

## NEUROBIOLOGIA DA ANALGESIA INDUZIDA POR ACUPUNTURA MANUAL E ELETROACUPUNTURA: REVISÃO DE LITERATURA

### NEUROBIOLOGY OF ANALGESIA INDUCED BY MANUAL ACUPUNCTURE AND ELECTRO-ACUPUNCTURE: A LITERATURE REVIEW

Alexandre Bastos Luiz\*  
Márcio Antônio Babinski\*\*  
Arthur de Sá Ferreira\*\*\*

Correspondência:

Arthur de Sá Ferreira, D.Sc.

Laboratório de Simulação Computacional e Modelagem em Reabilitação, Centro Universitário Augusto Motta/UNISUAM

Praça das Nações 34, Bonsucesso, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

E-mail: arthur\_sf@ig.com.br; arthurde@unisuamdoc.com.br

Recebido: 11/09/2012

Revisado: 15/09/2012

Aprovado: 18/09/2012

**Resumo:** Este trabalho revisa pesquisas experimentais e clínicas publicadas entre 1976-2011 sobre os mecanismos neurobiológicos da analgesia por acupuntura manual e eletroacupuntura. São discutidas as ações do sistema de opioides endógenos como o principal mecanismo responsável pela analgesia induzida por acupuntura no contexto dos diversos modelos de estimulação com agulhas. A ampla maioria dos estudos realizados nas últimas décadas apoiam a hipótese de que o cérebro processa os sinais e organiza os efeitos analgésicos induzidos pela acupuntura. A eletroacupuntura aplicada em frequências específicas pode facilitar a liberação seletiva de determinados neuropeptídeos no sistema nervoso central, provocando diferentes efeitos fisiológicos e ativando mecanismos de autocura. A analgesia por acupuntura é um processo neurobiológico complexo, mediado não apenas por endorfinas, encefalinas e dinorfinas mas também por uma grande variedade de neuropeptídeos, hormônios, monoaminas, catecolaminas e substâncias moduladoras e transmissoras tais como a serotonina, a neurotensina, a colecistoquinina octapeptídeo, a angiotensina II, a dopamina e a noradrenalina.

Palavras-chave: Analgesia por acupuntura. Peptídeos opioides. Serotonina.

**Abstract:** *This paper reviews experimental and clinical researches published between 1976-2011 on the neurobiological mechanisms of analgesia induced by manual acupuncture and electroacupuncture. The actions of the endogenous opioid system are discussed as the main mechanism responsible for acupuncture-induced analgesia in the context of several models of needle stimulation. The majority of studies in recent decades support the hypothesis that the brain processes the signals and organizes the analgesic effects induced by acupuncture. Electroacupuncture applied at specific frequencies facilitates selective release of certain neuropeptides in the central nervous system, leading to different physiological effects and mechanisms enabling self-healing. The acupuncture analgesia is a neurobiological complex process mediated not only by endorphins, enkephalins and dynorphins, but also by a variety of neuropeptides, hormones, monoamines, catecholamines, and transmitting and modulating substances such as serotonin, neurotensin, cholecystokinin octapeptide, angiotensin II, dopamine and noradrenaline.*

**Key words:** *Acupuncture analgesia. Opioid peptides. Serotonin.*

\* Fisioterapeuta especialista em Acupuntura, Curso de Especialização em Acupuntura, Centro Universitário Augusto Motta, RJ

\*\* Doutor em Morfologia, Enfermeiro especialista em Acupuntura, Departamento de Morfologia, Universidade Federal Fluminense, RJ

\*\*\* Doutor em Ciências em Engenharia Biomédica, Fisioterapeuta Especialista em Acupuntura, Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação, Centro Universitário Augusto Motta, RJ

## INTRODUÇÃO

O uso da medicina tradicional entre os profissionais de saúde e pacientes aumentou em todo o mundo desde a Declaração Alma-Ata<sup>1</sup>. Foi estimado que entre 70% e 95% da população de países em desenvolvimento usa a medicina tradicional para prevenção de doenças, tratamento ou reabilitação<sup>2</sup>. A medicina chinesa é um dos diversos sistemas médicos tradicionais, praticados por médicos, fisioterapeutas, enfermeiros, nutricionistas e outros profissionais de saúde como uma intervenção coadjuvante ou mesmo como intervenção terapêutica única<sup>3</sup>. O amplo interesse científico pelas teorias da medicina chinesa e seus mecanismos fisiológicos pode ser inferido pela grande quantidade de pesquisas experimentais e clínicas conduzidas nas últimas décadas. Apesar da grande quantidade de estudos sobre medicina chinesa não revelar os mecanismos fisiológicos gerais relacionados à sua eficácia, muitos estudos têm-se concentrado em responder, especificamente, quais são os mecanismos neurobiológicos da analgesia por acupuntura manual (AM) e eletroacupuntura (EA).

Em duas revisões recentes de ensaios clínicos randomizados<sup>4,5</sup>, a AM foi considerada como uma intervenção com relação custo-benefício satisfatória e não relacionada a placebo em comparação a outras terapias de rotina para algumas condições de dor crônica, incluindo dor lombar, osteoartrite e dor cervical. Outra revisão recente<sup>6</sup> sobre acupuntura e técnicas relacionadas – eletroacupuntura e estimulação elétrica transcutânea de pontos de acupuntura – observou em consenso que: a) quando usadas em período pré- e pós-operatório, podem amenizar a dor pós-operatória e a ocorrência de náusea/vômitos, b) podem reduzir a intensidade da dor em comparação a pacientes não tratados ou em lista de espera para várias condições de dor crônica; e que c) múltiplas sessões (1 ou 2 vezes por semana, por diversas semanas) são necessárias para o tratamento de dores crônicas para se obter um efeito cumulativo. Assim, justifica-se a necessidade de conhecimento por parte dos profissionais de saúde dos mecanismos neurobiológicos relacionados à eficácia de ambas as formas de acupuntura.

Este trabalho revisa os trabalhos sobre os mecanismos neurobiológicos da analgesia por AM e EA. São discutidas as ações do sistema de opioides endógenos como o principal mecanismo responsável pela analgesia induzida por AM e EA no contexto dos diversos modelos de estimulação pesquisados nesse período. Com isso, pretende-se fornecer informações para um melhor entendimento dos mecanismos que podem explicar neurobiologicamente a ação analgésica da AM e EA, possibilitando, em última instância, uma reflexão mais ampla sobre as formas mais adequadas de utilização dos parâmetros de EA para a promoção de uma analgesia mais potente e eficaz. Para esta revisão de literatura, foram utilizados artigos publicados no período de 1976-2011, armazenados na base de referências PubMed utilizando-se as palavras-chave “*acupuncture*”, “*electroacupuncture*”, e “*analgesia*”. Os artigos encontrados pela busca foram limitados aos estudos originais em animais ou seres humanos que utilizaram AM ou EA. Os artigos com texto em chinês, mas com resumo em inglês disponível, foram considerados para inclusão neste estudo.

## PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA DE OPIOIDES ENDÓGENOS NOS MECANISMOS DE INDUÇÃO À ANALGESIA POR AM E EA

As hipóteses relacionadas aos mecanismos de ação associados ao sistema de opioides endógenos foram investigadas e demonstradas por diversos trabalhos que inicialmente buscaram explicar o fenômeno da analgesia induzida pela acupuntura entre 1976-1980<sup>7-10</sup>. Sabe-se que os três principais grupos de opioides endógenos –  $\beta$ -endorfinas, encefalinas e dinorfinas – e os seus respectivos receptores específicos – Mu ( $\mu$ ), Delta ( $\delta$ ) e Kappa ( $\kappa$ ) – estão amplamente distribuídos por todo o sistema nervoso central (SNC) e periférico, incluindo os terminais aferentes periféricos e áreas encefálicas relacionadas à percepção sensorial e interpretação da dor<sup>11</sup>. A manipulação de agulhas nos pontos de acupuntura ativa as fibras aferentes A $\delta$  e C dos músculos associados a estes pontos, promovendo o envio de sinais nervosos via medula para os centros

superiores no cérebro. A ativação destes centros provoca o estímulo para liberação dos diversos neurotransmissores endógenos que são responsáveis pela promoção da analgesia por acupuntura<sup>7</sup>. Com o objetivo de comprovar a hipótese de que a analgesia induzida por acupuntura está relacionada diretamente à liberação desses opioides endógenos centrais e periféricos, alguns pesquisadores começaram a utilizar a administração de fármacos agonistas e antagonistas de receptores endógenos específicos, com o objetivo de desvendar/verificar se o bloqueio da analgesia por acupuntura era alcançado. Este método, denominado abordagem farmacológica, passou a ser amplamente utilizado a partir de 1977, com a publicação de um estudo<sup>8</sup> duplo-cego que utilizou a administração do fármaco naloxona.

Experimentos realizados por meio da análise dos registros elétricos de células da lâmina V da medula espinhal de gatos comprovaram que a naloxona administrada por via intravenosa bloqueia totalmente os efeitos analgésicos da EA<sup>12</sup>. Ficou também demonstrado que a administração de doses crescentes de naloxona promove bloqueios da analgesia por acupuntura em doses igualmente crescentes de intensidade<sup>10</sup>. Muitos estudos realizados em animais mostraram que os efeitos analgésicos da acupuntura foram extremamente reduzidos em ratos que apresentavam deficiências genéticas de receptores a opiáceos<sup>13</sup> e completamente abolidos após a administração de naloxona em ratos induzidos à inflamação intraplantar por injeção de carragenina<sup>14</sup>. A injeção intraplantar de um anticorpo contra a  $\beta$ -endorfina e de um fator antagonista ao hormônio liberador de corticotropina também produziram uma grande redução na analgesia gerada por EA nas dores inflamatórias provocadas pelo adjuvante completo de Freund nas patas traseiras de ratos<sup>15</sup>. Levando-se em consideração que o sistema de opioides periféricos participa diretamente da modulação da dor inflamatória e pode produzir efeitos antinociceptivos na periferia<sup>16,17</sup>, os dados apresentados evidenciam que um dos mecanismos por meio dos quais a EA promove a analgesia é determinado pela sua capacidade de estimular a liberação de opioides periféricos no local da inflamação<sup>14,15</sup>.

A administração de microinjeções de naloxona na substância cinzenta periaquedutal e no hipotálamo eliminou o efeito analgésico da acupuntura em animais, demonstrando que os opioides centrais também participam da analgesia gerada pela acupuntura. Diversas pesquisas confirmaram que a EA promove o aumento dos níveis de endorfinas no plasma e no SNC<sup>19-22</sup>, estimulando especificamente a secreção de  $\beta$ -endorfina e do hormônio adrenocorticotrófico no lobo anterior da hipófise<sup>23</sup>. Outros experimentos comprovaram que a analgesia resultante da estimulação dos pontos de acupuntura ocorre, mais especificamente, por meio da atividade neural da substância cinzenta periaquedutal e da formação reticular do tronco cerebral, podendo ser bloqueada pela diminuição das endorfinas hipofisárias (hormonais), seja por meio de lesões provocadas no núcleo arqueado do hipotálamo, induzidas por ácido caínico<sup>24,25</sup>, seja por meio da aplicação do antissoro de  $\beta$ -endorfina no terceiro ventrículo e hipofisectomia<sup>20</sup>.

Experimentos direcionados especificamente para o estudo da EA, comparando os seus efeitos terapêuticos em diferentes frequências de estimulação, demonstraram que a analgesia provocada por baixas frequências (2 Hz) é bloqueada pela administração de naloxona<sup>9,10</sup> ou pela realização de lesões eletrolíticas e químicas (ácido caínico) no núcleo arqueado do hipotálamo<sup>24</sup>, mas estas ações não interferem na analgesia induzida por altas frequências (100 Hz)<sup>9,24</sup>. Por outro lado, a realização de lesões seletivas nos núcleos parabraquiais do tronco cerebral atenuaram os efeitos analgésicos promovidos pela EA de alta frequência (100 Hz), mas não interferiram na analgesia proporcionada pela EA de baixa frequência (2 Hz)<sup>26,27</sup>. Os resultados destes trabalhos sugerem que a analgesia gerada pela EA de baixas frequências é mediada por mecanismos que utilizam as endorfinas, enquanto que a analgesia produzida a partir da estimulação com altas frequências é mediada provavelmente por algum outro mecanismo<sup>9</sup>.

Para um maior aprofundamento na investigação desta hipótese, um estudo<sup>28</sup> realizado por meio de radioimunoensaio da perfusão espinhal de ratos em 1987 forneceu evidências diretas de que estimulação elétrica periférica com baixas frequências (2 Hz) promoveu um aumento acentuado no teor de encefalinas imunorreativas (IR), mas não de dinorfinas IR, ao passo que a estimulação periférica com altas frequências (100 Hz) promoveu aumentos de dinorfinas IR, mas não encefalinas IR. Três anos mais tar-

de, esta hipótese foi corroborada por um estudo<sup>29</sup> que aplicou microinjeções com antissoro de  $\beta$ -endorfinas na substância cinzenta periaquedutal de ratos, verificando 88% de diminuição do efeito analgésico induzido pela EA com a aplicação de uma frequência de 2 Hz, 61% de diminuição com a aplicação de EA de 15 Hz e 0% de redução da analgesia com 100 Hz.

Os resultados obtidos nesses estudos experimentais começaram a ser confirmados também em estudos clínicos a partir de um trabalho que utilizou as técnicas de imuno-reatividade para determinar os peptídeos opioides presentes em amostras do líquido cefalorraquidiano lombar colhidas antes e após a estimulação nervosa elétrica transcutânea realizada com altas (100 Hz) ou baixas frequências (2 Hz). Nesse estudo<sup>30</sup>, os autores verificaram um aumento acentuado (367%,  $P < 0.05$ ) de meta-enkefalinas-Arg-Phe IR (ir-MEAP), mas não de dinorfinas A IR (ir-Dyn), no grupo que recebeu estimulações periféricas de baixas frequências (2 Hz), e um aumento de 49% ( $P < 0,01$ ) de ir-Dyn, mas não de ir-MEAP, no grupo que recebeu estimulações periféricas de altas frequências (100 Hz). Esses achados foram confirmados pelos resultados de trabalhos publicados nos anos seguintes, comprovando que a EA com baixas e altas frequências promovem a liberação seletiva de endorfinas, encefalinas ou dinorfinas<sup>27,31,32</sup> e a ativação de diferentes receptores na medula espinhal<sup>33</sup>, sugerindo a promoção de efeitos terapêuticos diferenciados<sup>34</sup>. Essas pesquisas mostraram que as baixas frequências (2 Hz) facilitam a liberação de encefalinas e  $\beta$ -endorfinas<sup>27,32,35</sup> e ativam os receptores  $\mu$  e  $\delta$  da medula espinhal<sup>33,35</sup>, enquanto que as altas frequências (100 Hz) estimulam apenas a liberação de dinorfinas<sup>27,32,35,36</sup> e ativam os receptores  $\kappa$  da medula espinhal<sup>33,35</sup>.

