. (2001). Computer-controlled pneumatic pressure algometry - a new technique for quantitative sensory testing, European Journal of Pain, 5, 267-277.

220. Polianskis R., Graven-Nielsen T., Arendt-Nielsen L. (2002). Spatial and temporal aspects of deep tissue pain assessed by cuff algometry, 100 (1-2), 19-26.

221. Price D. D. (2002). Central neural mechanisms that interrelate sensory and affective dimensions of pain, Mol.Interv., 2, 392-403

222. Price M.R., Baillie G., Thavayogan K., Razdan R., Martin B.R., Reggio P., McIntosh L., Goodwin G., Walker G., Westwood P., Marrs J., Thomson F., Cowley P., Christopoulos A., Pertwee R.G., Ross R.A. (2004). Studies of [3H]CP55940 dissociation from mouse brain membranes, Symposium on the Cannabinoids. International Cannabinoid Research Society, Burlington, Vermont, 131.

223. Proske, U., Allen, T. (2005). Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. Exercise and Sport Sciences Reviews 33, 98-104.

224. Pud D., Golan Y., Pesta R. (2009). Hand dominancy – A feature affecting sensitivity to pain, Neuroscience Letters, 467, 237-24.

225. Pugh G., Jr. Mason D. J., Jr. Combs V., Welch S.P. (1997). J. Pharmacol. Exp. Ther., 281, 730-737.

Q

226. Quiton R.L., Greenspan J.D. (2008). Across-and within-session variability of ratings of painful contact heat stimuli, Pain, 137, 245-56.

R

227. Rainville P. (2002). Brain mechanism of pain affect and pain modulation, Curr. Opin. Neurobiol., 12, 195-204.

228. Randall L., Selitto J.J. (1957), A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue, Arch Int Pharmacodyn Ther., 111(4), 409-419.

229. Ray C.A., Carter J.R. (2007). Central modulatof exercise-induced muscle pain in humans, J Physiol, 585, 287-294.

230. Rea K., Roche M., Finn D.P. (2007). Supraspinalmodulation of pain by cannabinoids: the role of GABA and glutamate, Br. J. Pharmacol, 152, 633-648.

231. Redrobe J.P., Galo G., Regoli D., Quirion R., (2002). Nociception receptor antagonists, display antidepressant - like properties in the mouse forced swimming test, Naunyn Schmiedeebergs Arch Pharmacol, 365(2), 164-167.

232. Rhudy J.L., Meagher M.W. (2000). Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds, Pain, 84, 65-75.

233. Rhudy J.L., Meagher M.W. (2001). Noise stress and human pain thresholds: divergent effects in men and women, J. Pain, 2, 57-64.

234. Richardson J.D. (2000). Cannabinoids modulate pain by multiple mechanisms of action, J Pain, 1, 2-14.

235. Richardson J.D., Kilo S., Hargreaves K.M. (1998). Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB1 receptors, Pain, 75, 111-119.

236. Riemann B.L., Limbaugh G.K., Eitner J.D., LeFavi R.G. (2011). Medial and lateral gastrocnemius activation differences during heel-raise exercise with three different foot positions., J Strength Cond Res, 25(3), 634-639.

237. Roche M., O'Connor E., Diskin C., Finn D.P. (2007). The effect of CB(1) receptor antagonism in the right basolateral amygdala on conditioned fear and associated analgesia in rats, Eur. J. Neurosci, 26, 2643-2653.

238. Rogers R., Wise R.G., Painter D.J., Longe S.E., Tracey I. (2004). An investigation to dissociate the analgesic and anesthetic properties of ketamine using functional magnetic resonance imaging, Anesthesiology, 100, 292-301.

239. Ross R.A. (2003). Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors, Br. J. Pharmacol., 140, 790-801.

240. Romero J., Berrendero .F, Manzanares .J, Pérez A., Corchero J., Fuentes A., Fernández-Ruiz J.J., Ramos J.A. (1998) Time-course of the cannabinoid receptor down-regulation in the adult rat brain caused by repeated exposure to delta 9-tetrahydrocannabinol. Synapse **3,** :298–308

241. Rushen J.**,** Ladewig J. (1991). Stress-induced hypoalgesia and opioid inhibition of pigs' responses to restraint**,** Physiology & Behavior**,** 50(6), 1093-1096**.**

242. Ryan S.M., Maier S.F. (1988). The estrous cycle and estrogen modulate stressinduced analgesia, Behav. Neurosci, 102, 371-380.

243. **S**

244. Savinainen J.R., Saario S.M., Niemi R., Jarvinen T., Laitinen J.T., (2003). An optimized approach to study endocannabinoidsignaling: evidence against constitutive activity of rat brain adenosine A1 and cannabinoid CB1 receptors, British Journal of Pharmacology, 140 (8), 1451-1459.

