

Meccanismi d'azione dell'analgesia con Agopuntura

Giuseppe Serafini

Cattedra di Anestesia, Rianimazione e Terapia del Dolore

Università degli Studi di Roma Tor Vergata

Il sistema algico è un sistema neuro-ormonale adattativo complesso, organizzato secondo circuiti omeostatici non-lineari, non-ergodico¹, in cui quindi l'elaborazione dell'informazione biologica avviene tanto in parallelo asincrono, quanto, almeno a livello percettivo corticale, in parallelo in priorità d'attenzione [3; 63; 68; 72; 91-95]. È un sistema strutturato ad architettura gerarchica, composto da 4 sottosistemi: sensoriale-discriminativo, motivazionale-affettivo, cognitivo-valutativo e di modulazione. L'evento doloroso, cioè, determina, nel soggetto in cui si verifica, un'esperienza complessa e diversificata che include:

- identificazione dello stimolo sensoriale in termini di localizzazione e di proprietà fisiche (*sottosistema sensoriale-discriminativo*);
- attivazione dei riflessi autonomici soprasspinali (ventilazione, circolazione, funzioni neuroendocrine), tonalità affettiva sgradevole e spinta motivazionale dell'organismo a reagire (*sottosistema motivazionale-affettivo*);
- elaborazione della stimolazione dolorosa (nocicezione) in termini di memorizzazione, comparazione con esperienze passate, apprendimento, capacità di astrazione (interpretazione e significato), attenzione e vigilanza, capacità di giudizio, intellettive, culturali, capacità di verbalizzazione (*sottosistema cognitivo-valutativo*);
- modulazione dell'impulso nocicettivo afferente. La modulazione del dolore è bipolare (a doppio senso, cioè) e quindi si può avere sia produzione di ipo-analgesia, sia intensificazione della sensazione dolorosa (*sottosistema di modulazione*).

I sottosistemi 1, 2 e 3 costituiscono il sistema algico propriamente detto, il 4 il sistema antinocicettivo. Questa suddivisione funzionale trova una diretta corrispondenza nella terapia antalgica che può appunto realizzarsi in due modi fondamentali: agendo sulle vie del sistema nocicettivo ovvero rinforzando il sistema antinocicettivo.

Nella terapia del dolore, soprattutto cronico, sono state approntate, negli anni, nuove

¹ “Non-ergodico” è un termine tecnico per indicare un sistema che ammette molti possibili stati di equilibrio, sistemi cioè in cui esistono obiettivi da raggiungere in mutuo conflitto per cui, se se ne raggiunge uno, si è dovuto rinunciare agli altri. Un esempio tipico è dato dal sistema immunitario: se si orienta, ad es., contro il virus influenzale, si rimane scoperti verso altri attacchi. Altro esempio, a noi più vicino, è il sistema algico, in cui la percezione del sintomo è ordinata gerarchicamente, nel senso che un nuovo o maggiore dolore “scaccia” il precedente.

strategie di intervento sia invasive (come l'applicazione di cateteri epidurali per il rilascio temporizzato di farmaci oppioidi) che non invasive (di carattere farmacologico e psicologico). Questi schemi e queste scelte, pur migliorando sensibilmente lo stato clinico dei pazienti, non hanno, in ogni caso, risposto completamente all'attesa terapeutica.

Lo sforzo in atto è quello di elaborare una strategia che faccia uso di tecniche diverse opportunamente associate per ottenere un'analgesia che non si accompagni a perdite o a riduzioni funzionali che compromettano, ad esempio, lo stato di coscienza del paziente. All'interno di questo ambito concettuale nuovo, in anni molto recenti sono state accettate in modo ufficiale dall'Organizzazione Mondiale della Sanità [76-78] e dal NIH [75] tecniche come l'agopuntura, un tempo consegnate alla mezza luce della esotericità e della incontrollabilità scientifica. Dal momento che l'agopuntura a scopo analgesico dovrebbe modulare molte funzioni del sistema nervoso centrale [106], sede naturale dell'elaborazione degli input sensoriali e anche nocicettivi, è necessaria l'analisi delle potenziali modificazioni funzionali di questo come risposta all'agopuntura. Unendo, dunque, l'agopuntura all'uso di avanzate tecniche di imaging funzionale nell'uomo, come la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) è stato possibile al gruppo di ricerca dell'Istituto di Bioimmagini e Fisiologia Molecolare del CNR ottenere un importante risultato di identificazione delle modulazioni funzionali indotte dall'agopuntura sulla funzione cerebrale. Al termine delle analisi i risultati hanno mostrato che l'agopuntura era in grado di attivare aree cerebrali solitamente attivate nel corso di processi nocicettivi e comunque dolorosi (nello specifico sono risultate significativamente attivate le aree del Cingolo Anteriore sinistro, delle Insulae bilateralmente, il Giro Frontale Superiore di sinistra e i Giri Frontali Medio e Inferiore di destra). Questo inatteso risultato, in quanto evidente in assenza di percetto doloroso, ha portato a

considerazioni e ad analisi sfociate in una interpretazione piuttosto importante che può essere riassunta in due punti fondamentali: il primo definisce il fatto che l'agopuntura provoca effetti biologicamente misurabili nel sistema nervoso centrale; il secondo induce a pensare che l'azione dell'agopuntura si manifesta come un'attivazione che disturba e in qualche modo inganna i centri nervosi coinvolti nell'elaborazione dei segnali nocicettivi e del dolore attivandoli con messaggi che falsificano il senso dell'elaborato neurale. Questo "inganno" funzionale indurrebbe una dissoluzione delle caratteristiche percettive, cioè del dolore [5].

Dal punto di vista strettamente scientifico, sono state formulate diverse ipotesi circa il meccanismo d'azione dell'efficacia antalgica dell'agopuntura. Nessuna, da sola, è in grado di fornire spiegazioni esaustive. Riteniamo che la capacità antalgica sia il risultato di complessi meccanismi che, entrando in azione variamente associati, sono in grado di beneficiare la percezione algica, riducendo o contribuendo ad annullare il dolore.

Nell'evidenza che l'agopuntura manifesta reazioni locali, regionali e sistemiche, alla luce dei moderni concetti di modulazione del dolore, ci è stato possibile rivisitare le ipotesi sui meccanismi d'azione dell'efficacia analgesica dell'agopuntura in una sistemazione più consona alle prospettive scientifiche. Possono essere distinti, ad arte, a seconda del segmento modulato, in meccanismi di:

MODULAZIONE PERIFERICA

- a. modulazione simpatica periferica
- b. modificazione delle proprietà di conduzione delle fibre nervose periferiche
- c. modificazione del potenziale di placca e desensibilizzazione dei recettori → corrente di demarcazione
- d. stimolazione del campo recettivo inibitorio dei neuroni WDR del tatto spinotalamico

MODULAZIONE SEGMENTARIA

- a. modulazione all'ingresso
- b. attivazione del circuito inibitorio propriospinale
- c. stimolazione delle colonne dorsali (DCS)

MODULAZIONE SOPRASEGMENTARIA

- a. DNIC (Diffuse Noxious Inhibitory Controls)
- b. attivazione del "central control trigger" e attivazione reticolare
- c. attivazione talamica
- d. attivazione dell' "ansa analgesica mesolimbica"
- e. attivazione corticale

AZIONE SUI SISTEMI NEUROCHIMICI DI MODULAZIONE

- a. oppioidi endogeni
- b. serotonina, noradrenalina, GABA, acetilcolina, ossitocina
- c. colecistochinina (CCK-8)

1. MODULAZIONE PERIFERICA

Si sa da molto tempo che quando un danno tissutale avvia gli impulsi nocicettivi, alcuni di questi segnali vengono trasmessi alle cellule del corno anteriore per stimolare i nervi motori somatici, mentre altri al corno anterolaterale per stimolare i corpi cellulari dei neuroni pregangliari. Alcuni possibili meccanismi di auto-eccitazione nocicettoriale, tramite i riflessi spinali, sono dati da:

A, un riflesso somatomotore indotto dalla stimolazione di nocicettori cutanei o muscolari causa contrazione riflessa dei muscoli scheletrici con un incremento di tensione o uno spasmo dei muscoli stessi, che, a loro volta, agiscono con meccanismo a feedback positivo per eccitare ulteriormente e sensibilizzare i neuroni del corno dorsale e ventrale e produrre un meccanismo riflesso anormale, con il risultato netto di un aumento della tensione o dello spasmo muscolare.

B, Un meccanismo simile di produzione di spasmo muscolare scheletrico, iniziato dalla convergenza di afferenti primari viscerali e cutanei, su neuroni viscerosomatici del tratto spinotalamico. La stimolazione dei neuroni somatomotori nel corno anteriore provoca spasmo muscolare scheletrico riflesso, che agisce come feedback positivo per creare e sostenere un circolo vizioso.

C, La stimolazione nociva di fibre afferenti primarie provoca input nocicettivi, alcuni dei quali sono trasmessi ai neuroni del tratto spinotalamico. Altri impulsi vanno al corno anterolaterale per stimolare le fibre pre-gangliari simpatiche (efferenti), causando

vasocostrizione, aumentato tono della muscolatura liscia, e cambiamenti chimici. Altri ancora agiscono come feedback positivo per incrementare ulteriormente l'input nocicettivo.

Quei riflessi possono essere condotti da spasmi motori somatici, viscerali o entrambi. L'aumento del tono simpatico conduce ad una vasocostrizione periferica, con conseguente riduzione della micro-circolazione nel tessuto lesa e nei muscoli adiacenti. Questa ischemia indotta può provocare un ulteriore aumento della sensibilizzazione dei nocicettori e inoltre aumenta l'input nocicettivo. Per di più questa risposta simpatica, spesso, gioca un ruolo importante in alcuni tipi di dolore persistente. L'efficacia dell'agopuntura, delle tecniche di rilassamento, massaggio, vibrazione periferica, stimolazione nervosa elettrica transcutanea, e altri metodi terapeutici interferendo sui tessuti periferici per interrompere i processi dolorosi, devono andare ad inibire gli spasmi muscolari riflessi e promuovere il flusso sanguigno per interrompere la vasocostrizione simpatica. Inoltre, tale attività può coinvolgere i processi di informazione nel corno dorsale, per inibire l'effetto dei messaggi nocicettivi e cortocircuitare il meccanismo di feed-back positivo, come proposero, originariamente, Melzack e Wall e, successivamente, numerosi studi sui meccanismi del corno dorsale fin dagli anni '70 e discussa nei Capitoli **“Modulazione segmentaria e Modulazione soprasedgmentaria”**.

a. modulazione simpatica periferica.