De forma complementar, foi verificado por meio de ressonância magnética funcional que a analgesia induzida por frequências altas e baixas parece ser mediada também por diferentes áreas do cérebro. Na EA com 2 Hz, foram observadas correlações positivas para área motora primária contralateral [ $+(R^2 = 0,8879)$ ], área motora suplementar [ $+(R^2 = 0,7871)$ ] e giro temporal médio ipsilateral [ $+(R^2 = 0,8250)$ ], e correlações negativas para o hipocampo contralateral [ $-(R^2 = 0,7577)$ ] e ipsilateral [ $-(R^2 = 0,6693)$ ]; enquanto que, na EA com 100 Hz, foram observadas correlações positivas para o lóbulo parietal inferior contralateral [ $+(R^2 = 0,6268)$ ], córtex cingulado anterior ipsilateral [ $+(R^2 = 0,3794)$ ], núcleo *accumbens* [ $+(R^2 = 0,5065)$ ] e ponte [ $+(R^2 = 0,5791)$ ], e correlações negativas [ $-(R^2 = 0,5459)$ ] para a amígdala contralateral<sup>37</sup>. Esse mesmo estudo<sup>37</sup> também constatou que o efeito analgésico proporcionado pela EA de 2 Hz foi considerado significativamente superior ( $P = 0,0275$ ,  $n = 20$ ) ao efeito promovido pela EA de 100 Hz. Um estudo<sup>34</sup> mais recente, que comparou os efeitos terapêuticos da EA nas frequências de 2 Hz e 100 Hz para o tratamento de uma entorse de tornozelo induzida em ratos, com hiperflexão plantar e inversão, constatou que o efeito analgésico provocado pelas duas frequências é muito similar, apresentando diferenças apenas em relação ao fato de que 2 Hz também teve um efeito facilitador para redução do edema, enquanto que 100 Hz promoveu apenas a analgesia. Do mesmo modo, ficou demonstrado que os estímulos provocados pela EA também podem atuar sobre o sistema nervoso autônomo, ativando ou inibindo respostas reflexas simpáticas ou parassimpáticas de acordo com o tipo de frequência utilizada<sup>38,39</sup>.

Desde a primeira demonstração da existência dos receptores opiáceos nos anos 70, diversos trabalhos surgiram, com o objetivo de identificar as substâncias ligantes endógenas com maior afinidade e seletividade a estes receptores, sendo inicialmente estudadas em diversos artigos somente encefalinas, endorfinas e dinorfinas e seus respectivos receptores<sup>40</sup>. No entanto, desde que a endomorfina-1 (EM-1) e a endomorfina-2 (EM-2) foram reconhecidas, dois novos peptídeos compostos por apenas quatro resíduos de aminoácidos foram isolados e purificados a partir do cérebro de bovinos<sup>41</sup> e passaram a ser reconhecidos como os peptídeos endógenos opioides portadores de maiores afinidades e seletividades para os receptores  $\mu$ -opioides em comparação a qualquer outra substância endógena opioide conhecida<sup>31,40-43</sup>. Foi relatado também que estes tetrapeptídeos foram encontrados no cérebro humano em quantidades muito mais elevadas do que no córtex frontal de bovinos<sup>44</sup>. De modo similar ao que foi identificado nos trabalhos que estudaram os efeitos da EA com baixas e altas frequências na liberação seletiva de endorfinas e encefalinas, verificou-se, também, que a aplicação dose-dependente de anticorpos contra EM-1

ou EM-2 injetados no espaço intratecal espinhal<sup>39</sup> ou no ventrículo cerebral<sup>45</sup>, antagonizaram a analgesia induzida pela EA de 2 Hz sem afetar a analgesia induzida por 100 Hz. Em relação às doses mínimas necessárias para promoção do bloqueio da analgesia, ficou demonstrado que, enquanto na medula espinhal, a analgesia por EA de 2 Hz foi atenuada pela aplicação de injeção intratecal de um antissoro para endomorfina-1 na diluição de 1:10 e 1:100, mas não na diluição de 1:1000, no cérebro esta atenuação ocorreu apenas através da aplicação de injeção intracerebroventricular do antissoro de EM-1 ou EM-2 na diluição de 1:10 em 5 ml<sup>45</sup>.

No atendimento a pacientes portadores de doenças com dores crônicas, a EA demonstrou ser uma técnica muito eficaz para promoção de analgesias. Sabe-se que a aplicação da EA em apenas uma única faixa de frequência (baixa ou alta) não é suficiente para promover a liberação simultânea dos quatro tipos de peptídeos opioides endógenos. Assim, dois modelos de estimulação foram principalmente estudados e testados com o objetivo de possibilitar a liberação simultânea destes quatro tipos de opioides endógenos: no modelo “A”, aplica-se, em um mesmo local do corpo, estímulos em baixas (2 Hz) e altas (100 Hz) frequências, de forma alternada com espaçamento regular e automático entre elas, de modo a produzir um efeito sinérgico no qual o efeito residual produzido pela primeira estimulação de baixa frequência se sobreponha ao estímulo seguinte produzido pela alta frequência<sup>27,46</sup>; no modelo “B” aplica-se a estimulação de 2 e 100 Hz simultaneamente, em diferentes partes do corpo, promovendo a liberação simultânea de todos os quatro tipos de peptídeos opioides<sup>27</sup>.

Diversos estudos foram realizados para verificar qual dos dois modelos seria o mais funcional e produziria o melhor e mais potente efeito analgésico. Em relação ao modelo “A”, concluíram que a programação dos parâmetros de EA para realizar mudanças automáticas a cada 3 segundos entre os estímulos de baixas (2 Hz) e altas (100 Hz) frequências seria a estratégia mais eficaz para promover uma ativação simultânea dos sistemas de encefalinas, endorfinas,  $\beta$ -endorfinas e dinorfinas, promovendo, assim, um efeito analgésico muito mais potente do que o verificado através de qualquer outra estratégia de aplicação frequências constantes de estimulação<sup>46</sup>. Estudando o modelo “B”, verificou-se que o mesmo poderia promover analgesia por meio de dois possíveis mecanismos de ações com resultados clínicos bem diferenciados: no modelo “B1”, o cérebro seria capaz de distinguir claramente duas diferentes frequências de estimulação (2 Hz ou 100 Hz) e, como consequência, faria com que os dois sistemas eferentes trabalhassem simultaneamente, promovendo uma analgesia potente através da ativação simultânea de todos os sistemas de opioides; no modelo “B2”, os dois sinais diferentes (2 e 100 Hz), provenientes de dois locais diferentes, se fundiriam na formação reticular do tronco cerebral, de forma que seriam percebidos como uma estimulação de 102 Hz, o que não seria distinguível de uma estimulação de 100 Hz.

Três experimentos realizados em ratos de laboratório fundamentaram bem o modelo “B2”, considerando-o muito mais viável que o modelo “B1”. No primeiro experimento, foi verificado um aumento no conteúdo de dinorfinas IR no fluido espinhal (representando um aumento na liberação do peptídeo dinorfina), tanto no modelo “A” como no modelo “B”, sendo que, apenas no modelo “A”, ocorreu também um aumento na liberação de endorfina IR em ratos tratados em laboratório. No segundo experimento, a aplicação de uma injeção intratecal de uma substância antagonista dos receptores opioides k (norbinaltorphimide [Nor-BNI]) suprimiu os efeitos analgésicos nos modelos “A” e “B”, mas a aplicação de uma substância antagonista dos receptores opioides  $\mu$  (D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr amide ([CTOP]) produziu um bloqueio de analgesia seletivo apenas para o modelo “A”. No terceiro experimento, estes dois resultados foram novamente validados pela aplicação de microinjeções de anticorpos, seguindo o mesmo procedimento da aplicação de substâncias antagonistas<sup>47</sup>. Com base nos resultados apresentados, pode-se concluir que o modelo “A” proporciona um efeito analgésico muito mais potente e eficaz, uma vez que consegue estimular a liberação dos quatro tipos de opioides endógenos e ativar todos os três sistemas de receptores opioides ( $\mu$ ,  $\delta$  e k) para induzir a um efeito analgésico sinérgico, enquanto que o modelo “B” ativa somente o sistema de receptores opioides k, promovendo os efeitos analgésicos simila-

res aos provocados pela estimulação em uma única frequência de 100 Hz. Diversos estudos realizados em humanos confirmaram os resultados descritos acima, demonstrando uma maior eficácia do modelo “A” para promoção de analgesias mais potentes tanto em casos de dores agudas (pós-operatório imediato)<sup>48,49</sup> como crônicas (dor lombar e dor neuropática diabética)<sup>50,51</sup>.