245. Schaffner N., Wittwer A., Kut E., Folkers G., H Benninger D. H., Candia V. (2008). Heat pain threshold and tolerance show no left-right perceptual differences at complementary sites of the human forearm, Neuroscience Letters, 440(3), 309-313.

246. Schlicker E., Kathmann M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors, Trends Pharmacol Sci, 22, 565-572.

247. Seffinger M. A.**,** Najm W. I.**,** Mishra Sh. I.**,** Adams A.**,** Dickerson V. M.**,** Murphy L. S.**,** Reinsch S. (2004). Reliability of Spinal Palpation for Diagnosis of Back and Neck Pain: A Systematic Review of the Literature**,** Spine, 29 (19), 413-425.

248. Sen˜udo-Pena M.C., Romero J., Seale G.E., et al. (2000). Activational role of cannabinoids on movement, Eur J Pharmacol, 391, 269-274.

249. Sharman M.J., Cresswell A.G., Riek S. (2006). Proprioceptive neuromuscular facilitation stretching: mechanisms and clinical implications. Sports Med., 36(11), 929-939.

250. Sherman A.D., Gebhart G.F. (1974). Pain-induced alteration of glutamate in periaqueductal central gray and its reversal by morphine, Life Sci, 15, 1781-1789.

251. Seifert F., Maihöfner C. (2009) Central mechanisms of experimental and chronic neuropathic pain: findings from functional imaging studies. Cell Mol Life Sci 66, 375–390.

252. Sivam S.P., Ho I.K. (1983). GABAergic drugs, morphine and morphine tolerance: a study in relation to nociception and gastrointestinal transit in mice, Neuro-pharmacology, 22, 767-774.

253. Slater, H., Thériault, E., Ronningen B.O., Clark R., Nosaka K. (2010). Exercise-induced mechanical hypoalgesia in musculotendinous tissues of the lateral elbow, Manual Therapy, 15 (1), 66-73.

254. Smith F.L., Fujimori K., Lowe J., Welch S.P. (1998). Characterization of delta9-tetrahydrocannabinol and anandamide antinociception in nonarthritic and arthritic rats, Pharmacol. Biochem. Behav, 60, 183-191.

255. Smith L.D. (2004). The effects of competition and exercise on pain perception, Dissertation, 2004. 1981;283:91-3.

256. Smith P.B., Martin B.R. (1992). Spinal mechanisms of delta 9-tetrahydrocannabinol-induced analgesia, Brain Res, 578, 8-12.

257. Smith P.B., Welch S.P., Martin B.R. (1994). Interactions between delta 9-tetrahydrocannabinol and kappa opioids in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther., 268, 1381-1387.

258. Soleimannejad E., Naghdi N., Semnanian S., Fathollahi Y., Kazemnejad A. (2007). Antinociceptive effect of intra-hippocampal CA1 and dentate gyrus injection of MK801 and AP5 in the formalin test in adult male rats, Eur. J. Pharmacol, 562, 39-46.

259. Sommer C.(2006). Is serotonin hyperalgesic or analgesic? Curr. Pain Headache Rep, 10, 101-106.

260. Sparling P.B., Giuffrida A., Piomelli D., et al. (2003). Exercise activates the endocannabinoid system, Neuroreport, 14, 2209-2011.

261. Spector T.D., Harris P.A., Hart D.J., Cicuttini F.M., Nandra D., Etherington J., Wolman R.L., Doyle D.V. (1996). Risk of osteoarthritis associated with long-term weight-bearing sports, Arthritis Rheum, 39, 988-995.

262. Spinella M., Cooper M.L., Bodnar R.J. (1996). Excitatory amino acid antagonists in the rostral ventromedial medulla inhibit mesencephalic morphine analgesia in rats, Pain, 64, 545-552.

263. Steiner H., Bonner T.I., Zimmer A.M., et al. (1999). Altered gene expression in striate projection neurons in CB1 cannabinoid receptor knockout mice, Proc Natl Acad Sci USA, 96, 5786-5790.

264. Starbuck, C., Eston (2012). Exercise induced muscle damage and the repeated bout effect: evidence for cross transfer. European Journal of Applied Physiology 112 (3), 1001-1013.

265. Sternberg W.F., Bailin D., Grant M., et al. (1998). Competition alters the perception of noxious stimuli in male and female athletes, Pain, 76, 231-238.

266. Stiller C.O., Bergquist J., Beck O., Ekman R., Brodin E. (1996). Local administration of morphine decreases the extracellular level of GABA in the periaqueductal gray matter of freely moving rats, Neurosci. Lett, 209, 165-168.