Cuello ha formulato l'ipotesi di un “cancello periferico” che si stabilirebbe per interazione di contatto tra l'afferenza sensitiva primaria ed i siti leganti dei gangli simpatici. L'attività di questi ultimi, favorita dall'agopuntura, è in grado di ridurre la liberazione antidromica di sostanza P (neuromediatore eccitatorio) da parte dei terminali periferici delle fibre nocicettive [15]. Un'ipotesi, poi, estremamente suggestiva è in grado di mettere in relazione l'azione dell'agopuntura con il ruolo dell'ischemizzazione nocicettoriale (con conseguente riduzione della velocità di

conduzione delle fibre afferenti relative e della loro frequenza di scarica) conseguente a meccanismi modulatori periferici. Questa ipotesi prende in considerazione la dimostrazione, al microscopio elettronico, di terminazioni simpatiche di tipo sinaptico su recettori somatici (corpuscoli del Pacini), indipendentemente dalle fibre vasomotorie simpatiche. Questo dato istologico conduce a formulare l'ipotesi dell'esistenza di una modulazione simpatica periferica, da parte della stimolazione cutanea con aghi, dell'input sensoriale [90].

b. modificazione delle proprietà di conduzione delle fibre nervose periferiche.

Numerose sperimentazioni fanno ritenere che l'elettrostimolazione comporti anche modificazioni delle proprietà di conduzione delle fibre nervose periferiche [6; 49], tali da indurre uno stato di anestesia locale [7]. È stato provato, anche per l'elettroagopuntura, da neurogrammi su nervi isolati, che i potenziali d'azione delle fibre mielinizzate a diametro maggiore risultano depressi da correnti elettriche ripetute [52]. Alle basse frequenze, anche le fibre amieliniche più fini subiscono analoghe alterazioni funzionali [52].

c. modificazione del potenziale di placca e desensibilizzazione dei recettori → corrente di demarcazione

Descritta da Galvani nel 1843 [88], la corrente di demarcazione è il flusso elettronico che si genera, per differenza di potenziale, tra la parte lesa (relativamente elettronegativa) e la superficie intatta (relativamente elettropositiva) di un muscolo o di un nervo. Lomo, in esperimenti su animali, ha dimostrato che l'ipersensibilità da denervazione nel muscolo [25] può essere ridotta o abolita mediante stimolazione elettrica [59]. È stato evidenziato che, dal momento che molti punti di agopuntura corrispondono a punti motori [27; 28] ed a punti trigger [70], la corrente di demarcazione che si genera quando il tessuto muscolare è "danneggiato" dall'inserzione dell'ago, diversamente da forme esterne di

stimolazione in cui l'azione terapeutica cessa al cessare dello stimolo, può rilassare il muscolo, con un'azione che perdura per molti giorni, attraverso una riduzione dell'ipersensibilità muscolare all'acetilcolina, una modificazione del potenziale di placca ed una desensibilizzazione recettoriale [26].

d. stimolazione del campo recettivo inibitorio dei neuroni WDR del tratto spinotalamico

I neuroni del corno dorsale che sono eccitati da forme naturali di stimolazione cutanea, includono (a) neuroni meccanocettivi a bassa soglia e termorecettivi a bassa soglia (classe 1); (b) neuroni NS (classe 3) e neuroni WDR o multirecettoriali (classe 2). I neuroni meccanorecettivi a bassa soglia sono eccitati solo dallo stimolo tattile, movimento dei capelli e altri tipi di stimoli tattili innocui, mentre quelli termorecettivi sono eccitati dallo stimolo termico innocuo. I neuroni NS (classe 3) rispondono solo agli stimoli che produrrebbero o in realtà inducono danno tissutale e sono di due tipi: 3a, che possono essere eccitati da afferenti nocicettivi A δ e 3b, che invece possono essere eccitati da entrambi gli afferenti A δ e C, sia dalla cute che dal muscolo. I neuroni WDR (classe 2) rispondono al movimento dei capelli e a deboli stimoli meccanici, ma rispondono massimamente agli stimoli intensi e potenzialmente dannosi per i tessuti, o che causano realmente danno; essi sono il punto nodale di tutta l'inibizione discendente; il neurone WDR è un sistema nocicettivo aspecifico cioè non riceve impulsi solo dal sistema nocicettivo ma anche da quello tattile e termico non nocicettivo (su questo convergono sia afferenze nocicettive che non nocicettive cutanee ma anche muscolari e viscerali). Sullo stesso neurone possono convergere afferenze di diverso tipo con un campo recettivo periferico specifico. Oltre ai campi recettivi eccitatori, i neuroni WDR (e forse quelli NS) del tratto spinotalamico (STT) possiedono campi recettivi inibitori.

Il campo recettivo dei WDR del STT è estremamente particolare ed ha alcune

caratteristiche che lo rendono assolutamente peculiare rispetto a quello di tutti gli altri neuroni: ha una area centrale in cui può ricevere sia stimoli dolorifici che non; quest'area è circondata da una mal definita area periferica più grande in cui il neurone può ricevere soltanto impulsi nocicettivi, il tutto circondato da un'ampia area che va a costituire un campo recettivo inibitorio per quel neurone. E' stato dimostrato che la stimolazione, anche mediante agopuntura, di fibre A β alla periferia del campo recettivo facilitatorio ha una azione inibente sul neurone di convergenza [22]. Benché questi effetti possano apparire simili a quelli descritti come controlli inibitori nocivi, essi possono differire per il fatto che di solito l'inibizione non va oltre la stimolazione e la maggior parte dei meccanismi inibitori rimangono attivi dopo sezione del midollo spinale.

2. MODULAZIONE SEGMENTARIA

È questo il livello in cui l'impulso doloroso viene modulato prima che sia trasmesso ai sistemi discriminativi e motivazionali. Questo implica che l'impulso è modificato prima che sia localizzato e definito nei termini delle sue proprietà fisiche, prima che sia valutato in termini di passata esperienza e prima che sia attivato il sistema discendente di controllo.

a. modulazione all'ingresso

È la conosciutissima "gate control theory" formulata nel 1965 da Melzack e da Wall [72]. Secondo questa ipotesi, la prima modulazione fisiologica dello stimolo nocicettivo si attua nel midollo spinale, più precisamente nella sostanza gelatinosa di Rolando, dove le afferenze sensitive primarie di diverso diametro convergono su un interneurone inibitorio, interposto tra 1° e 2° tratto della via spino-talamica. Se vengono sollecitate le afferenze mieliniche, di calibro maggiore A β , come accade durante l'elettrostimolazione o durante altre forme di iperstimolazione (agopuntura, massaggio, vibrazione, ecc.), l'interneurone inibitorio si attiva, con conseguente ostacolo alla progressione sovraspinale delle informazioni afferenti (il

cancello si chiude); se sono invece sollecitate le fibre più sottili A δ e C, adibite prevalentemente al trasporto dello stimolo doloroso, l'interneurone si disattiva ed il passaggio dell'input ai centri sovraspinali risulta facilitato (il cancello si apre). In altri termini, l'agopuntura attraverso l'inibizione del sistema somato-sensoriale, bilancerebbe l'input midollare che, in condizione di dolore acuto o cronico, risulta essere sbilanciato a favore delle fibre più fini.

b. attivazione del circuito inibitorio propriospinale

Nel complesso sistema del controllo inibitorio delle afferenze nocicettive va inclusa anche l'osservazione eseguita in primati, che un'alta percentuale di neuroni spinotalamici che inviano il loro assone al nucleo talamico VPL è inibita da stimoli nocicettivi meccanici e termici di ampie aree del corpo dell'animale. Stimoli non nocicettivi sono inefficaci. Vale a dire, si notò che uno stimolo nocicettivo che attiva una certa popolazione neuronale, ne disattiva, contemporaneamente, una più ampia. I neuroni inibiti appartengono sia alla categoria dei neuroni non specifici o di convergenza o WDR che ai neuroni nocicettivi specifici ad alta soglia NS. L'inibizione descritta viaggia prevalentemente su fibre A δ e poiché rimane dopo sezione spinale cervicale, deve essere considerata come mediata da vie inibitorie propriospinali. L'organizzazione propriospinale inibitoria può avere una notevole importanza per spiegare il meccanismo analgesico di stimoli cutanei profondi come l'agopuntura, la moxibustione o la mesoterapia [24].

c. stimolazione delle colonne dorsali (DCS)

Il tratto delle colonne dorsali, cioè i fascicoli gracile e cuneato, sono vie rapide di conduzione e conducono la sensibilità tattile e propriocettiva. Sulla stimolazione di tale sistema si basano alcuni sistemi di terapia come la TENS, l'agopuntura, la laserterapia, i massaggi, perché la stimolazione di queste vie con tali metodiche è diretta. In ogni caso questa modalità terapeutica può *chiudere la porta al dolore* attraverso l'interazione con i circuiti spinali inibitori intrinseci. In effetti, la stimolazione delle colonne dorsali (DCS) produce analgesia attraverso

l'attivazione sia ortodromica che antidromica dei collaterali delle afferenze primarie a largo diametro (A β) che terminano nel corno dorsale. Poiché l'effetto inibitorio che si produce sui neuroni WDR è stato riportato in animali con sezione spinale, si pensa che esso sia causato da meccanismi spinali segmentari [113]. Questo fatto, insieme alla rilevazione che l'analgesia prodotta dalla DCS non è reversibile col naloxone, suggerisce che l'azione analgesica è comparabile con quella generata dalla stimolazione delle fibre periferiche a grosso diametro.

