



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione

Corso di Laurea Magistrale in Psicologia Clinica dello Sviluppo

Tesi di Laurea Magistrale

IL RUOLO DELL'EFFETTO PLACEBO NELLA PRATICA DELL'AGOPUNTURA

The role of the placebo effect in acupuncture practice

Relatore:

Prof. Simone Cutini

Laureando: Leonardo Forlin

Matricola: 2016864

Anno Accademico: 2021/2022

INDICE

INTRODUZIONE	1
CAPITOLO 1: AGOPUNTURA	3
1.1 Definizione e prospettiva storica dell'agopuntura	3
1.2 Principali evidenze a sostegno dell'effetto analgesico dell'agopuntura	7
1.3 Principali evidenze a sostegno dell'effetto terapeutico dell'agopuntura in relazione a diverse condizioni cliniche	9
1.4 Meccanismi neurobiologici coinvolti nell'agopuntura analgesia	15
1.5 Meccanismi neurobiologici coinvolti nell'agopuntura in relazione a diverse condizioni cliniche	20
CAPITOLO 2: EFFETTO PLACEBO E AGOPUNTURA	25
2.1 Definizione, Origine e storia del placebo	25
2.2 Implicazioni dell'effetto placebo in agopuntura	29
2.3 Sfida metodologica per controllare il placebo nella terapia di agopuntura	32
CAPITOLO 3: PROTOCOLLO SPERIMENTALE PER LA RIDUZIONE DELL'ANSIA	49
3.1 Sfondo teorico	49
3.2 Metodo.....	53
3.2.1 Panoramica del Progetto e obiettivi.....	53
3.2.2 Partecipanti e reclutamento	54
3.2.3 Randomizzazione e "blinding"	54
3.2.4 Strumentazione.....	56

3.2.5 Intervento e procedura.....	60
3.2.6 Misure di risultato.....	62
CAPITOLO 4: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	63
BIBLIOGRAFIA	73

INTRODUZIONE

L'obiettivo di questa tesi di laurea è quello di fornire un'analisi dettagliata della pratica di agopuntura, discutendo i potenziali effetti placebo che influenzano questa tecnica e illustrando in maniera critica le metodologie utilizzate per controllare e separare gli effetti placebo dagli effetti specifici del trattamento. A tal fine, viene presentato un nuovo protocollo sperimentale, sviluppato per determinare in modo affidabile l'efficacia del trattamento di agopuntura nella riduzione dell'ansia. La peculiarità di questo protocollo riguarda l'utilizzo di tre differenti gruppi di controllo che consentono di fornire una misura quanto più affidabile dell'efficacia ansiolitica dell'agopuntura, al netto degli effetti placebo.

Nel **primo capitolo** verrà introdotta la pratica di agopuntura da un punto di vista storico e teorico, sottolineando le principali evidenze a sostegno di questa terapia nel trattamento di numerose condizioni cliniche. Infine, verranno discussi e presentati i possibili meccanismi neurobiologici alla base dell'agopuntura, in funzione delle diverse patologie e condizioni di dolore.

Nel **secondo capitolo** verrà presentata una panoramica dell'effetto placebo al fine di esaminare dettagliatamente il ruolo e le implicazioni di questo effetto nella pratica di agopuntura. Verranno inoltre discusse le problematiche delle diverse procedure utilizzate per controllare l'effetto placebo e le possibili soluzioni per ovviare a queste criticità.

Il **terzo capitolo** sarà dedicato alla descrizione del protocollo di studio. Verranno inizialmente presentate le ipotesi di ricerca, a cui seguirà la descrizione della metodologia utilizzata per la rilevazione dell'ansia e per garantire il doppio "blinding". Infine, verrà descritta la procedura di intervento differenziando i tre diversi gruppi di controllo.