Apesar de a maioria das pesquisas confirmar a hipótese de que a analgesia por acupuntura é mediada pela liberação de endorfinas e outros opioides endógenos, outros trabalhos<sup>52-54</sup> não confirmaram esta hipótese, relatando que a administração da naloxona não conseguiu reverter a analgesia provocada pela acupuntura. Tais resultados estão influenciados pelos métodos empregados, principalmente pela escolha do momento de administração da naloxona. Por exemplo, foi demonstrado que as drogas antagonistas (ex.: naltroxona) funcionam melhor quando são administradas antes do tratamento e que não conseguem reverter a analgesia já iniciada<sup>55,56</sup>. Alguns autores discutiram a possibilidade das endorfinas criarem um efeito cascata que impossibilitaria a supressão da analgesia posterior à EA pelo fato de os efeitos resultantes deste mecanismo não serem mais dependentes da presença de endorfinas, não sendo mais afetados, conseqüentemente, pela presença de antagonistas de opiáceos<sup>56</sup>. Numa tentativa de esclarecer as dúvidas geradas na literatura, muitas pesquisas foram realizadas em humanos e animais, utilizando diferentes métodos, para demonstrar que a analgesia por acupuntura é um processo neurobiológico complexo, mediado não apenas por endorfinas, encefalinas e dinorfinas mas também por uma grande variedade de neuropeptídios, hormônios, monoaminas, catecolaminas e substâncias moduladoras e transmissoras, tais como a serotonina<sup>57-61</sup>, a neurotensina<sup>62,63</sup>, a colecistoquinina octapeptídeo<sup>64-67</sup>, a angiotensina II<sup>68</sup>, a dopamina<sup>69-71</sup> e a noradrenalina<sup>72-75</sup>.

#### **PARTICIPAÇÃO DA SEROTONINA NOS MECANISMOS DE INDUÇÃO A ANALGESIA POR AM E EA**

A serotonina, quimicamente representada pela 5-hidroxitriptamina (5-HT), é uma monoamina mesencefálica com implicações importantes sobre a modulação da nocicepção. O núcleo magno da rafe, localizado na extremidade inferior do tronco encefálico, contém a maioria das células de serotonina do cérebro. Esta região do encéfalo é responsável pelo envio de impulsos, via trato dorsolateral, para liberação de serotonina e norepinefrina para as células do corno dorsal da medula espinhal<sup>73</sup>, desempenhando um papel de importância fundamental na modulação descendente da dor<sup>76</sup>. Experimentos realizados em animais demonstraram que a analgesia induzida por acupuntura pode ser bloqueada por lesões provocadas nas células do núcleo magno da rafe ou em seus axônios que seguem pelo trato dorsolateral<sup>58,60</sup>. Foi evidenciado que a AM e a EA possuem a capacidade de aumentar a produção, concentração e utilização da 5-hidroxitriptamina e de seus metabólitos no núcleo magno da rafe e na medula espinhal, e que, por outro lado, o bloqueio da síntese de 5-HT também reduz a analgesia por acupuntura<sup>57,61</sup>. A analgesia por acupuntura também é bloqueada pela administração de fármacos antagonistas (metisergida naloxona) e que impedem o acoplamento da 5-HT a seus receptores<sup>59</sup>.

#### **PARTICIPAÇÃO DA NEUROTENSINA NOS MECANISMOS DE INDUÇÃO À ANALGESIA POR AM E EA**

A neurotensina é um neuropeptídeo vasoativo que foi isolado pela primeira vez a partir de extratos do hipotálamo de bovinos, por sua grande capacidade para causar vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular local<sup>77,78</sup>. Recentemente foi verificado que a neurotensina atua, dentre outras funções, como um neurotransmissor que desempenha funções nos processos de aprendizagem<sup>79</sup>, exerce diversos efeitos neuroquímicos semelhantes aos provocados pela administração aguda de drogas antipsicóticas<sup>80</sup> e participa dos processos de indução de analgesia pela ativação da via descendente antinociceptiva dos neurônios da substância cinzenta periaquedutal e do bulbo ventromedial rostral<sup>81</sup>. Estas vias descendentes que partem do mesencéfalo exercem um efeito inibitório e modulador sobre o cordão posterior da

medula, onde o equilíbrio entre as aferências nociceptivas e não nociceptivas pode exercer um importante papel no controle da transmissão das informações dolorosas para os centros superiores<sup>82,83</sup>.

Foi observado que a substância cinzenta periaquedutal possui muitos neurônios que expressam uma alta densidade de receptores para neurotensina e uma grande quantidade de fibras nervosas neurotensinérgicas, ambos envolvidos na modulação descendente da dor<sup>81,84</sup>. A aplicação de microinjeções de neurotensina na substância cinzenta periaquedutal do tronco cerebral de ratos produziu efeitos analgésicos muito potentes<sup>62</sup> e melhorou a qualidade da analgesia induzida pela EA<sup>63</sup>. O reforço na analgesia proporcionada pela neurotensina pode ter sido parcialmente mediado pela liberação de encefalinas e  $\beta$ -endorfinas na substância cinzenta periaquedutal e a aplicação da EA pode ter favorecido a produção e secreção da neurotensina provavelmente em decorrência do estímulo provocado pela liberação destes opioides na substância cinzenta periaquedutal<sup>63</sup>.

### **PARTICIPAÇÃO DA COLECISTOQUININA OCTAPEPTÍDEO E DE SEUS RECEPTORES NOS MECANISMOS DE BLOQUEIO À ANALGESIA INDUZIDA POR AM OU EA**

A colecistoquinina (CCK) foi o primeiro hormônio peptídeo de origem gastrointestinal a ser descoberto no encéfalo. Seus receptores aparecem distribuídos por todo o sistema gastrointestinal e nervoso e podem ser farmacologicamente classificados em dois subtipos<sup>85</sup>: CCK<sub>A</sub> e CCK<sub>B</sub>. Suas funções, inicialmente, foram relacionadas à promoção de contração da vesícula biliar, aumento da secreção de enzimas pancreáticas, retardamento do esvaziamento gástrico, potencialização da secreção de insulina, controle da ingestão de alimentos e saciedade, regulação da motilidade intestinal e promoção do crescimento do pâncreas em certos animais<sup>86</sup>. No SNC de mamíferos, a colecistoquinina é encontrada na forma de octapeptídeo (CCK-8), estando presente em maiores concentrações nas áreas reconhecidamente associadas à modulação da dor como a substância cinzenta cortical, substância cinzenta periaquedutal, núcleo ventromedial do tálamo e corno dorsal da medula espinhal<sup>87</sup>.

Ficou bem demonstrado que a CCK-8 atua nestas áreas como um importante antagonista fisiológico aos opioides endógenos<sup>66,67,87</sup>. Diversos experimentos comprovaram que a concentração de CCK-8 é inversamente proporcional à qualidade da analgesia proporcionada pela EA<sup>64,66,67</sup>. A existência de diferentes respostas individuais à analgesia induzida por acupuntura pode ser explicada por associação a fatores genéticos relacionados à densidade de expressão dos receptores de CCK-8, ao invés de ser exclusivamente associada a fatores psicológicos<sup>65</sup>. Ficou demonstrado que os receptores CCK<sub>A</sub> são, de modo significativo, mais densamente expressos nos indivíduos que não respondem bem à analgesia induzida por acupuntura, enquanto que a expressão dos receptores CCK<sub>B</sub> não possui diferenças de expressão entre os maus e bons respondedores à analgesia por acupuntura<sup>65</sup>. Finalmente, um estudo realizado em ratos demonstrou também que a injeção intratecal ou intracerebroventricular de CCK-8 é capaz de bloquear a analgesia induzida por morfina ou EA<sup>64</sup>, confirmando a presença de um mecanismo opioidenérgico na mediação dos efeitos analgésicos da acupuntura.