3. MODULAZIONE SOPRASEGMENTARIA

Il concetto di modulazione discendente del dolore è stato proposto durante la prima parte del ventesimo secolo da Sherrigton che aveva sottolineato che l'interazione tra i sistemi facilitatori ed inibitori era critica nell'integrazione dell'informazione sensoriale, dalle strutture del corpo al cervello. Nel 1954 Hagbarth e Kerr furono i primi a mettere in evidenza che le fibre corticospinali erano in grado di influenzare la trasmissione afferente e la conduzione a livello spinale. In seguito altri hanno confermato queste osservazioni e hanno dimostrato che i meccanismi sopraspinali influenzano gli impulsi sensoriali lungo le vie ascendenti del midollo spinale. L'esistenza di sistemi modulatori discendenti specifici della nocicezione fu, per la prima volta, proposta nel 1965 da Melzack e Wall come parte della loro teoria del controllo a cancello del dolore. Essa include la proposta che la modulazione delle cellule della colonna dorsale potrebbe essere influenzata da impulsi che provengono dalla periferia ma anche da sistemi discendenti sovraspinali. Sebbene la presenza di un tale sistema fosse puramente speculativa, ricevette notevole supporto da un lavoro di Reynolds nel 1969, in cui si evidenziava che la stimolazione elettrica della PAG risultava sufficiente per eseguire una laparotomia nel topo. Queste osservazioni furono presto confermate ed ampliate da Liebeskind e coll. nella prima parte degli anni '70, che etichettarono il fenomeno come *stimolazione che produce analgesia*(SPA).

Negli esperimenti sugli animali in cui è stata operata la resezione trasversa del midollo spinale al terzo metamero toracico, l'effetto dell'analgia con agopuntura è stato quasi completamente abolito, pur aumentando l'intensità della stimolazione da 3 mV a 9 mV.

Risultati analoghi si sono ottenuti con stimolazioni di elettroagopuntura a bassa ed elevata frequenza. Questo implica che le strutture soprasedgmentali costituiscono un elemento importante di mediazione dell'effetto prodotto dall'agopuntura.

a. DNIC (Diffuse Noxious Inhibitory Controls)

Il controllo inibitorio diffuso indotto da uno stimolo nocicettivo (DNIC) è un sistema inibitorio discendente, originato dalla sostanza grigia periacquedottale e dal complesso del locus coeruleus, descritto da Le Bars e coll. [54-55]. Esso esercita un'azione discendente inibitoria sui neuroni della lamina V, in particolare il WDR.

Questa azione è mediata da vari trasmettitori, specie da serotonina e noradrenalina, e sembra di natura pre-sinaptica. In pratica, un'ampia varietà di stimoli periferici nocicettivi, compresa l'agopuntura [53; 56], applicati ad aree del corpo distali rispetto alle aree del campo recettivo del neurone stimolato, è in grado di inibire l'attività di quest'ultimo. In altri termini, se si produce uno stimolo nocivo questo attiva una popolazione x di neuroni nocicettivi specifici o di convergenza ma contemporaneamente ne inibisce una più ampia quantità. Finalisticamente, il risultato dell'azione inibitoria del DNIC è quello di modulare l'attività dei WDR e facilitare l'emergere di uno specifico segnale nocicettivo da un rumore di fondo non specifico. In questa maniera il controllo inibitorio discendente non solo tenderà, in via riflessa, a ridurre l'intensità dell'input nocicettivo ma, riducendo il rumore di fondo somestesico non specifico, contribuirà a definire qualitativamente ed a localizzare l'input nocicettivo stesso.

b. attivazione del “central control trigger” ed attivazione reticolare

Questo meccanismo va ad allargare quanto detto in precedenza a proposito della stimolazione delle colonne dorsali. A quanto già scritto, c'è da aggiungere che il tratto delle colonne dorsali ed il sistema post-sinaptico delle colonne dorsali agiscono anche come “central control trigger” che è in grado di attivare una potente influenza inibitoria discendente, attraverso la via cortico-spinale laterale e, soprattutto, attraverso una parte della formazione reticolare che agisce come “central biasing mechanism” (che potremmo tradurre con “meccanismo d'influenza centrale”), che influenza non solo le proprietà modulatrici del meccanismo a cancello [2; 107; 108], ma le vie di trasmissione del segnale algico a tutti i livelli sinaptici del sistema somato-sensoriale [69; 71], esitando così in un'azione analgesica ampia e duratura [96-98; 109].

c. attivazione talamica

Alcuni autori sostengono che, dal punto di vista neurofisiologico, l'azione analgesica dell'agopuntura dipende dalla risultante dell'interazione di differenti inputs sensoriali nel sistema nervoso centrale. Più specificatamente, gli impulsi originati dal punto d'agopuntura e quelli derivanti dal sito doloroso sono processati ed integrati negli stessi siti centrali in modo da produrre l'effetto inibitorio sul dolore. In particolare, si ritiene che l'azione integrativa più importante abbia luogo a livello talamico [64-65] principalmente nel nucleo parafascicolare (Pf) e centrale laterale (CL) del talamo mediale [10]. Si è giunti ad ipotizzare “the two-gate control theory”, la teoria dei due cancelli, in cui il secondo cancello andava collocato a livello talamico, che veniva chiuso dall'azione agopunturale. A sostegno di ciò, i rilievi sperimentali ottenuti soprattutto da Chang, del Brain Research Institute di Shanghai, su ratti

albinos e conigli dimostravano che le risposte a stimoli dolorosi dei neuroni del Pf e del CL potevano essere inibite da stimolazione elettrica a media frequenza di alcuni punti d'agopuntura. Mentre una stimolazione forte provocava un'esacerbazione delle risposte a stimoli dolorosi dei nuclei suddetti. A mio parere, i lavori menzionati danno rilievo ad un'azione modulatrice talamica secondaria all'attivazione delle colonne dorsali così come descritto da Melzack e rammentata nel capitolo "**attivazione del "central control trigger" e reticolare**".

d. attivazione dell' "ansa analgesica mesolimbica"

Il nucleo accumbens, una delle strutture neuroniche più importanti del sistema limbico, viene alimentato dalle fibre serotoninergiche che originano dal nucleo del raphe dorsale (NRD).

Le microiniezioni di morfina nella sostanza grigia periacquedottale (PAG) di coniglio producono un notevole effetto analgesico, che può essere parzialmente soppresso dall'iniezione nel nucleo accumbens di cinanserina, agente bloccante i recettori della serotonina (5-HT). Questo implica che tale effetto è mediato dalle vie serotoninergiche che partono dalla PAG e dal NRD e si portano al nucleo accumbens [48].

Allo stesso modo l'effetto analgesico indotto dall'iniezione di morfina intra-PAG può essere bloccato dall'iniezione intra-accumbens di naloxone o di anticorpi anti-metencefalina, indicando che la metencefalina presente nel nucleo accumbens è coinvolta in questa reazione [123].

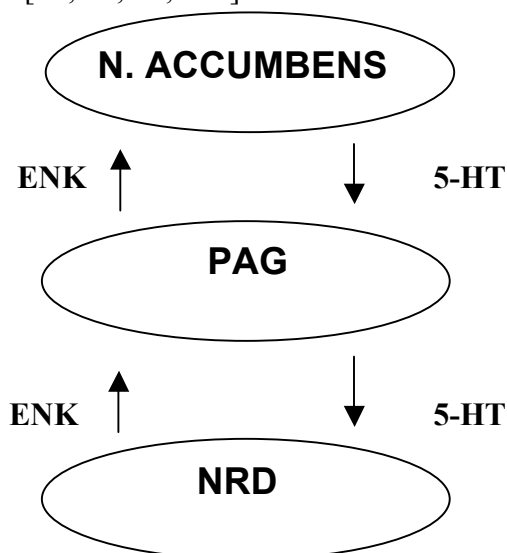
Le fibre serotoninergiche ascendenti che provengono dalla PAG o dal NRD raggiungono il nucleo accumbens determinando liberazione di 5-HT, questo a sua volta attiva gli interneuroni encefalinergici presenti nel nucleo accumbens esercitando un effetto analgesico [48; 119].

I risultati sperimentali dell'Accademia di Medicina Tradizionale Cinese hanno dimostrato che la stimolazione del nucleo accumbens produce un'attivazione del NRD. Questo effetto può venire bloccato dall'iniezione di naloxone nella PAG, il

che implica l'esistenza di una via discendente che dal nucleo accumbens raggiunge la PAG utilizzando gli oppioidi endogeni come neurotrasmettitori.

Si presume quindi che possa esistere un sistema neuronico di collegamento tra la PAG, il NRD ed il nucleo accumbens, che utilizza la 5-HT e l'encefalina come neurotrasmettitori [48].

A titolo sperimentale si è definito questo presunto sistema neuronico come "Ansa analgesica mesolimbica" [32; 48; 61; 119].



Si ritiene che la stimolazione indotta dall'agopuntura determini l'attivazione di questo sistema.

Tale ipotesi può contribuire alla spiegazione di due fenomeni:

1) l'analgesia prodotta dall'agopuntura può essere notevolmente ridotta mediante microiniezioni di agenti bloccanti i recettori corrispondenti in qualunque anello dell'ansa.

2) L'effetto prodotto dall'agopuntura può durare per lungo tempo, presumibilmente a causa del ripetersi dello stimolo eccitatorio nell'ansa neuronica.

Un'altra possibilità di attivazione della PAG da parte del nucleo accumbens si realizza attraverso un meccanismo di disinibizione. Il nucleo accumbens ha un'azione inibitrice sull'abenua, che a sua volta la esercita sulla PAG. Questo meccanismo può essere considerato collaterale alla presunta ansa analgesica mesolimbica.

e. attivazione corticale

Sembra che la corteccia cerebrale esplichi una complessa azione modulatrice sulle strutture sottocorticali coinvolte nei meccanismi del dolore e dell'analgesia. Ad esempio, la corteccia sensomotoria S II esercita un'azione inibitrice sul nucleo parafascicolare (Pf), mentre la corteccia sensomotoria S I ha un'azione di facilitazione sul Pf stesso [1].