267. Stolberg A., Frenk H. (1995). Development of water-immersion produced analgesia, Dev. Psychobiol, 28, 247-255.

268. Sugiura T. (2000). Evidence that 2-arachidonoylglycerol but not N-palmitoylethanolamine or anandamide is the physiological ligand for the cannabinoid CB2 receptor, J Biol Chem, 275, 605-612.

269. Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., et al. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain, Biochem Biophys Res Commun, 215, 89-97.

270. Suh H., Song D., Huh S., Kim Y.H. (2000). Differential potentiative effects of glutamate receptor antagonists in the production of antinociception induced by opioids administered intrathecally in the mouse, Brain Res. Bull, 52, 143-150.

271. Sulcova E., Mechoulam R., Fride E. (1998). Biphasic effects of anandamide, Pharmacol Biochem Behav, 59, 347-352.

272. Sunil Kumar Reddy K., Naidu M.U.R., Usha Rani P., Ramesh Kumar rao T. (2012). Human exoerimental models: a review os standardized methods in drug development, Journa of Research in Medical Science, 17(6), 587-595.

273. Suplita R.L. II, Farthing J.N., Gutierrez T., Hohmann A.G. (2005). Inhibition of fatty-acid amide hydrolase enhances cannabinoid stress-induced analgesia: sites of action in the dorsolateral periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla, Neuropharmacology, 49, 1201-1209.

274. Svensson P., Johannsen P., Jensen T.S., Arendt-Nielsen L., Nielsen J., Stodkilde-Jorgensen H., Gee A.D., Baarsgaard Hansen S., Gjedde A. (1998). Cerebral bloodflow changes evoked by two levels of painful heat stimulation: a positron emission tomography study in humans, Eur J Pain, 2, 95-107.

T

275. Tajet-Foxell B., Rose F.D. (1995). Pain and pain tolerance in professional ballet dancers, Br J Sports Med, 29, 31-34.

276. Takahashi L.K., Baker E.W., Kalin N.H. (1990). Ontogeny of behavioral and hormonal responses to stress in prenatally stressed male rat pups, Physiol. Behav, 47, 357-364.

277. Taylor D.V., Boyajian J.G., James N., Woods D., Chicz-Demet A., Wilson A.F., Saudman C.A. (1994). Acidosis stimulates beta-endorphin release during exercise. J. Appl. Physiol., 77(4), 1913-1918

278. Terman G.W., Morgan M.J., Liebeskind J.C. (1986). Opioid and non-opioid stress analgesia from cold water swim: importance of stress severity, Brain Res, 372, 161-71.

279. Tesarz J., Schuster A.K., Hartmann M., Gerhardt A., Eich W. (2012). Pain perception in athletes compared to normally active controls: A systematic review with meta-analysis, Pain, 153, 1253-1262

280. Tillman D.B., Treede R.D., Meyer R.A., Campbell J. N. (1995). Response of C fibre nociceptors in the anaesthetized monkey to heat stimuli: correlation with pain threshold in humans, J Physiol (Lond), 485, 767-774.

281. Tracey I., Mantyh P.W. (2007). The Cerebral Signature for Pain Perception and Its Modulation, Neuron, 55, 377-391.

282. Treede R.D.**,** Kenshalo R.D.**,** Gracely R.H.**,** Jones A.K.P. (1999). The cortical representation of pain**,** Pain**,** 79 (2-3)**,** 105-111.

283. Trezza V., Vanderschuren L.J. (2008). Cannabinoid and opioid modulation of social play behavior in adolescent rats: differential behavioral mechanisms, Eur Neuropsychopharmacol, 18, 519-530.

284. Trost, Z., Fance, C., Thomas, J. (2011). Pain-related fear and avoidance of physical exertion following delayed onset musclesoreness. Pain 152 (7), 1540-1547.

285. Tsigos C., Chrousos G.P. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress, J Psychosom Res, 53, 865-871.

U

286. Urca G., Nof A., Weissman B.A., Sarne Y. (1983). Analgesia induced by electro-convulsive shock: brain enkephalins may mediate tolerance but not the induction of analgesia, Brain Res, 260, 271-277.

287. Urhausen A. (1993). Das Übertrainingssyndrom – Ein multifaktorieller Ansatz im Rahmen einer prospektiven Längsschnittstudie bei ausdauertrainierten Sportlern, Postdoctoral Thesis, Institute of Sports and Performance Medicine.

V

288. Valentino R.J., Van Bockstaele E. (2008). Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress, Eur. J. Pharmacol, 583, 194-203.

289. Valet M., Sprenger T., Boecker H., Willoch F., Rummeny E., Conrad B., Erhard P., Tolle T.R. (2004). Distraction modulates connectivity of the cingulo-frontal cortex and the midbrain during pain – an fMRI analysis, Pain, 109, 399-408.