### **PARTICIPAÇÃO DA ANGIOTENSINA II E DE SEUS RECEPTORES NOS MECANISMOS DE BLOQUEIO À ANALGESIA INDUZIDA POR AM OU EA**

A angiotensina II (ATII) é um neuropeptídeo amplamente distribuído no SNC, que está envolvido em muitas funções fisiológicas e possui intensa participação nos mecanismos de modulação da dor<sup>88-90</sup>. Estudos preliminares demonstraram que o papel da ATII na analgesia por EA é comparável ao da CCK-8. Verificou-se que a EA em 100 Hz promoveu um aumento significativo do conteúdo de ATII espinhal, enquanto que a aplicação de baixas frequências (2 Hz e 15 Hz) levou à diminuição nos níveis de ATII, sendo que a aplicação de 2 Hz produziu uma pequena diminuição e a de 15 Hz produziu uma maior diminuição. Além disso, confirmando estes achados, a administração intratecal de saralasin (antagonista

dos receptores de ATII) gerou uma potencialização significativa na analgesia induzida por EA de 100 Hz, sem alterações significativas na analgesia induzida por 2 Hz e 15 Hz. Provavelmente, a EA de 100 Hz acelerou a liberação de ATII através de algum mecanismo de “freio” em resposta à analgesia induzida. A remoção deste freio através da administração de fármacos antagonistas da angiotensina II pode ser uma técnica aconselhável para a potencialização dos efeitos analgésicos produzidos pela EA de 100 Hz<sup>68</sup>.

### **PARTICIPAÇÃO DA DOPAMINA E DE SEUS RECEPTORES NOS MECANISMOS DE BLOQUEIO À ANALGESIA INDUZIDA POR AM E EA**

A dopamina (DA) é uma catecolamina neurotransmissora predominante no cérebro de mamíferos e de uma ampla variedade de animais, incluindo os vertebrados e invertebrados. Dentre todas as catecolaminas neurotransmissoras presentes no SNC, a dopamina é a principal participante no controle da atividade locomotora, cognição, emoção, reforço positivo, ingestão alimentar e regulação endócrina<sup>91</sup>. Os sistemas dopaminérgicos têm sido o foco de muitas pesquisas nos últimos 40 anos, principalmente porque várias condições patológicas, como a doença de Parkinson, esquizofrenia, síndrome de Tourette e hiperprolactinemia foram associadas a uma desregulação da transmissão dopaminérgica. Como consequência, foram farmacologicamente desenvolvidos e aprimorados diversos tipos de agonistas e antagonistas dos receptores de dopamina.

Vários estudos demonstraram que os antagonistas dos receptores da DA potencializaram o efeito analgésico da EA<sup>69,70</sup> por favorecerem a regulação positiva de receptores opioides em regiões específicas do cérebro<sup>69</sup>, sugerindo que a administração de drogas que possuem efeito antagonista sobre os receptores da dopamina central (I-tetrahidropalmatina, tetrahydroberberina e l-estefolidina) poderia ser utilizada como agentes sinérgicos da analgesia por acupuntura<sup>70</sup>. No entanto, deve-se levar em consideração que o bloqueio dos receptores de DA pode induzir o aparecimento de efeitos extrapiramidais semelhantes aos provocados pela diminuição desta catecolamina<sup>91</sup>. A pesquisa para descobrir medicamentos dopaminérgicos seletivos, desprovidos de efeitos adversos levou à descoberta e caracterização de cinco diferentes subtipos de receptores – D1 a D5<sup>91</sup>. A comparação dos efeitos provocados pela administração de agonistas seletivos para os receptores D1 e D2 (quimpirola) dentro do núcleo *accumbens* de ratos submetidos à analgesia por EA mostrou que a atividade agonista do receptor D1 pode reduzir a analgesia por EA, enquanto que a atividade de D2 não exerce influência significativa sobre esta analgesia<sup>71</sup>.

### **PARTICIPAÇÃO SELETIVA DA NORADRENALINA NOS MECANISMOS DE INDUÇÃO E BLOQUEIO À ANALGESIA POR AM E EA**

A noradrenalina (NA) é uma monoamina mesencefálica que atua como neurotransmissor e hormônio, exercendo influências sobre o humor, a ansiedade, o ritmo cardíaco, o estado de alerta, o sono e a alimentação. Além destas funções fisiológicas bem descritas pela literatura, a noradrenalina pode suprimir neuroinflamações produzidas no cérebro em doenças como o Alzheimer<sup>92</sup> e parece desempenhar um importante papel na modulação descendente da dor<sup>76</sup>. O *locus coeruleus*, um núcleo reticular que consiste em um grupo de neurônios localizados na parte posterior do tronco cerebral onde o mesencéfalo e a ponte se encontram, é o principal local de síntese de noradrenalina no cérebro<sup>93</sup>.

Diversos estudos revelaram que os estímulos algícos persistentes provocados por lesões de fibras aferentes primárias ou inflamações periféricas estimulam a potencialização dos impulsos descendentes noradrenérgicos para inibição da dor no corno dorsal da medula, melhorando de forma sustentada e determinante a realização deste mecanismo compensatório<sup>94-96</sup>. Outros estudos<sup>76,97</sup> mostraram que os receptores adrenérgicos A2 da medula espinhal desempenham especificamente um papel extremamente importante neste controle inibitório da dor através das projeções noradrenérgicas descendentes. A injeção intratecal de um antagonista da NA anulou a analgesia induzida por EA, comprovando a importância



das vias descendentes noradrenérgicas para os mecanismos de inibição da dor<sup>73</sup>. Um trabalho recente também mostrou que a aplicação de injeção intratecal do antagonista do receptor adrenérgico A2 (5-HT1A e 5-HT3) na medula espinhal promoveu um bloqueio significativo da analgesia induzida pela EA em ratos com dor neuropática<sup>75</sup>. No entanto, outros trabalhos demonstraram que a analgesia induzida pela EA promoveu uma diminuição no teor de NA no cérebro de ratos<sup>72,74</sup>, e que a destruição dos terminais noradrenérgicos no núcleo dorsal da rafe produziu um aumento na eficácia da analgesia por acupuntura EA, sugerindo que a presença da NA nos núcleos cerebrais pode induzir a inibição da analgesia por acupuntura EA<sup>72</sup>. No conjunto, as pesquisas realizadas com EA sugerem que a NA parece exercer ações diferentes na coluna vertebral e nos níveis supraespinhais, potencializando a analgesia no nível da medula espinhal e inibindo-a nos núcleos cerebrais.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Praticamente todos os estudos realizados nas últimas décadas apoiam a hipótese de que o cérebro processa os sinais e organiza os efeitos analgésicos induzidos pela acupuntura<sup>73,98,99</sup>. Pesquisas sobre os mecanismos de ação da acupuntura por meio de imagens do sistema nervoso demonstraram a existência de fortes associações entre a analgesia por acupuntura e as mudanças na atividade no córtex cerebral e no tálamo, revelando que os mecanismos da analgesia envolvem tanto o sistema de opioides endógenos e as vias ascendentes e descendentes do SNC<sup>100</sup> como a participação de diversos tipos de neuropeptídios, hormônios, monoaminas, catecolaminas e outras substâncias moduladoras e transmissoras.