Secondo il Professor Chang Hsiang-Tung del Brain Reserach Institute di

Shanghai, la stimolazione con elettroagopuntura a bassa frequenza può attivare i nuclei megalocellulare e centro-mediale dell'ipotalamo, questo può determinare il prodursi di un effetto inibitorio sul Pf attraverso tre tipi di interazione neuronica:

- inibizione diretta
- effetto inibitorio mediato dal nucleo caudato
- azione inibitrice sulla corteccia motoria che a sua volta esplica un'azione di facilitazione sul Pf [9]

4. AZIONE SUI SISTEMI NEUROCHIMICI DI MODULAZIONE

Una lista sempre più vasta di sostanze neurattive rientra in questi criteri per la classificazione come neuromodulatore nel sistema nervoso centrale (SNC). Gli effetti peptide-mediati differiscono in diversi modi dai più classici neurotrasmettitori *veloci* (chiamati così per la rapidità dell'inizio d'azione e conclusione dell'azione stessa) come il glutammato. Il termine *neuromodulazione* descrive la lentezza dell'inizio d'azione e della comparsa degli effetti di una sostanza, frequentemente un peptide, e può esserci una certa distanza dal punto di rilascio (volume di trasmissione). In questo modo, i neuromodulatori sembrano ormoni nei loro ampi effetti raggiunti (sebbene l'ultimo termine è usualmente riservato per gli agenti che originano nel sangue). Nella neurobiologia contemporanea, questi termini vengono usati meno frequentemente da quando è diventato chiaro che le caratteristiche ormonali, neuromodulatorie e neurotrasmettitoriali di una particolare sostanza neuroattiva rilasciata possono variare in funzione del sito di rilascio, ambiente neurochimico e precedente storia dello stimolo. In generale, i tempi di inizio e fine dell'azione di un agente neuroattivo rilasciato dipendono dalla quantità rilasciata, la sua degradazione e captazione (ad es., attraverso i trasportatori), la sua sede recettoriale e i suoi meccanismi d'azione (ad es., effetti sui canali ionici, attivazione enzimatica o induzione genica). Tutti questi fattori possono mostrare una considerevole flessibilità nei loro effetti come risultato di un'attività neuronale prioritaria o concorrenziale.

Ad ogni modo sono numerosi gli studi che evidenziano un'azione dell'agopuntura sul sistema neurochimico della modulazione. Squadre di neurofisiologi e ricercatori si sono applicati per studiare i possibili meccanismi d'azione dell'agopuntura, dell'elettroagopuntura, dell'elettroterapia e di altri metodi di stimolazione fisica, ed i modi di analizzare la stimolazione periferica da parte del SNC ed anche il modo di rispondere del SNC a questi stimoli. L'integrità del sistema nervoso periferico e del midollo spinale è considerata necessaria per l'applicazione dell'agopuntura. È conosciuto bene che i punti di agopuntura sono "silenziosi" nella paraplegia flaccida (paraplegia sensoriale e motoria completa) o in animali sperimentali nei quali è stata effettuata la resezione chirurgica del midollo spinale. [62]

Uno stimolo periferico, a seconda della sua qualità, può stimolare specifici nuclei del SNC e provocare increzione o modificazioni qualitative di neurotrasmettitori nel sangue ed nel liquor. Inoltre, ogni combinazione di punti di agopuntura può attivare circuiti nervosi diversi. Questo punto di vista si è basato su due risultati sperimentali dell'Università di Pechino. [74]

Esperimenti su conigli hanno mostrato che eseguendo l'anastomosi arteriosa di due conigli (tecnica di circolazione crociata), l'analgnesia non solo si realizza nel coniglio sul quale è applicata l'agopuntura ma anche nel coniglio in cui il sangue del primo circolava attraverso l'anastomosi. Inoltre, una trasfusione di liquor da un gatto-donatore, nel quale si era ottenuta l'analgnesia attraverso l'agopuntura, ad un gatto-recettore causava a quest'ultimo analgnesia dopo 10 minuti. Da allora poi, l'esistenza (dopo applicazione di agopuntura) di sostanze neuromodulatrici del dolore presenti nel liquor e nel sangue periferico è stata confermata ripetutamente [19; 43; 66; 80; 84; 82; 85; 87 ; 99; 106; 124; 125; 126].

Di sicuro una comprensione più completa sulla complessità dell'effetto analgesico della agopuntura ci viene dagli studi condotti sulla cinetica dei neurotrasmettitori e neuromodulatori cerebrali [45].

a. Opioidi endogeni

Alla sommità dei nuclei del raphe si trova la sostanza grigia periacquedottale (PAG), la cui importanza è stata ampiamente provata non solo per l'analgesia da morfina, ma anche per l'analgesia con agopuntura.

La microiniezione di morfina nella PAG produce un notevole effetto analgesico; la beta-endorfina produce un effetto analgesico 20 volte più potente della morfina.

Le ricerche condotte nell'Istituto di Fisiologia di Shanghai hanno dimostrato che nei conigli particolarmente sensibili all'agopuntura si verifica una rapida liberazione di oppioidi endogeni, mentre nei conigli che non reagiscono all'agopuntura la liberazione di oppioidi endogeni si mantiene allo stesso livello del periodo di controllo [112].

Nella PAG sono presenti svariati peptidi oppioidi, comprese la beta-endorfina, l'encefalina e la dinorfina. Essi possono agire su recettori oppioidi di tipo diverso, quali i recettori mu, kappa, delta ed altri.

È noto che usando il naloxone si possono bloccare tutti i recettori per gli oppioidi, in tal modo però non è possibile individuare quali oppioidi endogeni siano effettivamente in gioco.

Per risolvere questo problema sono stati adottati due diversi tipi di approccio.

Con il primo si è misurato il contenuto di oppioidi endogeni mediante dosaggi radio-immunologici, per cercare di scoprire la correlazione con l'effetto indotto dall'agopuntura [31].

L'altro consiste nell'iniettare anticorpi specifici contro i vari peptidi oppioidi, per indurre un blocco selettivo e verificare quali fossero in grado di inibire l'effetto dell'analgesia con agopuntura [33].

Ad un gruppo di 31 topi è stata applicata per 30 minuti l'elettroagopuntura. Alcuni di questi animali hanno mostrato un aumento marcato della soglia del dolore e

contemporaneamente è stato rilevato un notevole incremento del contenuto di beta-endorfina nel diencefalo; altri non hanno reagito all'agopuntura né hanno mostrato modificazioni significative nel contenuto cerebrale di beta-endorfina. Tra questi due parametri esiste una correlazione positiva.

Un'altra prova è data dal fatto che, quando vengono iniettati gli anticorpi anti beta-endorfina nella PAG di coniglio, l'effetto dell'agopuntura si riduce notevolmente [47].

Usando metodi analoghi è stato dimostrato che l'iniezione intra-PAG di anticorpi anti-encefalina produce un calo significativo dell'agopuntura.

Questi risultati indicano che la beta-endorfina e l'encefalina sono importanti mediatori chimici coinvolti nell'analgia con agopuntura al livello della PAG.

C'è da sottolineare che gli anticorpi anti-dinorfina non esercitano un'influenza significativa sull'effetto indotto dall'agopuntura, vale a dire che la dinorfina presente nella PAG non è coinvolta nel meccanismo dell'analgia con agopuntura.

Si pone quindi il problema di come gli oppioidi endogeni possano esercitare un effetto analgesico.

Yaksh ha riportato che l'iniezione di morfina intra-PAG è in grado di attivare le vie discendenti serotoninergiche producendo un effetto analgesico a livello del midollo spinale [120].

I ricercatori cinesi hanno scoperto che l'effetto analgesico indotto dall'iniezione di morfina intra-PAG può essere inibito dall'iniezione intratecale di naloxone. Questo indica che le vie discendenti utilizzano come mediatori chimici non soltanto la 5-HT, ma anche gli oppioidi endogeni [127].

La rilevazione comparativa dell'effetto analgesico indotto dai peptidi oppioidi a livello del midollo spinale, dimostra che l'azione più potente è esercitata dalla dinorfina A, seguita dalla dinorfina B, dalla morfina e dalla metencefalina.

L'iniezione intratecale di anticorpi anti-encefalina inibisce l'effetto analgesico

prodotto dall'agopuntura per un periodo di tempo di almeno 2 ore. Risultati analoghi possono essere ottenuti dall'iniezione intratecale di anticorpi anti-dinorfina, ma per un periodo di almeno 4 ore. D'altro canto, l'iniezione intratecale di anticorpi anti beta-endorfina non esercita alcuna influenza sull'effetto prodotto dall'agopuntura.

In sintesi, l'indagine sul ruolo dei neuropeptidi nell'analgia con elettroagopuntura (EA), condotta con la tecnica della microiniezione anticorpale, ha rivelato quanto segue:

- l'encefalina agisce sia a livello cerebrale che midollare
- la beta-endorfina agisce a livello cerebrale ma non nel midollo spinale
- la dinorfina agisce a livello midollare ma non nel cervello [44].

A questo proposito è stata condotta una ricerca utilizzando l'EA a tre frequenze diverse (2, 15 e 100 Hz) con 5 diversi tipi di anticorpi [21]. I risultati indicano che l'effetto dell'analgia indotto dall'EA a bassa frequenza può essere bloccato con un meccanismo selettivo dell'anticorpo anti-encefalina, cosa che implica che

- l'analgia prodotta dall'EA a 2 HZ è mediata dalla metencefalina.
- L'analgia con EA a media frequenza è mediata dalla dinorfina B,
- e l'analgia con EA ad alta frequenza è mediata dalla dinorfina A [37].

Risultati confermati da altri lavori [12-13; 29; 38]. Lavori tutti che indicano che è sufficiente variare il parametro di frequenza per attivare la liberazione selettiva di encefalina, dinorfina B e di dinorfina A

Questo in contrasto con quanto ritenuto correntemente, sulla base di osservazioni che evidenziano una sensibilità inibitoria da parte del naloxone sull'analgia dell'EA a bassa frequenza [66; 81; 84] ed una sua inefficacia nel contrastare l'analgia dell'EA ad alta frequenza [11; 60]. In base a cui si ritiene che l'EA a bassa frequenza agisce con

meccanismi umorali endorfino-mediati, mentre l'EA ad alta frequenza produce un'analgesia di tipo nervoso riflesso, metamerico-segmentaria [14].

A tal proposito, nei lavori sopra citati, concordemente, è stato riportato inoltre che il naloxone in dose di 1 mg/kg è in grado di antagonizzare l'effetto analgesico prodotto dall'EA a bassa frequenza, ma non quello prodotto dall'EA ad alta frequenza.

Sulla base dei dati riportati l'effetto dell'EA ad alta frequenza è mediato soprattutto dalla dinorfina, che agisce sui recettori kappa, e risulta decisamente naloxone-resistente.

In un'altra serie di indagini, si è utilizzato il naloxone in un'ampia gamma di dosaggi per bloccare l'analgesia indotta dalla stimolazione con EA a bassa, media ed alta frequenza [46; 86; 117]. Per bloccare l'effetto indotto dall'EA a bassa frequenza è sufficiente una dose di 0,5 mg/kg di naloxone, mentre per ottenere lo stesso risultato nel caso di EA ad alta frequenza è necessario usare una dose una volta e mezza quella necessaria per antagonizzare l'analgesia da morfina .