290. Vaughan C.W. (2006). Stressed-out endogenous cannabinoids relieve pain, Trends Pharmacol. Sci, 27, 69-71.

291. Vaughan C.W., Connor M., Bagley E.E., Christie M.J. (2000). Actions of cannabinoids on membrane properties and synaptic transmission in rat periaqueductal gray neurons in vitro, Mol Pharmacol, 57, 288-295.

292. Vecchiet L., Marini I., Colozi A., et al. (1984). Effects of aerobic exercise on muscular pain sensitivity, Clin Ther, 6, 354-363.

293. Vettor R., Manno M., De Carlo E., Federspil G. (1987). Evidence for an involvement of opioid peptides in exercise-induced lipolysis in rats, Horm Metab. Res., 19, 282-283.

294. Vianna D.M., Carrive, P. (2005). Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat, Eur. J. Neurosci, 9, 2505-2512.

295. Vigano D., Rubino T., Parolaro D. (2005). Molecular and cellular basis of cannabinoids and opioids interactions, Pharamacology, biochemistry and behavior, 81, 360-368.

296. Vissing L., Iwamoto G.A., Fichs I.E., Galbo H., Mitchell J.H. (1994). Reflex control of glucoregulatory exercise response by group II and IV muscle afferents, Am. J. Physiol., 266 (3), R824-R830.

297. Vrinten D.H., Gispen W.H., Groen G.J., Adan R.A. (2000). Antagonism of the melanocortin system reduces cold and mechanical allodynia in mononeuro pathic rats, J. Neurosci, 20, 8131-8137.

W

298. Wagner J.A., Jarai Z., Batkai S., et al. (2001). Hemodynamic effects of cannabinoids: coronary and cerebral vasodilation mediated by cannabinoid CB1 receptors, Eur J Pharmacol, 423, 203-210.

299. Wagner K.J., Sprenger T., Kochs E.F., Tolle T.R., Valet M., Willoch, F. (2007). Imaging human cerebral pain modulation by dosedependent opioid analgesia: a positron emission tomography activation study using remifentanil, Anesthesiology, 106, 548-556.

300. Walentiny D.M., Vann R.E., Warner J.A., King L.S., Seltzman H.H., Navarro H.A., Twine Jr. C.E., Thomas B.F., Gilliam B.F., Gilmour B.P., Carroll F. I., Wiley. J.L. (2010). Kappa opioid mediation of cannabinoid effects of the potent hallucinogen, salvinorin A, in rodents, Psychopharmacology, DOI 10.1007/s00213-010-1827-6

301. Walker J.M., Hohmann A.G. (2005). Cannabinoid mechanisms of pain suppression, Pertwee R. ed. Cannabinoids - Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin, Germany: Springer, 509-554.

302. Walker J.M., Huang S.M., Strangman N.M., Tsou K., Sanudo-Pena M.C. (1999). Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide, Proc Natl Acad Sci USA, 96, 12198-12203.

303. Watkins L.R., Mayer D.J. (1982). Involvement of spinal opioid systems in footshock-induced analgesia: antagonismby naloxone is possible only before induction of analgesia, Brain Res, 242, 309-326.

304. Watkins L.R., Wiertelak E.P., Maier S.F. (1993). The amygdala is necessary for the expression of conditioned but not unconditioned analgesia, Behav. Neurosci, 107, 402-405.

305. Werka T., Marek P. (1990). Post-stress analgesia after lesions to the central nucleus of the amygdala in rats, Acta Neurobiol, 50, 13-22.

306. Wetterslev J., Thorlund K., Brok J., Gluud C. (2008). Trial sequential analysis may establish when firm evidence is reached in cumulative meta-analysis, J Clin Epidemiol, 61, 64-75.

307. Wiech K., Kalisch R., Weiskopf N., Pleger B., Stephan K.E., Dolan R.J. (2006). Anterolateral prefrontal cortex mediates the analgesic effect of expected and perceived control over pain, J. Neurosci, 26, 11501-11509.

308. Willow M., Carmody J., Carroll P. (1980). The effects of swimming in mice on pain perception and sleeping time in response to hypnotic drugs, Life Sci, 26, 219-224.

X

309. Xu X.J., Zhang X., Hokfelt T., Wiesenfeld-Hallin Z. (1995). Plasticity in spinal nociception after peripheral nerve section: reduced effectiveness of the NMDA receptor antagonist MK-801 in blocking wind-up and central sensitization of the flexor reflex, Brain Res, 670, 342-346.