Em relação à AM, a manipulação de agulhas ativa as fibras aferentes A $\delta$  e C dos músculos associados a estes pontos e promove o envio de sinais nervosos via medula para os centros superiores no cérebro. Por sua vez, a ativação destes centros provoca a liberação dos diversos neurotransmissores endógenos que são responsáveis pela promoção da analgesia por acupuntura<sup>7</sup>. Alguns fatores ainda precisam ser investigados para esclarecimento dos seus potenciais efeitos sobre a percepção da dor. Por exemplo, as diferentes formas de manipulação da agulha – incluindo a frequência e direção da rotação, a profundidade de inserção e a pistonagem da agulha – são parâmetros difíceis de executar com a mesma precisão produzida pela corrente elétrica da EA.

Em relação à EA, quando aplicada em frequências específicas, pode facilitar a liberação seletiva de determinados neuropeptídios no SNC, provocando diferentes efeitos fisiológicos e ativando mecanismos de autocura<sup>27</sup>. A melhor opção para promover efeitos analgésicos mais potentes no tratamento com EA é a aplicação de estímulos em baixas (2 Hz) e altas (100 Hz) frequências de forma alternada, com espaçamento regular e automático de três segundos entre elas, para possibilitar a geração de um efeito analgésico sinérgico e tornar possível a liberação plena dos quatro tipos de opioides endógenos e ativação completa dos três sistemas de receptores opioides.

Caso o acupunturista clínico não possa programar o seu aparelho para aplicação automática de duas frequências alternadas e tenha que realizar a aplicação de apenas um tipo de frequência (baixa ou alta), a escolha pela utilização isolada de baixas frequências (2 Hz ou 15 Hz) pode ser mais adequada que a utilização isolada de altas frequências (100 Hz). Pode-se justificar essa escolha pelos seguintes motivos: (1) a frequência isolada de 2 Hz pode promover uma maior analgesia em comparação à utilização de 100 Hz, por diminuir a concentração de ATII espinhal e ainda auxiliar na diminuição de edemas, (2) a frequência isolada de 15 Hz, além de possibilitar a liberação parcial dos quatro tipos de opioides endógenos, pode promover uma diminuição ainda mais significativa na concentração de ATII espinhal em comparação ao proporcionado pela frequência de 2 Hz. Considerando-se que a ATII é um neuropeptídio que antagoniza os opioides endógenos no SNC, provavelmente a observação de que as baixas frequências proporcionam maior analgesia do que as altas frequências relaciona-se diretamente à constatação de que baixas frequências promovem uma diminuição significativa na concentração da ATII espinhal, enquanto

altas frequências promovem um aumento significativo do conteúdo de ATII espinhal. A demonstração de que os receptores CCK<sub>A</sub> são significativamente mais densamente expressos nos indivíduos que não respondem bem à analgesia induzida por acupuntura é um achado importante, que abre caminho para a elaboração de pesquisas direcionadas à verificação deste achado e criação de futuras explicações neurobiológicas no que concerne ao percentual de insucesso da acupuntura em grupos tratados com o mesmo tipo de protocolo para um mesmo tipo de doença.

**Conflitos de interesse:** declararam não haver

**Fontes de financiamento:** nenhuma

**Colaboradores:** Os autores contribuíram em todas as fases do artigo.

## REFERÊNCIAS

- 100 Alavi A, LaRiccica PJ, Sadek AH, Newberg AB, Lee L, Reich H, et al. Neuroimaging of acupuncture in patients with chronic pain. *J Altern Complement Med.* 1997; 3(1):S47-S53.
- 62 Al-Rodhan NR, Richelson E, Gilbert JA, McCormick DJ, Kanba KS, Pfenning MA, et al. Structure-antinociceptive activity of neurotensin and some novel analogues in the periaqueductal gray region of the brainstem. *Brain Res.* 1991; 557(1-2):227-35.
- 5 Ambrósio EMM, Bloor K, MacPherson H. Costs and consequences of acupuncture as a treatment for chronic pain: a systematic review of economic evaluations conducted alongside randomized controlled trials. *Complement Ther Med.* 2012; 20(5):364-374.
- 87 Baber NS, Dourish CT, Hill DR. The role of CCK caerulein, and CCK antagonists in nociception. *Pain.* 1989; 39(3):307-328.
- 63 Bai B, Wang H, Liu WY, Song CY. Effect of anti-opioid peptide sera on the enhancement of electroacupuncture analgesia induced by neurotensin in PAG of rats. *Sheng Li Xue Bao.* 1999; 51(2):224-8. [Article in Chinese].
- 93 Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: functional organization and potential clinical significance. *Neurology.* 2009; 73(20):1699-704.
- 99 Cao X. Scientific bases of acupuncture analgesia. *Acupunct Electrother Res.* 2002; 27(1):1-14.
- 78 Carraway R, Leeman SE. The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin. *J Biol Chem.* 1975; 250(5):1907-11.
- 7 Carraway R, Leeman SE. The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalamus. *J Biol Chem.* 1973; 248(19):6854-61.
- 61 Chang FC, Tsai HY, Yu MC, Yi PL, Lin JG. The central serotonergic system mediates the analgesic effect of electroacupuncture on ZUSANLI (ST36) acupoints. *J Biomed Sci.* 2004; 11(2):179-85.
- 54 Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R. Naloxone fails to reverse pain thresholds elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. *Pain.* 1983; 16(1):13-31.
- 52 Chapman CR, Colpitts YM, Benedetti C, Kitaef R, Gehrig JD. Evoked potential assessment of acupunctural analgesia: attempted reversal with naloxone. *Pain.* 1980; 9(2):183-197.
- 35 Chen XH, Geller EB, Adler MW. Electrical stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996; 277(2):654-60.
- 46 Chen XH, Guo SF, Chang CG, Han JS. Optimal conditions for eliciting maximal electroacupuncture analgesia with dense-and-disperse mode stimulation. *Am J Acupunct.* 1994; 22(1):47-53.
- 33 Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res.* 1992; 47(2):143-9.
- 10 Cheng RS, Pomeranz BH. Electroacupuncture analgesia is mediated by stereospecific opiate receptors and is reversed by antagonists of type I receptors. *Life Sci.* 1980; 26(8):631-8.
- 80 Dobner PR, Fadel J, Deitemeyer N, Carraway RE, Deutch AY. Neurotensin-deficient mice show altered responses to antipsychotic drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98(14):8048-53.
- 72 Dong XW, Jan ZM, Fu LW. 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.* 1978; 10:119-125. [Article in Chinese].
- 4 Dorsher PT. Acupuncture for chronic pain. *Tech Reg Anesth Pain Manag.* 2011; 15(2):55-63.