Si può concludere quindi che gli oppioidi endogeni sono coinvolti non solo nell'effetto prodotto dall'EA a bassa frequenza, ma anche in quello indotto dall'EA ad alta frequenza. Poiché l'EA ad alta frequenza determina principalmente la liberazione di dinorfina, ne consegue che sono necessari elevati dosaggi di naloxone per bloccarne gli effetti.

Un'altra molecola interessante è l'orfanina FQ (talvolta chiamata *nocicettina*). L'aspetto più interessante di questa sostanza è la storia della sua scoperta. Poco dopo la clonazione dei recettori per gli oppiacei, fu scoperto un recettore simile nella sequenza aminoacidica, l'opiate receptor-like 1 (ORL1), che portò in seguito alla scoperta del ligando endogeno, l'orfanina FQ (OFQ). Nonostante la sua discendenza, il recettore per l'orfanina non è certamente un recettore per oppiacei usuale (non è bloccato dal naloxone né legato da altri oppiacei). La sua funzione dipende

principalmente dalle funzioni che essa inibisce. Nel cervello produce un effetto pronocicettivo. A livello della PAG può inibire l'analgesia da iniezione di kainato o morfina, presumibilmente attraverso l'inibizione di neuroni discendenti inibitori. Nel midollo spinale possiede effetti inibitori sulla nocicezione, anche se sembra avere una ristretta specificità nocicettiva. Nel midollo allungato, l'orfanina possiede sia attività antinocicettiva che propriocettiva in relazione con le cellule che inibisce. Dopo elettroagopuntura è stato osservato che l'analgesia indotta veniva aumentata dalla somministrazione intra-cerebroventricolare di un anticorpo anti-OfQ e ridotta da quella intratecale della stessa sostanza [102]. Inoltre, la somministrazione esogena di OFQ antagonizza l'analgesia da morfina e da EA nel cervello mentre la potenzia se somministrata intratecale [103]. Altri risultati suggeriscono che l'EA a 100 Hz può favorire il rilascio di OFQ nel SNC del ratto, dove antagonizza l'analgesia da EA nelle strutture cerebrali ma la potenzia a livello midollare. Sembra quindi che l'OFQ svolga un ruolo importante nello sviluppo della tolleranza agli effetti analgesici prodotti dall'EA [104].

C'è da aggiungere che, a livello di encefalico c'è una struttura anatomica strettamente legata al meccanismo dell'analgesia con agopuntura: il nucleo arcuato dell'ipotalamo [30]. I neuroni beta-endorfinici sono concentrati in questo nucleo e gli assoni che fuoriescono da questo nucleo costeggiano il nucleo accumbens raggiungendo la PAG ed il locus coeruleus. Gli studi di elettrofisiologia condotti dall'Istituto di Medicina di Pechino hanno dimostrato che la sezione trasversale di questa via nervosa produce un rapido declino dell'effetto indotto dall'agopuntura [87].

b. Serotonina, noradrenalina, GABA, acetilcolina, ossitocina

La sperimentazione condotta al Dipartimento di Fisiologia dello Shanghai College

of Traditional Chinese Medicine [115] ha rivelato che l'effetto indotto dall'agopuntura rimane pressoché inalterato negli animali in cui è stata praticata la resezione cerebrale trasversa al di sopra del mesencefalo: i peduncoli cerebrali inferiori vengono quindi considerati la struttura cerebrale più importante per il prodursi di tale reazione. Lungo la linea mediana del peduncolo cerebrale inferiore sono distribuiti ammassi neuronici serotoninergici che formano i nuclei del raphe; fibre serotoninergiche sono inviate dal nucleo dorsale del raphe al talamo e dal nucleo del raphe magnus al midollo spinale e svolgono un'azione inibitoria sulle strutture neuroniche di trasmissione degli impulsi dolorifici.

Nell'ambito della sperimentazione e dello studio delle funzioni della serotonina o 5-idrossitriptamina (5-HT) contenuta nelle strutture cerebrali e nel midollo spinale, sono state iniettate, per via intraventricolare ed intratecale, sostanze farmacologiche che inibiscono il metabolismo della 5-HT, al fine di esplorarne l'azione sull'analgesia con agopuntura [39]. Per accelerare la sintesi di 5-HT, ne è stato iniettato il precursore (5-HTP) per via intraventricolare, questo ha potenziato significativamente l'effetto prodotto dall'analgesia con agopuntura. Al contrario, l'iniezione di cinanserina, che ha un'azione bloccante i recettori cerebrali della 5-HT, ha prodotto una riduzione degli effetti dell'agopuntura. Risultati analoghi si sono ottenuti con l'iniezione per via intratecale di 5-HTP e cinanserina nel midollo spinale. I risultati indicano che la 5-HT riveste un ruolo attivo nell'indurre l'effetto analgesico sia a livello cerebrale che del midollo spinale.

Inoltre, alterazioni indotte nei nuclei dorsali e mediano del raphe diminuiscono l'effetto analgesico dell'agopuntura [122], analogamente al danno funzionale indotto da iniezione di soluzioni ipertoniche [50] nel nucleo del raphe magnus o dalla somministrazione di 5-6-diidrossitriptamina

sia in gatti [18] che in conigli [67]. Anche la somministrazione intraperitoneale di paraclorofenilalanina (p-PCA), sostanza che inibisce la sintesi di serotonina, abolisce l'azione analgesica dell'agopuntura [67]. Nel ratto trattato con dosi scarsi di p-PCA è stato evidenziato un rapporto lineare fra abbassamento dei livelli centrali di serotonina ed analgesia da agopuntura [105].

Effetto analogo si ottiene con il blocco dei recettori serotoninergici mediante somministrazione di ciproptadina nel coniglio [67] o di cinanserina nel ratto [51]. Sono state pure indagate le variazioni del contenuto di serotonina cerebrale in corso di agopuntura; nel coniglio [121] e nel ratto [39] si osserva un aumento a livello della zona dei nuclei del raphe e del midollo spinale sia di serotonina che del suo metabolita principale, l'acido 5-idrossi-indolacetico; è da sottolineare il fatto che l'aumento della serotonina cerebrale si realizza solamente negli animali che manifestano una risposta analgesica ottimale all'agopuntura, e manca negli altri [57].

I neuroni contenenti noradrenalina (NA) sono localizzati soprattutto nel peduncolo cerebrale, in particolare nel locus coeruleus e nel nucleo A₁. Da questi nuclei le fibre noradrenergiche sono inviate al proencefalo ed al midollo spinale. L'iniezione intraventricolare di diidrossifenilsarina (DOPS), precursore della NA, produce un incremento del contenuto cerebrale di NA e, contemporaneamente, una riduzione significativa dell'effetto analgesico dell'agopuntura [42]. Al contrario, riducendosi il contenuto cerebrale di NA, torna a prodursi l'effetto dell'analgesia con agopuntura. Questi risultati indicherebbero che la NA presente nel cervello antagonizza gli impulsi prodotti dall'agopuntura [42]. È da rilevare come la diminuzione dell'effetto analgesico sia direttamente proporzionale all'incremento del tasso di noradrenalina.

Ulteriori studi [116] hanno tuttavia rivelato che la NA sembra esercitare un'azione opposta, a seconda che si trovi a livello cerebrale oppure nel midollo spinale. L'iniezione intraventricolare di DOPS riduce l'effetto dell'agopuntura, mentre se tale sostanza è iniettata nel midollo spinale, potenzia tale effetto. L'iniezione intraventricolare di fentolamina (agente alfa-bloccante) accresce l'effetto dell'agopuntura, mentre l'iniezione intratecale della stessa sostanza lo antagonizza.

Nel ratto è stata osservata diminuzione del contenuto cerebrale di noradrenalina dopo agopuntura [17; 51; 73]. Indagini condotte sul turnover della noradrenalina hanno evidenziato come la sua diminuzione dopo agopuntura sembra essere conseguenza di un'aumentata utilizzazione piuttosto che di una ridotta biosintesi del mediatore [42]; ipotesi questa che trova conferma nell'aumento della frequenza di scarica dei neuroni del locus coeruleus dopo elettrostimolazione [114].

Considerati nel loro insieme, i risultati indicano che mentre la NA presente nel cervello ha un'azione antagonizzante gli impulsi analgesici prodotti dall'agopuntura, nel midollo spinale essa riveste un ruolo essenziale di mediatore, per la trasmissione. La spiegazione più probabile dell'effetto antagonista proprio della noradrenalina nei confronti dell'analgesia provocata dall'agopuntura è da individuarsi nell'azione inibitoria svolta dal mediatore sui neuroni dei nuclei del raphe. Si è visto infatti che la degenerazione delle fibre noradrenergiche afferenti al nucleo del raphe magnus esalta l'effetto analgesico dell'agopuntura.

L'abenula funziona da centro di collegamento tra il sistema limbico ed il peduncolo cerebrale inferiore. Wang e Aghajanian [110] hanno dimostrato che l'elettrostimolazione dell'abenula è in grado di inibire i nuclei serotoninergici del raphe attraverso la liberazione di acido gamma-aminobutirico (GABA). L'aumento del contenuto cerebrale di GABA è

accompagnato dalla riduzione dell'effetto analgesico dell'agopuntura, questo indica che il GABA presente nelle strutture encefaliche antagonizza l'effetto indotto dall'agopuntura. Ulteriori studi [20; 23; 109] hanno rilevato che l'aumento selettivo del contenuto di GABA nella PAG produce un calo molto rapido dell'agopuntura, indicando che la PAG è un centro strategico in cui il GABA svolge un'azione antagonizzante l'effetto analgesico dell'agopuntura. È probabile, comunque, che, come per la NA, ci siano effetti diversificati a seconda del livello d'azione del GABA potendo, a livello midollare, potenziare gli effetti dell'agopuntura [83]

L'abenula non solo è in grado di inibire la PAG ed i nuclei del raphe attraverso il meccanismo mediato dal GABA, ma anche di attivare il locus coeruleus attraverso il meccanismo colinergico [79]. Come è noto, il locus coeruleus esercita un effetto inibitorio sui nuclei del raphe, di conseguenza sopprime l'effetto dell'analgesia con agopuntura. L'ansa neuronica preposta all'attivazione reciproca dell'abenula e del locus coeruleus può costituire la struttura di base per la soppressione dell'effetto indotto dall'analgesia con agopuntura. Anche in questo caso sembra differenziarsi il ruolo del neurotrasmettitore che, a livello midollare, appare potenziare l'efficacia dell'azione analgesica dell'agopuntura [118]