Y

310. Yarnitsky D., Ochoa J.L. (1990). Studies of heat pain sensation in man: perception thresholds, rate of stimulus rise and reaction time, Pain, 40, 85-91.

311. Yarushkina N.I. (2008). The role of hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system hormones in controlling pain sensitivity, Neurosci Behav Physiol, 38, 759-766.

312. Ylinen, J., (2007). Pressure algometry, Appraisal, Australian Journal of Physiotherapy, 54, 3.

313. Yoshida E., Lobbezoo F., Fueki K., Naeije M. (2012). Effects of delayed-onset muscle soreness on masticatory function., Eur J Oral Sci, 120(6), 526-530.

314. Yu, J., Carlsson, L., Thornell, L. (2004). Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. Histochemistry and Cell Biology 121, 219-227.

Z

315. Zhang J., Hoffert C., Vu H.K., Groblewski T., Ahmad S., O' Donnell D. (2003). Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not infl ammatory chronic pain models, Eur J Neurosci., 17, 2750-2754.

316. Zhang R., Tomida M., Katayama Y., Kawakami Y. (2004). Response durations encode nociceptive stimulus intensity in the rat medial prefrontal cortex, Neuroscience, 125, 777-785.

317. Zainuddin Z., Newton M., Sacco P., Nosaka K. (2005). Effects of Massage on Delayed-Onset Muscle Soreness, Swelling, and Recovery of Muscle Function, J Athl Train., 40(3), 174–180.

318. Zimmer A., Zimmer A.M., Hohmann A.G., Herkenham M., Bonner T.I. (1999). Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice, Proc Natl Acad Sci USA, 96, 5780-5785.

319. Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals, Pain, 16, 109-110.

320. Zogopoulos P., Vasileiou I., Patsouris E., Theocharis S.E. (2013). The role of endocannabinoids in pain modulation, Fundam Clin Pharmacol., 1, 64-80, doi: 10.1111/fcp.12008.

321. Zubieta J.K., Heitzeg M.M., Smith Y.R., Bueller J.A., Xu K., Xu Y., Koeppe R.A., Stohler C.S., Goldman, D. (2003). COMT val158-met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor, Science, 299, 1240-1243.

11. СПИСЪК НА ПРОЕКТИ, ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИРЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Участие в научно-изследователски проекти:

„Промени в алкално-киселинната хомеостаза и някои олигоелементи при упражнения за скоростна издръжливост“, тригодишен (2006-2009), Фонд „Научни изследвания“– МОН, шифър: ВУ-Б-11/05.

„Внедряване на компютъризиран метод за измерване на болка при дразнене на дълбоки механорецептори и тестването му при здрави (тренирани и нетренирани) и при пациенти“, тригодишен проект (2008-2010); Университетски проект №: НИД-Н9/Д-72008-2010.

„Изграждане и пробация на научен комплекс за оценка на физиологични и биомеханични параметри при физическо натоварване за нуждите на кинезитерапията и спорта“, двугодишен (2008-2010), Фонд „Научни изследвания“ – МОН, № на проекта: RNF 01/0116, № на договора: ДОО2 – 54/10.12.2008.

„Биоинформатични изследвания върху структурата и активността на протеини и лекарствено-рецепторни взаимодействия“, двугодишен (2009-2011), Фонд „Научни изследвания“ – МОН. шифър: DVU 01/197.

„Лабораторен модул за обучение на студенти по анатомия, функционална анатомия, патоанатомия, ортотика и протезиране“, Целеви университетски, № на проекта: НИД-Н9/Ц-2 (2009).

ПРОЕКТ BG051PO001-3.3.05-0001 - „Наука и бизнес“, обучение на докторанти в европейски центрове и лаборатории. Едномесечно обучение в Pain Research Centre, с ръководител Prof. Mark I. Johnson, Leeds Metropolitan University, UK; октовмри-ноември 2013 година. ДО2-798/23.09.2013 (МУ-12-14/2013).

Youth Mobilization – Cultural Heritage and Athletic Valorization (YMC(H)A), European Territorial Cooperation Programme „Greece-Bulgaria“ 2007-2013, FUNCTIONAL STUDIES IN SPORTS AND KINESITHERAPY.

2. Учебници /Пособия

Пенчева Н., **Грънчарска К.** (2007) Физиология на човека и физиология на спорта: Тестове с избираеми и свободни отговори. Част I: нервно-мускулна физиология, сетивност, моторика, вегетативни функции и висша нервна дейност. Университетско издателство „Неофит Рилски“ – Благоевград.

3. Публикации

1. Pencheva N., **Grancharska K.** , Bocheva A., Dzambazova E., Landzhov B., Malinova L., Bozhilova Pastirova A., Ovtscharoff W. (2012). Immunocytochemical study of CB1 receptors in rat's prefrontal cortex after immobilization stress. Compt. Rend. Bulg. Acad. Sci., 65(7), 1003-1008. (IF: 0.211) ISSN: 1310-1331.