- 60 Du HJ, Kitahata LM, Thalhammer JG, Zimmermann M. Inhibition of nociceptive neuronal responses in the cat's spinal dorsal horn by electrical stimulation and morphine microinjection in nucleus raphe magnus. *Pain*. 1984;19(3):249-57.
- 3 Ernst E. Acupuncture : a critical analysis. *J Internal Med*. 2006; 259(2):125-37.
- 28 Fei H, Xie GX, Han JS. Low and high frequency electroacupuncture stimulation release met 5-enkephalin and dynorphin A and in rat spinal cord. *Sci Bull China*. 1987; 32:1496-1501.
- 18 Foster JM, Sweeney BP. The mechanisms of acupuncture analgesia. *Br J Hosp Med*. 1987; 38(4):308-12.
- 22 Fu H. What is the material base of acupuncture? The nerves! *Med Hypotheses*. 2000; 54(3):358-9.
- 98 Futaesaku Y, Zhai N, Ono M, Watanabe M, Zhao J, Zhang C, et al. Brain activity of a rat reflects apparently the stimulation of acupuncture. A radioautography using 2-deoxyglucose. *Cell Mol Biol*. 1995; 41(1):161-70.
- 50 Ghoname EA, Craig WF, White PF, Ahmed HE, Hamza MA, Henderson BN, et al. Percutaneous electrical nerve stimulation for low back pain: a randomized crossover study. *JAMA*. 1999; 281(9):818-23.
- 83 Gutstein HB, Mansour A, Watson SJ, Akil H, Fields HL. Mu and kappa opioid receptors in periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Neuroreport*. 1998; 9(8):1777-81.
- 44 Hackler L, Zadina JE, Ge LJ, Kastin AJ. Isolation of relatively large amounts of endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex. *Peptides*. 1997; 18(10):1635-9.
- 34 Hahm TS. The effect of 2 Hz and 100 Hz electrical stimulation of acupoint on ankle sprain in rats. *J Korean Med Sci*. 2007; 22(2):347-51.
- 49 Hamza MA, White PF, Ahmed HE, Ghoname EA. Effect of the frequency of transcutaneous electrical nerve stimulation on the postoperative opioid analgesic requirement and recovery profile. *Anesthesiology*. 1999; 91(5):1232-8.
- 51 Hamza MA, White PF, Craig WF, Ghoname ES, Ahmed HE, Proctor TJ, et al. Percutaneous electrical nerve stimulation: a novel analgesic therapy for diabetic neuropathic pain. *Diabetes Care*. 2000; 23(3):365-70.
- 57 Han CS, Chou PH, Lu CC, Lu LH, Yang TH, Jen MF. The role of central 5-hydroxytryptamine in acupuncture analgesia. *Sci Sin*. 1979; 22(1):91-104.
- 69 Han J, Re M, Tang J, Fan S, Xu J, Guan X. The role of central catecholamine in acupuncture analgesia. *Chin Med J*. 1979; 92(11):793-800.
- 30 Han JS, Chen XH, Sun SL, Xu XJ, Yuan Y, Yan SC, et al. Effect of low- and high-frequency TENS on Met-enkephalin-Arg-Phe and dynorphin A immunoreactivity in human lumbar CSF. *Pain*. 1991; 47(3):295-8.
- 64 Han JS, Ding XZ, Fan SG. Cholecystokinin octapeptide (CCK-8): antagonism to electroacupuncture analgesia and a possible role in electroacupuncture tolerance. *Pain*. 1986; 27(1):101-15.
- 73 Han JS, Terenius L. Neurochemical basis of acupuncture analgesia. *Annu Review Pharmacol Toxicol*. 1982; 22:193-220.
- 26 Han JS, Wang Q. Mobilization of specific neuropeptides by peripheral stimulation of identified frequencies. *News Physiol Sci*. 1992;7:176-80.
- 6 Han JS. Acupuncture analgesia: Areas of consensus and controversy. *Pain*. 2011; 3 Suppl 152:S41-8.
- 32 Han JS. Acupuncture and endorphins. *Neurosci Lett*. 2004; 361(1-3):258-61.
- 27 Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci*. 2003; 26(1):17-22.
- 89 Han NL, Luo F, Bian ZP, Han JS. Synergistic effect of cholecystokinin octapeptide and angiotensin II in reversal of morphine induced analgesia in rats. *Pain*. 2000; 85(3):465-9.
- 31 Han Z, Jiang YH, Wan Y, Wang Y, Chang JK, Han JS. Endomorphin-1 mediates 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture analgesia in the rat. *Neurosci Lett*. 1999; 274(2):75-8.
- 29 He CM, Han JS. Attenuation of low rather than high frequency electroacupuncture analgesia following microinjection of beta-endorphin antiserum into the periaqueductal gray in rats. *Acupunct Sci Int J*. 1990;1:19-27.
- 92 Heneka MT, Nadrigny F, Regen T, Martinez-Hernandez A, Dumitrescu-Ozimek L, Terwel D, et al. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(13):6058-63.
- 67 Huang C, Hu ZP, Jiang SZ, Li HT, Han JS, Wan Y. CCK(B) receptor antagonist L365,260 potentiates the efficacy to and reverses chronic tolerance to electroacupuncture-induced analgesia in mice. *Brain Res Bull*. 2007; 71(5):447-451.

- 45 Huang C, Wang Y, Chang JK, Han JS. Endomorphin and mu-opioid receptors in mouse brain mediate the analgesic effect induced by 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture stimulation. *Neurosci Lett.* 2000; 294(3):159-62.
- 21 Jin HO, Zhou L, Lee KY, Chang TM, Chey WY. Inhibition of acid secretion by electrical acupuncture is mediated via beta-endorphin and somatostatin. *Am J Physiol.* 1996; 271:G524-530.
- 75 Kim SK, Park JH, Bae SJ, Kim JH, Hwang BG, Min BI, et al. Effects of electroacupuncture on cold allodynia in a rat model of neuropathic pain: mediation by spinal adrenergic and serotonergic receptors. *Exp Neurol.* 2005;195(2):430-6.
- 66 Ko ES, Kim SK, Kim JT, Lee G, Han JB, Rho SW, et al. The difference in mRNA expressions of hypothalamic CCK and CCK-A and -B receptors between responder and non-responder rats to high frequency electroacupuncture analgesia. *Peptides.* 2006; 27(7):1841-5.
- 79 László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, Ollmann T, Madarassy-Szücs A, et al. The role of neurotensin in passive avoidance learning in the rat central nucleus of amygdala. *Behav Brain Res.* 2012; 226(2):597-600.
- 65 Lee G, Rho S, Shin M, Hong M, Min B, Bae H. The association of cholecystokinin-A receptor expression with the responsiveness of electroacupuncture analgesic effects in rat. *Neurosci Lett.* 2002; 325(1):17-20.
- 81 Li AH, Hwang HM, Tan PP, Wu T, Wang HL. Neurotensin excites periaqueductal gray neurons projecting to the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol.* 2001; 85(4):1479-88.
- 39 Liao JM, Lin CF, Ting H, Chang CC, Lin YJ, Lin TB. Electroacupuncture at Hoku elicits dual effect on autonomic nervous system in anesthetized rats. *Neurosci Res.* 2002; 42(1):15-20.
- 97 Liu RH, Zhao ZQ. Selective blockade by yohimbine of descending spinal inhibition from lateral reticular nucleus but not from locus coeruleus in rats. *Neurosci Lett.* 1992;142(1):65-8.
- 19 Malizia E, Andreucci G, Paolucci D, Crescenzi F, Fabbri A, Fraioli F. Electroacupuncture and peripheral beta-endorphin and ACTH levels. *Lancet.* 1979; 2(8141):535-6.
- 8 Mayer DJ, Price DD, Rafii A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 1977;121(2):368-72.
- 76 Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science.* 1965;150(3699):971-79. 82
- Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 2002; 66(6):355-474.
- 91 Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev.* 1998; 78(1):189-225.
- 43 Mizoguchi H, Narita M, Oji DE, Suganuma C, Nagase H, Sora I, et al. The mu-opioid receptor gene-dose dependent reductions in G-protein activation in the pons/medulla and antinociception induced by endomorphins in mu-opioid receptor knockout mice. *Neuroscience.* 1999; 94(1):203-7.
- 86 Mutt V, Jorpes JE. Structure of porcine cholecystokinin-pancreozymin. 1. Cleavage with thrombin and with trypsin. *Eur J Biochem.* 1968; 6(1):156-62.
- 23 Pan B, Castro-Lopes JM, Coimbra A. Activation of anterior lobe corticotrophs by electroacupuncture or noxious stimulation in the anaesthetized rat, as shown by colocalization of Fos protein with ACTH and beta-endorphin and increased hormone release. *Brain Res Bull.* 1996; 40(3):175-82.
- 13 Peets JM, Pomeranz B. CXBK mice deficient in opiate receptors show poor electroacupuncture analgesia. *Nature.* 1978; 273(5664):675-6.
- 56 Pomeranz B, Bibic L. Electroacupuncture suppresses a nociceptive reflex: naltrexone prevents but does not reverse this effect. *Brain Res.* 1988; 452(1-2):227-31.
- 12 Pomeranz B, Cheng R. Suppression of noxious responses in single neurons of cat spinal cord by electroacupuncture and its reversal by the opiate antagonist naloxone. *Exp Neurol.* 1979; 64(2):327-41.
- 7 Pomeranz B, Chiu D. Naloxone blockade of acupuncture analgesia: endorphin implicated. *Life Sci.* 1976; 19(11):1757-62.
- 2 Robinson MM, Zhang XR. Traditional medicines: global situation, issues and challenges. 3rd edition. Geneva: WHO;2011.
- 94 Satoh O, Omote K. Roles of monoaminergic, glycinergic and GABAergic inhibitory systems in the spinal cord in rats with peripheral mononeuropathy. *Brain Res.* 1996; 728(1):27-36.
- 14 Sekido R, Ishimaru K, Sakita M. Differences of electroacupuncture-induced analgesic effect in normal and inflammatory conditions in rats. *Am J Chin Med.* 2003; 31(6):955-65.
- 68 Shen S, Li J, Wang XM, Han JS. Angiotensin II release and anti-electroacupuncture analgesia in spinal cord. *Sheng Li Xue Bao* 1996; 48(6):543-50. [Article in Chinese].