C'è da rilevare, infine, che alcuni studi [58; 100] mettono in evidenza che la somministrazione intratecale di ossitocina (OT) potenzierebbe l'analgesia da EA, mentre la somministrazione di siero anti-OT ne diminuisce l'effetto. E dal momento che la somministrazione di naloxone non influenza i risultati, sembra che il suo ruolo nell'analgesia da EA sia indipendente dagli oppioidi endogeni.

c. Colecistochinina (CCK-8)

Si sono affrontati finora i possibili meccanismi con cui opera l'agopuntura nella produzione dell'effetto analgesico, esistono, tuttavia, meccanismi alternativi che svolgono una funzione antagonista capace di sopprimere l'effetto dell'analgesia con agopuntura. L'EA applicata continuativamente per un periodo di 6 ore determina una riduzione progressiva dell'effetto analgesico. Questo fenomeno è stato definito "tolleranza all'agopuntura" [43]. Uno dei meccanismi implicati nella tolleranza all'agopuntura è la produzione di sostanze anti-oppioidi endogene (SAO) nel SNC. Una delle possibili sostanze che agiscono come SAO è la colecistochinina octapeptide (CCK-8) [40; 41]. L'iniezione intratecale di CCK-8 sopprime quasi completamente l'effetto analgesico dell'agopuntura. L'iniezione intratecale di anticorpi anti CCK-8 è in grado di ritardare il prodursi della tolleranza all'agopuntura [40; 41]. Negli esperimenti sugli animali e nella pratica clinica si riscontra una certa percentuale di soggetti che non reagiscono alla stimolazione con l'agopuntura, classificati come agopuntura-analgesia resistenti. A tal proposito è stato condotto un esperimento su un gruppo di topi agopuntura-analgesia resistenti, poiché si era rilevato in essi un effetto analgesico molto debole. A seguito dell'iniezione intratecale di siero anti CCK-8 è stato invece possibile provocare un effetto analgesico con l'agopuntura in questi esemplari altrimenti refrattari; al contrario, i topi in cui è stato iniettato normale siero di coniglio hanno continuato a non rispondere [101]. C'è di più, e queste considerazioni possono validamente estendersi alla terapia del dolore tout court, la CCK-8 nello SNC sembra svolgere un ruolo importante nel controllo dell'efficacia analgesica di un oppioide. Questo controllo può essere statico o fasico. Un contenuto costante basso (o alto) di CCK-8 nel

cervello può regolare la soglia basale del dolore ad un livello elevato (o ad uno basso). Un aumento nella concentrazione di oppioide del cervello può attivare il rilascio di CCK-8, come meccanismo rapido di feed-back negativo. La variazione specifica nell'efficacia dell'analgesia da oppioide (low responder and high responder) può essere rappresentata, almeno parzialmente, tramite la differenza nella velocità e nella grandezza di questa risposta al feed-back negativo [35].

5. CONSIDERAZIONI FINALI

Dai dati presentati risulta evidente che gli impulsi prodotti dall'agopuntura nel determinare un effetto analgesico sono mediati da svariati meccanismi neuronici e da un'intera serie di neurotrasmettitori. In condizioni fisiologiche, gli effetti regolatori dell'agopuntura sul SNC sarebbero differenti a seconda della combinazioni di punti utilizzata [16]. Inoltre, c'è da sottolineare che, a supporto dell'azione analgesica, l'agopuntura tradizionale è in grado di influenzare (incrementandola) la proliferazione linfocitaria mitogeno-indotta [4]. A livello tissutale locale, è stato dimostrato, infatti, un effetto anti-infiammatorio e vasodilatatore, secondo alcuni [89] indotto dal "calcitonine gene-related peptide" rilasciato dai nocicettori stimolati dall'ago di agopuntura, secondo altri [8] condizionato non solo dagli effetti locali e periferici ma anche da quelli sistemici dell'agopuntura.

C'è da aggiungere che, nella sistematizzazione scientifica dell'agopuntura, sempre nuove sostanze e centri nervosi vengono indagati, ed ogni lavoro al riguardo non può non essere accolto con interesse e scientifica curiosità.

Va sottolineato, inoltre, che sono stati volutamente trascurati i rapporti tra, e la conseguente azione dell'agopuntura su, dolore e sistema endocrinologico, immunitario e psichico in quello che è stato definito il supersistema PNEI (Psico-Neuro-Endocrino-Immunologia), perché questo avrebbe largamente superato lo spazio concesso. Così come

l'affronto monotematico dell'azione analgesica dell'agopuntura non può far dimenticare che la sua efficacia si estende abbondantemente oltre i confini del dolore. D'altra parte i peptidi endogeni come l'endorfina, l'encefalina ed altri non vanno riferiti esclusivamente al dolore. Direttamente sono collegati con tutte le forme di dipendenza (droghe, fumo, alcolismo). Bassi livelli della metencefalina sono stati trovati in pazienti che soffrono dalla malattia di Parkinson. Livelli elevati sono stati segnalati nel nucleo cocleare dorsale e nel corpo genicolato intermedio in pazienti sofferenti di schizofrenia. Ci sono inoltre prove significative riguardo al loro ruolo nella regolazione dell'ingestione del cibo (obesità). In particolare riguardo all'obesità, è stato trovato che ci sono tantissimi peptidi "di saturazione,, e peptidi "stimolanti l'appetito,, nei nuclei ipotalamici del cervello e nel tratto gastrointestinale, funzionando come ormoni inibitori o come neurotrasmettitori.

A conclusione dell'ottica analgesica dell'agopuntura ci sembra utile ricordare che dei neurotrasmettitori noti alcuni svolgono un'azione di facilitazione dell'analgesia con agopuntura come i peptidi oppioidi endogeni, la 5-HT, la NA, l'acetilcolina ed il GABA presenti nel midollo spinale; altri svolgono un'azione antagonizzante come le SAO, compresa la CCK-8, la NA, l'acetilcolina ed il GABA presenti nelle strutture cerebrali.

L'efficacia dell'analgesia con agopuntura sembra quindi determinata dall'equilibrio dei fattori di facilitazione ed antagonizzanti presenti nel SNC, così come il dolore è la risultante della integrazione di meccanismi nocicettivi ed antinocicettivi. E certamente questo fenomeno può ben rappresentare un'esemplificazione del concetto di equilibrio dinamico di Yin-Yang, proprio della Medicina Tradizionale Cinese.

BIBLIOGRAFIA

1. Abad-Alegria F, Adelantado S, Martinez T (1995): The role of the cerebral cortex in acupuncture modulation of the somesthetic afferent. *Am J Chin Med*, 23(1):11-4.

2. Adams, J (1976): Naloxone reversal of analgesia produced by brain stimulation in the human. *Pain*, 2:161-6.
3. Basbaum AI, Fields HL (1984): Endogenous pain control system: brain stem spinal pathways and endorphin circuitry. *Am Rev Neurosci*; 7: 309-338.
4. Bianchi M, Jotti E, Sacerdote P, Panerai AE (1991): Traditional Acupuncture increases the content of Beta-Endorphin in Immune Cells and influences Mitogen Induced Proliferation. *Am J Chin Med*, 19:101-4.
5. Biella G, Sotgiu ML, Pellegata G, Paulesu E, Castiglioni I and Fazio F (2001): Acupuncture Produces Central Activations in Pain Regions. *NeuroImage*, Volume 14, Issue 1:60-66.
6. Buchtal F, Rosenfalk A (1966): Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves. *Brain Research*, 3:1-122.
7. Campbell JN, Tane A (1973): Local anaesthesia from percutaneous electrical stimulation. *Arch. Neurol. (Chic.)*, 28:3347.
8. Ceccherelli F, Gagliardi G, Ruzzante L, Giron G (2002): Acupuncture modulation of capsaicin-induced inflammation: effect of intraperitoneal and local administration of naloxone in rats. A blinded controlled study. *J Altern Complement Med*, 8: 341-9.
9. Chang HT (1986): Research on acupuncture, moxibustion, and acupuncture anesthesia. Springer-Verlag, New York, 1179 p.
10. Chang HT (1973): Integrative action of thalamus in the process of acupuncture for analgesia. *Scientia Sinica*, Vol. XVI, 1:25-60.
11. Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R ((1983): Naloxone fails to reverse pain threshold elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. *Pain*, 16:13-31.
12. Chen XH, Han JS (1992): All three types of opioid receptors in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. *Eur J Pharmacol*, 211(2):203-10.
13. Chen XH, Han JS (1992): Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res*, 47(2):143-9.
14. Cheng RS, Pomeranz BM (1979): Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain relieving mechanism: Endorphin and non endorphin systems. *Life Sci.*, 25:1957.

15. Cuello AC (1986): The synaptic organisation of peptide-containing sensory neurones. Int. Conf. on Pain and Mobility, 18-21 March, Milan.
16. Dong JC, Li J, Zuo CT (2002). Influence of needling at yin-yang meridian points on cerebral glucose metabolism. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 22(2):107-9.
17. Dong XW, Jan ZM, Fu LW (1978): Changes in monoamine fluorescence intensity in the rat's midbrain raphe nuclei and locus coeruleus in the process of acupuncture analgesia. *Acta Biochem. Biophys. Sin*, 10:119.
18. Du HJ, Shen E, Dong XW, Jiang ZH, Ma WX, Fu LW, Jin GZ, Zhang ZD, Han YF, Yu LP, Feng J (1978): Effect on acupuncture analgesia by injection of 5-6-dihydroxy-tryptamine in cat: A neurophysiological, neurochemical and fluorescence histochemical study. *Acta Zool Sin*, 24:11.
19. Ernst M, Lee MH (1987): Influence of naloxone on electro-acupuncture analgesia using an experimental dental pain test. Review of possible mechanisms of action. *Acupunct Electrother Res*, 12(1):5-22.
20. Fan SG, Qu ZC, Zhe QZ, Han JS (1982): GABA: antagonistic effect on electroacupuncture analgesia and morphine analgesia in the rat. *Life Sci*, 31(12-13):1225-8.
21. Fei H, Xie GX, Han JS (1987): Low and high frequency electroacupuncture stimulation releases Met-5 enkephalin and dynorphin A and B in rat spinal cord. *Chin Sci Bull*, 32:1496-501.
22. Fitzgerald M (1982): The contralateral input of the dorsal horn of the spinal cord in the decerebrate spinal rat. *Brain Res*, 236:275-87.
23. Gao M, Li Q, Zhang J, Liu Y (1990): Effect of changing the functional state of frontal cortex by GABA on the acupuncture effect of PAG neurons. *Zhen Ci Yan Jiu*, 15(4):264-8.
24. Gebhart KD, Yeziarski RP, Gielser GJ and Willis WD (1981): Inhibitory receptive fields of primate spinothalamic tract cells. *J Neurophysiol*, 46:1309-25.
25. Gunn CC (1989): Neuropathic Pain: A New Theory for Chronic Pain of Intrinsic Origin. *Annals RCPSC*, Vol. 22, 5:327-30.
26. Gunn CC (1978): Transcutaneous Neural Stimulation, Acupuncture and the Current of Injury. *Am J Acupuncture*, Vol. 6, 3:191-6.
27. Gunn, CC (1978): Motor points and motor lines. *Am. J. Acupuncture*, Vol. 6, 1:55-8.
28. Gunn CC, Ditchburn FG, King MH, Rrenwick GJ (1976): Acupuncture loci: a proposal for their classification according to their relationship to known neural structures. *Am. J. Chin. Med.*, Vol. 4, 2:183-195.