2. Пенчева Н., Кокова М., **Грънчарска К.**, Манчев А. (2012). Кинезиологични изследвания чрез регистрация на ЕМГ активност и измерване на силови параметри, Спорт и наука, 5, 319 – 333.

3. Пенчева Н., **Грънчарска К.**, Стоилов А. (2010). Оценка на дълбока тъканна болка преди и след натоварване при здрави хора, Спорт и наука (извънреден брой, част първа, Спорт, стрес, адаптация), 358-363.

4. Stoilov A., Pencheva N., Trenchev Iv., **Grancharska K.,** (2009). Stimulus – response relations of deep tissue pain obtained with computer-controlled pressure algometry, Proceedings of the Third International Scientific Conference – 3-7 June 2009, South-West University "Neofit Rilski" Blagoevgrad, 1, 92-97.

5. Pencheva, N.**, Grancharska K.**, Kadiisky I., Genova M. (2008). Blood gases and acid-base state before- and after graded dynamic exercise. Scientific Research Journal of SWU (Proceedings of the IX-th National Congress of the Bulgarian Society of Physiological Sciences), 1(1), 57 - 61.

6. Pencheva, N**.**, **Grancharska K.,** Nikolova E., Kotcev Ch. (2008). Experimental pain measurement in different exercise models. Scientific Research Journal of SWU (Proceedings of the IX-th National Congress of the Bulgarian Society of Physiological Sciences), 1 (1), 51-56.

7. Pencheva N., **Grancharska K.,** Kossev A. (2007). Methods for assessment of the specific pain symptoms after eccentric muscle contractions. (Proceedings of I Balkan Scientific Conference, The Science, the Education and the Art in 21st Century), 1 (1), 88-94.

4. Участия в научни срещи с абстракт

1. **Grancharska, K.,** Pencheva, N. (2013). Comparison of methods for assessment of exercise-induced mechanical hypoalgesia, 18th annual Congress of the European College of Sport Science, Barcelona – Spain, 26-29 June 2013, 638.

2. Pencheva N., Stoilov A., **Grancharska K.** (2011). Crosstalk between the exercise-induced mechanical hypolagesia and isokinetic muscle strenght, 16th annual Congress of the European College of Sport Science, Liverpool, UK, 06– 09 July 2011, 516.

3. **Grancharska K.**, Pencheva N., Stoilov A., Kotzev C. (2010). Changes in pain perception after graded cycling exercise in untrained, 15th Annual ECSS-Congress, 23-25 June 2010, Antalya, Turkey.

4. Pencheva N., **Grancharska K.**, Bocheva A., Dzhambazova E. (2010). Cannabinoid and opioid anti-nociceptive modulation of mechanical and thermal stimuli after limited motor activity, 15th Annual ECSS-Congress, 23-25 June 2010, Antalya, Turkey.

5. **Grancharska K.**, Pencheva, N**.** (2009). Pain threshold and pain tolerance in dancers, European Journal of pain, Abstracts of Pain in Europe VI (6th Congress of the European Federation of IASP ® Chapters (EFIC), 9-12 September 2009, Lisbon, Portugal, 926, 262.

6. **Grancharska K.**, Pencheva N., Nikolova E., Kotchev Ch. (2006). Impact of an incremental exercise on the pain. European College of Sport Science, 11th Annual Congress, July 08-11, 2006, Lausanne, Switzerland, PP3-01-88, 517-518.

5. Членство в научни организации:

1. Британско дружество по болка (British pain society).
2. Българско дружество по физиологични науки, клон София.
3. Европейска колегия по спортни науки (European College of Sport Science) – ECSS.

6. Други публикации и участия в научни срещи:

1. Pencheva N., Bocheva A., **Grancharska K.,** Barth T. (2009). Antinociceptive effects of des-octapeptide-insulin connected with enkephalins, Bulgarian chemical communications (Bulg. Chem. Comm.), 41 (2), 138-142. (IF: 0.320) ISSN: 0324-1130.

2. Pencheva N., Mladenova A., Tzatchev K., Genova M., **Grancharska K.** (2006). Effect of maximal exercise on haemorheological parameters in trained and untrained males. 14th Meeting of Balkan Clinical Laboratory Federation, 27-30 September 2006, Sofia, PP-F-015, 121-122.