- 59 Shimizu T, Koja T, Fujisaki T, Fukuda T. Effects of methysergide and naloxone on analgesia induced by the peripheral electric stimulation in mice. *Brain Res.* 1981; 208(2):463-7.
- 9 Sjölund BH, Eriksson MB. The influence of naloxone on analgesia produced by peripheral conditioning stimulation. *Brain Res.* 1979;173(2):295-301.
- 17 Stein C, Schäfer M, Machelska H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids. *Nat Med.* 2003; 9(8):1003-8.
- 16 Stein C. Peripheral analgesic actions of opioids. *J Pain Symptom Manage.* 1991;6(3):119-24.
- 38 Stener-Victorin E, Kobayashi R, Kurosawa M. Ovarian blood flow responses to electro-acupuncture stimulation at different frequencies and intensities in anaesthetized rats. *Auton Neurosci.* 2003;108(1-2):50-6.
- 42 Stone LS, Fairbanks CA, Laughlin TM, Nguyen HO, Bushy TM, Wessendorf MW, et al. Spinal analgesic actions of the new endogenous opioid peptides endomorphin-1 and -2. *Neuroreport.* 1997; 8(14):3131-5.
- 95 Stone LS, Vulchanova L, Riedl MS, Wang J, Williams FG, Wilcox GL, et al. Effects of peripheral nerve injury on alpha-2A and alpha-2C adrenergic receptor immunoreactivity in the rat spinal cord. *Neuroscience.* 1999; 93(4):1399-407.
- 20 Takeshige C, Nakamura A, Asamoto S, Arai T. Positive feedback action of pituitary beta-endorphin on acupuncture analgesia afferent pathway. *Brain Res Bull.* 1992; 29(1):37-44.
- 25 Takeshige C, Tsuchiya M, Guo, S-Y, Sato T. Dopaminergic transmission in the hypothalamic arcuate nucleus to produce acupuncture analgesia in correlation with the pituitary gland. *Brain Res Bull.* 1991; 26(1):113-22.
- 53 Tay AA, Tseng CK, Pace NL, Wong KC, Hong-Goka BC. Failure of narcotic antagonist to alter electroacupuncture modification of halothane anaesthesia in the dog. *Can Anaesth Soc J.* 1982; 29(3):231-5.
- 90 Tchekalarova J, Pechlivanova D, Kambourova T, Matsoukas J, Georgiev V. The effects of sarmesin, an Angiotensin II analogue on seizure susceptibility, memory retention and nociception. *Regul Pept.* 2003;111(1-3):191-7.
- 11 Terman GW, Bonica JJ. Spinal mechanisms and their modulation. In: Loeser JDE, Butler SHE, Chapman CRE, et al., editors. *Management of pain.* 3. ed. Lippincott: Williams & Wilkins; 2001.
- 84 Tershner SA, Helmstetter FJ. Antinociception produced by mu opioid receptor activation in the amygdala is partly dependent on activation of mu opioid and neurotensin receptors in the ventral periaqueductal gray. *Brain Res.* 2000; 865(1):17-26.
- 88 Toma N, Sgambato V, Couture R. Effect of angiotensin II on a spinal nociceptive reflex in the rat: receptor and mechanism of action. *Life Sci.* 1997; 61(5):503-13.
- 40 Tseng LF. The antinociceptive properties of endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse. *Jpn J Pharmacol.* 2002; 89(3):216-20.
- 48 Wang B, Tang J, White PF, Naruse R, Sloninsky A, Kariger R, et al. Effect of the intensity of transcutaneous acupoint electrical stimulation on the postoperative analgesic requirement. *Anesth Analg.* 1997; 85(2):406-13.
- 24 Wang Q, Mao L, Han J. The arcuate nucleus of hypothalamus mediates low but not high frequency electroacupuncture analgesia in rats. *Brain Res.* 1990; 513(1):60-6.
- 47 Wang Y, Zhang Y, Wang W, Cao Y, Han JS. New evidence for synergistic analgesia produced by endomorphin and dynorphin. *Chin J Pain Med.* 2002; 8:118-119.
- 71 Wang YQ, Cao XD, Wu GC. Role of dopamine receptors and the changes of the tyrosine hydroxylase mRNA in acupuncture analgesia in rats. *Acupunct Electrother Res.* 1999; 24(2):81-8.
- 85 Wank SA, Harkins R, Jensen RT, Shapira H, de Weerth A, Slattery T. Purification, molecular cloning, and functional expression of the cholecystokinin receptor from rat pancreas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(7):3125-9.
- 55 Watkins LR, Mayer DJ. Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems. *Science.* 1982; 216(4551):1185-92.
- 58 Woolf CJ, Mitchell D, Barrett GD. Antinociceptive effect of peripheral segmental electrical stimulation in the rat. *Pain.* 1980; 8(2):237-52.
- 1 World Health Organization. Primary health care: report of the international conference on primary health care, Alma-Ata, USSR, 6–12 September 1978. Geneva: WHO; 1978.
- 70 Wu G, Jiang JW, Wu GC, Cao XD. Potentiation of electroacupuncture analgesia by l-tetrahydropalmatine and its analogues in rabbits. *Zhongguo yao Li Xue Bao* 1990; 11(2):116-9. [Article in Chinese].
- 96 Xu M, Kontinen VK, Kalso E. Endogenous noradrenergic tone controls symptoms of allodynia in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol.* 1999; 366(1):41-5.

- 36 Xue JI, Yu YX, Han JS, Jen MF. Changes in the content of immunoreactive dynorphin in dorsal and ventral spinal cord of the rat in three different conditions. *Int J Neurosci*. 1995; 82(1-2):95-104.
- 41 Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the  $\mu$ -opiate receptor. *Nature*. 1997; 386(6624):499-502.
- 15 Zhang GG, Yu C, Lee W, Lao L, Ren K, Berman BM. Involvement of peripheral opioid mechanisms in electroacupuncture analgesia. *Explore (NY)*. 2005;1(5):365-71.
- 37 Zhang WT, Jin Z, Cui GH, Zhang KL, Zhang L, Zeng YW, et al. Relations between brain network activation and analgesic effect induced by low vs. high frequency electrical acupoint stimulation in different subjects: a functional magnetic resonance imaging study. *Brain Res*. 2003; 982(2):168-78.
- 74 Zhu CB, Li XY, Zhu YH, Wu GC, Xu SF. Alteration of monoamine contents in microdialysate following droperidol enhanced electroacupuncture. *Sheng Li Xue Bao*. 1997; 49(4):382-8. [Article in Chinese].