29. Guo HF, Wang XM, Tian JH, Huo YP, Han JS (1997). 2 Hz and 100 Hz electroacupuncture accelerate the expression of genes encoding three opioid peptides in the rat brain. *Sheng Li Xue Bao*. 49(2):121-7.
30. Hamba M, Toda K (1988): Rat hypothalamic arcuate neuron response in electroacupuncture-induced analgesia. *Brain Res Bull*, 21(1):31-5.
31. Han JS (1981): The endogenous analgesia system. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*, 12(2):104-12.
32. Han JS (1987). A mesolimbic neuronal loop of analgesia. *Adv Pain Res Ther*, 10:219-243.
33. Han JS (1987): Antibody microinjection: a new approach for studying the functions of neuropeptides. *Chin Med J (Engl)*, 100(6):459-64.
34. Han JS (1987): The neurochemical basis of pain relief by acupuncture. 597 pp, China Publisher of Medical and Pharmaceutical Science and Technology, Beijing.
35. Han JS (1998): Opioid and anti-opioid peptides: Modern understanding of the Yin and Yang balance in acupuncture. In: *Rome and limits of pain*, Serafini G, Sabato, AF, eds., Roma.
36. Han JS (1998): The neurochemical basis of pain relief by acupuncture. Vol. 2, 783 pp, Hubei Publisher of Science and Technology, Beijing.
37. Han JS (2003): Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci*, 26(1):17-22.
38. Han JS, Chen XH, Sun SL, Xu XJ, Yuan Y, Yan SC, Hao JX, Terenius L (1991): Effect of low- and high-frequency TENS on Met-enkephalin-Arg-Phe and dynorphin A immunoreactivity in human lumbar CSF. *Pain* 47(3):295-8.
39. Han JS, Chou PH, Lu CC, Yang TH, Jen MF (1979): The role of central 5-HT in acupuncture analgesia. *Sci Sin*, 22(1):91-104.
40. Han JS, Ding XZ, Fan SG (1985): Is cholecystokinin octapeptide (CCK-8) a candidate for endogenous anti-opioid substrates? *Neuropeptides*, 5(4-6):399-402.
41. Han JS, Ding XZ, Fan SG (1986): Cholecystokinin octapeptide (CCK-8): antagonism on electroacupuncture analgesia and a possible role in electroacupuncture tolerance. *Pain*, 27(1):101-15.

42. Han JS, Guan XM, Shu JM (1979) Study of central norepinephrine turnover rate during acupuncture analgesia in the rat. *Acta Physiologica Sinica*, 31:11.
43. Han JS, Li SJ, Tang J (1981): Tolerance to electroacupuncture and its cross tolerance to morphine. *Neuropharmacology*, 20(6):593-6.
44. Han JS, Tang J, Ren MF, Zhou ZF, Fan SG, Qiu XC (1980): Central neurotransmitters and acupuncture analgesia. *Am J Chin Med*, 8(4):331-48.
45. Han JS, Terenius L (1982): Neurochemical basis of acupuncture analgesia. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 22:193.
46. Han JS, Xie CW (1984): Dynorphin: potent analgesic effect in spinal cord of the rat. *Sci Sin [B]*, 27(2):169-77.
47. Han JS, Xie GX, Zhou ZF, Folkesson R, Terenius L (1982): Enkephalin and beta-endorphin as mediators of electro-acupuncture analgesia in rabbits: an antiserum microinjection study. *Adv Biochem Psychopharmacol*, 33:369-77.
48. Han JS, Xuan YT (1986): A mesolimbic neuronal loop of analgesia: I. Activation by morphine of a serotonergic pathway from periaqueductal gray to nucleus accumbens. *Int J Neurosci*, 29(1-2):109-17.
49. Ignelzi RJ and Nyquist JK (1976): Direct effect of electrical stimulation on peripheral nerve evoked activity implications in pain relief. *J Neurosurg*, 45:155-9.
50. Kaada B, Jorum E, Saguolden T, Ansethwoen T (1979): Analgesia induced by trigeminal nerve stimulation (electroacupuncture) abolished by nuclei raphe lesions. *Acup Electrother Res Int J*, 4:221.
51. Kin KC, Han YF, Yu LP, Feng J, Wang FS, Zhang ZU, Lhang AZ, Sheng MP, Lu YY, Shi KF, Wang LJ, Hu JW, Wang LQ (1979): Role of brain serotonergic and catecholaminergic systems in acupuncture analgesia. *Acta Physiologica Sinica*, 31:121.
52. Lanza U (1984): *Elettrostimolazione agopunturale e transcutanea*. Ed. Espansione, Luserna (TO).

53. Le Bars D, Villanueva L, Willer JC, Bouhassira D (1991). Diffuse noxious inhibitory control (DNIC) in man and animals. *Acupunct Med*, 9(2):47-56.
54. Le Bars D, Dickenson AH and Besson JM (1979): Diffuse Noxious Inhibitory Controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain*, 6:283-304.
55. Le Bars D, Dickenson AH and Besson JM (1979): Diffuse Noxious Inhibitory Controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurones, supraspinal involvement and theoretical implications. *Pain*, 6:305-27.
56. Le Bars D., Willer JC, de Broncker T, Villanueva L (1989): Neurophysiological mechanisms involved in the pain-relieving effects of counterirritation and related techniques including acupuncture, In: *Scientific basis of acupuncture*, Pomeranz, B., Stux, G. (eds), pp. 79-105, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
57. Liang XN, Zhang WQ, Tang J, Han JS (1981): Individual variation of acupuncture analgesia in rats in relation to 5-HT and endogenous opiate-like substances in the brain. *Mat Med J China*, 61:345.
58. Liu W, Song C, Yang J, Lin B, Wang C (1990). Involvement of oxytocin in spinal cord in acupuncture analgesia *Zhen Ci Yan Jiu*, 15(1):24-9.
59. Lomo T (1976): The role of activity in the control of membrane and contractile properties of skeletal muscle. In: *Motor innervation of muscle*, Thesieff s, ed, pp. 289-315, New York Academy Press.
60. Long DM, Campbell J, Freeman T (1981): Failure of naloxone to affect chronic pain on stimulation-induced pain relief in man. *Pain*, Suppl. 1:111.
61. Ma QP, Han JS (1991): Neurochemical studies on the mesolimbic circuitry of antinociception. *Brain Res*, 566(1-2):95-102.
62. Macdonald A (1989): Acupuncture analgesia, transcutaneous nerve stimulation (TNS) and vascular effects In: *Textbook of pain*, Wall, PD, Meltzack, R (eds), 2nd ed., Churchill Livingstone, Edinburgh.
63. Maciewicz R, Fields HL (1986): Pain pathways. In: *Diseases of the Nervous System*, Asburg A, Mekam G, eds., Saunders, London.
64. Man PL and Chen CH (1972): Acupuncture "Anesthesia"-A new theory and clinical study. *Curr Ther Res*, Vol. 14, 7:390-4.

65. Man PL and Chen CH (1972): Mechanism of Acupunctural Anesthesia. The Two-Gate Control Theory. *Acupunctural Anesthesia*, November, pp.730-5.
66. Mayer DJ, Price DD and Rafii A (1977): Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res*, 121:360-73.
67. McLennan H, Gilfillan K, Heap Y (1977): Some pharmacological observations on the analgesia induced by acupuncture in rabbits. *Pain*, 3(3):229-238.
68. Melzack, R, Casey, K.L. Sensory motivational and central control determinants of pain: A new conceptual model. In D. R. Kenshalo (Ed.), *The Skin Senses* (pp. 423-443), Springfield, Thomas, 1968.
69. Melzack R (1971): Phantom limb pain: Implications for treatment of pathological pain. *Anesthesiology*, 35:409.
70. Melzack R, Stillwell DM, Fox EJ (1977): Trigger points and acupuncture points for pain: correlations and implications. *Pain*, 3:3-23.
71. Melzack R and Jeans RN (1974): Acupuncture Analgesia: A Psychophysiological Explanation. *Minnesota Medicine*, March, pp. 161-6.
72. Melzack R and Wall P (1965): Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150:971-9.
73. Ng LK, Thoa NB, Dothitt TG, Albert CA, Victoria J (1974): Decrease in brain neurotransmitters and elevation of foodshock-induced pain threshold following repeated electrostimulation of putative acupuncture loci in rats. *Am J. Clin Med*, 2:336.
74. Niboyet, JEH (1973): L'anesthésie par l'acupuncture. pp. 59-94, Ed Maisonneuve, France.
75. NIH Consensus Conference. Acupuncture. *Jama*. 1998, 280:1518-24. (http://odp.od.nih.gov/consensus/cons/107/107_intro.htm)
76. OMS. Ottavo programma generale di lavoro relativo al periodo 1990-95. In: *Le medicine non convenzionali. Ricerca scientifica, problemi normativi, progetti di legge*, Crocella C, ed, pp 335-349, Quaderni di documentazione - Camera dei deputati, 1991, Roma.
77. OMS. Quarantesima assemblea mondiale della sanità. Dodicesima assemblea plenaria, 15 maggio 1987. Punto 18.2 dell'ordine del giorno. In: *Le medicine non convenzionali. Ricerca scientifica, problemi normativi, progetti di legge*, Crocella C, ed, pp 331-332, Quaderni di documentazione - Camera dei deputati, 1991, Roma.