12. ПРИЛОЖЕНИЯ

12. 1. Декларации за информирано съгласие на изследваните лица (**Приложение 1**)

ЮГОЗАПАДЕН УНИВЕРСИТЕТ “НЕОФИТ РИЛСКИ”
Благоевград 2700, ул. “Иван Михайлов” № 66
ФАКУЛТЕТ „ОБЩЦРДТВЕНО ЗДРАВЕ И СПОРТ‘‘
КАТЕДРА “КИНЕЗИТЕРАПИЯ”

ДЕКЛАРАЦИЯ ЗА ИНФОРМИРАНО СЪГЛАСИЕ

за участие в изследване с физическо натоварване

Долуподписаният:.....
.....
(Име, Презиме, Фамилия, Дата на раждане)

съм съгласен да участвам като опитно лице в изследване с физическо натоварване. Уведомен съм за начина на провеждане и целите на изследването. Уведомен съм също, че мога да напусна всеки момент без да давам обяснения за причините и знам, че това няма да попречи както на мен, така и на близките ми. Информиран съм, че ще бъда запознат с резултатите от това изследване ако желая от проф. д-р Н. Пенчева.

Задължавам се да спазвам следните условия: *1. Да не употребявам алкохол и лекарствени вещества един ден преди изследването; 2. Да не употребявам храна 2 часа преди изследването; 3. да не пуша 2 часа преди изследването.*

ПОДПИС:.....

CONSENT FORM

TITLE OF STUDY: Characterization of the presentation of delayed onset muscle soreness induced using a 'finger – trigger' device

Principal Investigators: Kristina Grancharska

Please initial all boxes as appropriate:

I confirm that I have read and understood the information sheet for the above study and understand what is expected of me ☐

I understand that my participation is voluntary and that I am free to withdraw from the study at anytime and without needing to give a reason ☐

I give my consent that any written record of my contribution(s) will be anonymised by use of a subject number and my initials ☐

I confirm that I have been given the opportunity to ask questions and received adequate answers regarding the study ☐

I agree that the Chief Investigator, stores my coded data in a locked cabinet for a maximum of 10 years. ☐

Your name (print)…..…… **Investigator name (print)……**

Your signature…… **Investigator signature…….**

Date …….. **Date ……..**

Data Protection Act
I understand that data collected about me during my participation in this study will be stored on computer and that any files containing information about me will be made anonymous.
I agree to Leeds Metropolitan University recording and processing this information and that this information will be used by for dissertation projects, and may be presented in other academic forums (e.g., academic journals, at conferences, or in teaching). I understand that information will be used only for these purposes and my consent is conditional upon the University complying with its duties and obligations under the Data Protection Act.
Your signature ……. Date ……

Thank you for this information. Please do not hesitate to contact us if you have any questions.

12.2. Протоколи от проведените изследвания (**Приложение 2**)

ИМЕ:
ШИФЪР:

1. **Антропометрични показатели:** Възраст (год) ……Ръст (см) ……..

   Тел.маса (кг) …….BMI (кг/м^2)…….

2. **Hand – held pressure algometry of the GASTROCNEMIUS SOLEUS MUSCLE: (slope 50 kPa/s, probe 1cm^2)**

   При този метод на алгометрия се определя САМО болков праг

   (стойност на налягането, при която стимулът става болезнен).

Преди и след натоварване:

ЛЯВ КРАК - PDT – pressure - pain detection threshold (kPa)			**ДЕСЕН КРАК- PDT – pressure - pain detection threshold** (kPa)	
Точки(Location)	**ПРЕДИ**	**СЛЕД**	**ПРЕДИ**	**СЛЕД**
T. 1: distal medial GS head (вътрешна страна долу)				
T. 2: distal lateral GS head (външна страна долу)				
T. 3: middle medial GS belly (вътрешна страна горе)				
T. 4: middle lateral GS belly (външна страна горе)				
T. 5: origin medial (вътрешна страна)				
T. 6: origin lateral (външна страна)				
T. 7: insertion				
T. 8: skin – periosteum site				

CASE REPORT FORM

TITLE OF THE STUDY

Characterisation of the presentation of delayed onset of muscle soreness (DOMS), using a 'finger – trigger' device

Principal Investigator:
Kristina

Supervisor:
Mark I Johnson
Participant code:
Contains
1) Anthropometrics
2) Pain assessment
3) Skin sensation test
4) Pressure pain thresholds
5) Pain assessment
6) 'Trigger – finger' exercise
7) Subject's mapping the muscle soreness
8) Appendices

Note: …….

1) Anthropometrics
Age (yrs):…….. Dominant hand:……..
Sex:
Weight from Seca Scales (kg):
Height from Seca measure ruler (cm):
Nondominat Forearm circumference (cm):

	baseline	Immed. after	24 hrs after	48 hrs after
Girth				

Dominat Forearm circumference (cm):

	baseline	Immed. after	24 hrs after	48 hrs after
Girth				

2) Pain assessment – McGill – 4 times;

3) Grip strenght of both hands (pounds):

	Measurement 1		Measurement 2		Measurement 3		Mean	
	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right
1. Baseline								
2. Immediately after								
3. 24 hours after								
4. 48 hours after								

4) Skin sensation test (mm):
*The measurement is taken over the point of medial muscle belly.