78. OMS. Quarantunesima assemblea mondiale della sanità. Quindicesima assemblea plenaria, 13 maggio 1988. Punto 23 dell'ordine del giorno. In: *Le medicine non convenzionali. Ricerca scientifica, problemi normativi, progetti di legge*, Crocella C, ed, pp 333-334, Quaderni di documentazione - Camera dei deputati, 1991, Roma.
79. Pain YZ, Wang LH, Tang YH, Yin XM, Wang S (1992): Antagonistic effect of electro-acupuncture analgesia with Ca²⁺ injection into habenula could be reversed by gallamine triethiodide. *Sheng Li Xue Bao*, 44(4):326-32.
80. Peets J, Pomeranz B (1978) CXBX mice deficient in opiate receptors show poor electroacupuncture analgesia. *Nature* 273:675-676.
81. Peng CHL, Yang MMP, Kok SH, Woo YK (1978): Endorphin release: a possibile mechanism of acupuncture analgesia. *Comp Med East West*, 6:57-60.
82. Pert CB, Snyder SH (1973): Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*, 179(77):1011-4.
83. Pomeranz B, Nguyen P (1987): Intrathecal diazepam suppresses nociceptive reflexes and potentiates electroacupuncture effects in pentobarbital-anesthetized rats. *Neurosci Lett*, 77(3):316-20.
84. Pomeranz B and Chiu D (1976): Naloxone blockade of acupuncture analgesia-endorphin implicated. *Life Sci*, 19:1757-62.
85. Pomeranz B, Cheng R and Law P (1977): Acupuncture reduces electrophysiological and behavioral responses to noxious stimuli: pituitary is implicated. *Exp Neurol*, 54:172-8.
86. Ren MF, Lu CH, Han JS (1985): Dynorphin-A-(1-13) antagonizes morphine analgesia in the brain and potentiates morphine analgesia in the spinal cord. *Peptides*, 6(6):1015-20.
87. Research Group of Acupuncture anesthesia, Beijing Medical college (1974): The role of some neurotransmitters of brain in acupuncture analgesia. *Scientia Sinica*, 17:112-130.

88. Rodriguez AA, Oester YT (1971): Fundamentals of Electromyography. In: *Electrodiagnosis and Electromyography*, Chapt. 13:297, Elizabeth Licht Publ., New Haven.
89. Sandberg M, Lidberg LG, Gerdle B (2004): Peripheral effects of needle stimulation (acupuncture) on skin and muscle blood flow in fibromyalgia. *Eur J Pain*, 8:163-71.
90. Santini M (1976): Towards a theory of sympathetic-sensory coupling: the primary sensory neurons as a feed-back target of the sympathetic terminal. In: *Sensory functions of the skin in Primates with special references to man*, Zotterman, Y. (ed), Wenner-Gren Cent. Intern. Symp., Vol. 27, pp. 15-25, Pergamon, Oxford, England.
91. Serafini G (2005): Metodiche non convenzionali in terapia del dolore. Agopuntura, TENS, Mesoterapia, Laserterapia, Magnetoterapia. Ed. Scuola IaD, Roma.
92. Serafini G (1997): Il sistema non dolore/dolore: Autorganizzazione di un sistema complesso. XIX Congresso Nazionale AISD, pp.68-72, 15/18 aprile, Milano.
93. Serafini G (1998): Il senso di un progetto ai confini del dolore. Camminando sui bordi della scienza in terapia antalgica. Simposio Internazionale *Rome and the limits of pain*, Serafini G, and Sabato AF (eds.), 24 maggio, Roma
94. Serafini G., Sabato AF (1998): Complessità e Dolore. Quando la Biologia non è chimica applicata. I Quaderni ISAL 98/99, pp.1-13, 28 ottobre, Rimini.
95. Serafini G, Sabato AF (1998): Complessità e Medicina con particolare riferimento al dolore. XII Simposio Meridionale di Anestesiologia e Rianimazione, pp.9-27, 11/13 giugno, Cetraro (CS).
96. Shealy NC, Adams J, Brown R, Clark K, Hunt W (1971): Current status of dorsal column stimulation, a synopsis of dorsal column study group. Meeting held in Dallas, Texas, April.
97. Shealy NC, Mortimer JT, Hagfors NR (1970): Dorsal column electroanalgesia. *J Neurosurg*, 32:560-4.

98. Shealy NC, Mortimer JT, Reswick LB (1967): Electrical inhibition of pain by stimulation of the dorsal column, preliminary clinical report, *Anesthesia and analgesia. Current Research*, 46:489-91.
99. Sjölund B, Terenius L and Eriksson M (1977): Increased cerebrospinal fluid levels of endorphins after electroacupuncture. *Acta Physiol Scand*, 100:382-4.
100. Song CY, Liu WY, Yang J, Lin BC, Zhu HN (1990): The role of central oxytocin in electroacupuncture analgesia. *Sheng Li Xue Bao*, 42(2):169-74.
101. Tang NM, Dong HW, Wang XM, Cui ZC, Han JS (1997): Cholecystokinin Antisense RNA increases the analgesic effect induced by electroacupuncture or low dose morphine: Conversion of low responder rats into high responders. *Pain*, 71:71-80.
102. Tian JH, Han JS (2000). Functional studies using antibodies against orphanin FQ/nociceptin. *Peptides*, 21(7):1047-50.
103. Tian JH, Xu W, Zhang W, Fang Y, Grisel JE, Mogil JS, Grandy DK, Han JS (1997): Involvement of endogenous orphanin FQ in electroacupuncture-induced analgesia. *Neuroreport*, 8(2):497-500.
104. Tian JH, Zhang W, Fang Y, Xu W, Grandy DK, Han JS (1998). Endogenous orphanin FQ: evidence for a role in the modulation of electroacupuncture analgesia and the development of tolerance to analgesia produced by morphine and electroacupuncture. *Br J Pharmacol*, 124(1):21-6.
105. Toda K, Ichioka M (1978): Electroacupuncture: Relations between forelimb afferent impulses and suppression of jaw-opening reflex in the rat. *Exp Neurol*, 61:465.
106. Ulett GA, Han S, Han JS (1998): Electroacupuncture: mechanisms and clinical application. *Biol Psychiatry*, 44:129-138.
107. Wall PD (1978): The gate control theory of pain mechanisms. A re-examination and re-statement. *Brain*, 101:1-18.
108. Wall PD (1984): The dorsal horn. In: *Textbook of Pain*, Wall, PD, Melzack, P (eds), Churchill Livingstone, pages 80-7, New York.
109. Wall, PD, Sweet, WH (1967): Temporary abolition of pain in man. *Science*, 155:108-9.
110. Wang RY, Aghajanian GK (1977). Physiological evidence for habenula as major link between forebrain and midbrain raphe. *Science*, 197(4298):89-91.

111. Wang YJ (1987): Role of GABA and its effect on 5-HT metabolism in the rat brain under acupuncture analgesia. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 7(3):169-70.
112. Weidmann S (1978): Work in progress at the Shanghai Institute of Physiology, Division of Acupuncture. *Experientia*, 34(8):964-9.
113. Willis WD (1984): Modulation primate spinothalamic tract discharges. *In Advances in Pain Research and Therapy*, Kruger, L., Liebeskind, J.C. (eds), Vol. 6, pp. 217-40, Raven Press, New York.
114. Wu BJJ, Wu FJJ, Xu LR, Wu HZ (1980): The effect of electroacupuncture on the unit discharge of rat locus coeruleus. *Advances in Acupuncture and Acupuncture Anesthesia*, Beijing, People's Med. Publ. House, 356.
115. Wu DZ (1990): Acupuncture and neurophysiology. *Clin Neurol Neurosurg*, 92(1):13-25.
116. Xie CW, Tang J, Han JS (1981): Central norepinephrine in acupuncture analgesia: differential effects in brain and spinal cord. In: *Advances in endogenous and exogenous opioids*, Takagi H, Simon EJ, editors. Proceedings of the International Narcotic Research Conference (Satellite Symposium of the 8th International Congress of Pharmacology); 1981 Jul 26-30; Kyoto, Japan. Tokyo: Kodansha; p. 288-90.
117. Xie GX, Han JS (1984): Dynorphin: analgesic effect via kappa receptors in the spinal cord of rats] *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 5(4):231-4.
118. Xu R, Guan X, Wang C (1996): Influence of electroacupuncture and capsaicin treatment on AChE activity and [3H]-QNB binding sites in the spinal dorsal horn. *Zhen Ci Yan Jiu*, 21(2):47-51,.
119. Xuan YT, Shi YS, Zhou ZF, Han JS (1986): Studies on the mesolimbic loop of antinociception--II. A serotonin-enkephalin interaction in the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 19(2):403-9.
120. Yaksh TL, Tyce GM (1979): Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from spinal cord. *Brain Res*, 171(1):176-81.
121. Ye WL, Feng XC, Chao DF, Chang JW, Chang C (1979): Effect of electric stimulation of Du channel points on 5-TH and 5-HIAA contents in the caudate nucleus in the rabbit. *Xexue Tongbao*, 24:235.

122. Yu GD, Liu SY, Gao AL, Ge ZH, Yin QZ, Quian ZN, Jian MH, Wang VQ, He BR, Yin WP, Guo YY, Deng HZ (1979): Relationship between lip-acupuncture analgesia and serotonergic neuronal system in the pain. *Mat Med J China*, 59:534.
123. Yu LC, Shi YS, Han JS (1987): Analgesia induced by morphine administered to the nucleus accumbens was blocked by naloxone or [Met5] enkephalin antiserum injected into the periaqueductal gray of the rabbit. *Sheng Li Xue Bao*, 39(4):326-33.
124. Yu YH, Gao M, He LF (1994): Time course of alterations of proopiomelanocortin mRNA level in rat hypothalamic arcuate nucleus following electroacupuncture. *Shang Hai I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao*, 21 Suppl:60-3.
125. Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ (1997): A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*, 386(6624):499-502. Comment in: *Nature* 1997 Apr 3;386(6624):442.
126. Zhang AZ, Pan XP, Xu SF, Cheng JS, Mo WY (1980): Endorphins and acupuncture analgesia. *Chin Med J*, 93(10):673-80.
127. Zhou ZF, Du MY, Wu WY, Jiang Y, Han JS (1981): Effect of intracerebral microinjection of naloxone on acupuncture- and morphine-analgesia in the rabbit. *Sci Sin*, 24(8):1166-78.