	Baseline		Immed. after		24 hours after		48 hours after	
	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right
P 1								

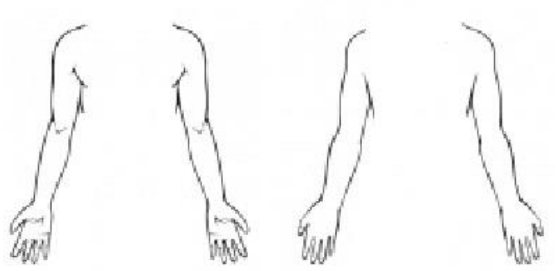
5) Pressure pain thresholds (kPa):
Body site: Arm – anterior:

1. Point 1 - Origin – about 1 cm above medial epicondyle;
2. Point 2 - … - about 1 cm under medial epicondyle;
3. Point 3 – LB – muscle belly lateral;
4. Point 4 – MB – muscle belly medial.
5. Point 5 – Muscle tendons (fingers flexors) – around the middle of the forearm
6. Point 6 – above 1 cm of the Radial styloid process (in the middle of forearm)

	Baseline		Immed. after		24 hours after		48 hours after	
	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right
Point 1								
Point 2								
Point 3								
Point 5								
Point 6								

6) 'Finger trigger' device exercise:
The participants will make consequences of flexion/extension muscle contraction of the index finger of the non – dominant hand, pulling back/forward a trigger with a constant length of the spring (one and the same for all the participants). The muscle contraction will be followed by metronome, flexion will be done for 1 sec, and extension will be done for 2 sec. The finger trigger training will continue until exhaustion (as a marker will be taken when the trigger no longer touch the handle). The participants will make two experimental sets to exhaustion, between the sets, they will have 30 sec break.

Notes/Comments:……
…….
7) Map your muscle soreness/painful sensation over the pictures of the front and back side of the arm.



Anterior view Posterior view
Figure 2A. Arm points for the determination of pressure pain thresholds, by using algometer. (baseline)

8) Appendices:
8.1. Appendix 1: Short form McGill questionnaire

SHORT-FORM McGILL PAIN QUESTIONNAIRE – DOMS (‘finger – trigger’ device)

SUBJECT’S NAME:……CODE……..DATE……..

Instructions: Each of the words in the left column describes characteristic that pain can have.

A. YOU DISCRIBE PAIN AS (choose from the below):……

1. Throbbing	2. Shooting	3. Stabbing	4. Sharp
5. Cramping	6. Gnawing	7. Hot-burning	8. Aching
9. Heavy	10. Tender	11. Splitting	12. Tiring-exhausting 13.
Sickening	14. Fearful	15. Punishing-cruel	

B. <u>PLEASE CHECK THE ONE DESCRIPTOR BELOW THAT BEST DESCRIBES YOUR PRESENT PAIN.</u>

*ACUTE
*SHARP
*’WANT TO JUMP/ WITHDRAW’

<u>C. IS YOUR PAIN ?</u>
(check one word)

BRIEF
INTERMITTENT
CONTINUOUS

1. **PAIN AT REST:**

PLEASE MAKE AN "X" ON THE LINE BELOW TO SHOW HOW BAD YOUR PAIN IS RIGHT NOW.

NO PAIN |---------- | **WORST POSSIBLE PAIN**
0 mm **100 mm**

2. **PAIN AT FINGER FLEXION (NO RESISTANCE)**

PLEASE MAKE AN "X" ON THE LINE BELOW TO SHOW HOW BAD YOUR PAIN IS RIGHT NOW.

NO PAIN |---------- | **WORST POSSIBLE PAIN**
0 mm **100 mm**

3. **PAIN ON ‘FINGER – TRIGGER’ DEVICE (PULL AND RELEASE – SEVERAL TIMES):**

PLEASE MAKE AN "X" ON THE LINE BELOW TO SHOW HOW BAD YOUR PAIN IS RIGHT NOW.

NO PAIN |---------- | **WORST POSSIBLE PAIN**
0 mm **100 mm**

4. **OTHER MOVEMENT THAT PROVIDE PAIN:……**

PLEASE MAKE AN "X" ON THE LINE BELOW TO SHOW HOW BAD YOUR PAIN IS RIGHT NOW.

NO PAIN |---------- | **WORST POSSIBLE PAIN**
0 mm **100 mm**