Il **quarto capitolo** sarà dedicato alle discussioni in cui verranno motivate le scelte che hanno guidato la progettazione di questo protocollo e i possibili risultati attesi dalla messa in atto del medesimo. Inoltre, verranno anche analizzate le criticità che abbiamo riscontrato nella creazione del protocollo e le soluzioni adottate. In conclusione, saranno evidenziati i limiti della presente ricerca e le possibili implicazioni in ambito clinico decisionale.

CAPITOLO 1: AGOPUNTURA

1.1 Definizione e prospettiva storica dell'agopuntura

L'agopuntura è una terapia utilizzata nella medicina tradizionale cinese (MTC) che si basa sulla stimolazione di punti specifici del corpo umano, attraverso l'inserimento di aghi molto sottili, con lo scopo di sortire un effetto terapeutico. La MTC ha come obiettivo quello di raggiungere e mantenere l'equilibrio energetico all'interno del corpo e con il mondo esterno, per prevenire e curare le malattie e per mantenere lo stato di salute. Le terapie della MTC si configurano quindi come metodi da utilizzare in complementarità con altre forme di medicina tradizionale (Coutaux, 2017).

Tradizionalmente in Cina, le prime terapie utilizzate si basavano su rituali particolari volti a scacciare demoni e spiriti. Durante i primi secoli a.C. però, correnti filosofiche come il Confucianesimo e il Taoismo hanno gradualmente sostituito le vecchie pratiche per far spazio a nuovi approcci medici come l'agopuntura e pratiche associate. Queste tecniche erano caratterizzate da un approccio non più centrato su presupposti soprannaturali e religiosi, bensì centrato sull'uomo e su presupposti naturalistici (Kaptchuk, 2002).

L'origine delle tecniche di agopuntura non è chiara ed è stata ampiamente dibattuta. Una delle possibili ipotesi sostiene che questa pratica sia nata dalla terapia aghiforme con ossa o bambù; un'altra ipotesi afferma che la nascita dell'agopuntura risale all'età della pietra, in concomitanza con il ritrovamento di mummie con tatuaggi non decorativi nei punti specifici di agopuntura (utilizzati ancora oggi nella pratica clinica); un'altra possibile origine deriva dal ritrovamento di testi archeologici cinesi dove veniva citato l'utilizzo della stimolazione termica in punti precisi del corpo, associati a siti di agopuntura (Kaptchuk, 2002).

Qualunque sia l'origine di questa pratica, le prime prove documentate dell'utilizzo dell'agopuntura come trattamento risiedono nel documento "Il classico della medicina interna dell'Imperatore Giallo", risalente circa al 100 a.C. Il documento contiene una serie di tradizioni filosofiche Taoiste, tramandate di generazione in generazione, che costituiscono la base di alcune delle tecniche di agopuntura fino ad ora utilizzate (White & Ernst, 2004).

Nella sua forma originale l'agopuntura si basa sui principi della medicina tradizionale cinese secondo cui il funzionamento del corpo è mediato da una sorta di forza o energia vitale denominata "Qi" (Vickers & Zollman, 1999). Questo termine non ha una traduzione letterale ma rappresenta il potenziale di trasformazione e l'interconnessione di ogni stato del corpo. L'essere umano ottiene questa energia mediante tre fonti diverse: l'aria, il cibo e il lascito dei propri genitori. Una volta acquisita, si ritiene che questa forza scorra attraverso tutto il corpo, a partire dagli organi fino ad arrivare alla parte più superficiale del corpo (pelle), per mezzo di lunghi canali chiamati meridiani (Vanderploeg & Yi, 2009). I meridiani principali sono 12 e corrispondono alle funzioni principali del corpo umano. Il flusso di questa energia (Qi) è determinato da specifiche forze complementari e contraddittorie, conosciute nella filosofia tradizionale cinese come "Yin" e "Yang". Lo "Yin" è associato all'oscurità, al freddo, alla tranquillità e alla femminilità; lo "Yang" è associato alla luce, all'eccesso, al dinamismo e alla mascolinità. La condizione di salute, secondo questo principio, viene mantenuta solo se la forza "Qi" fluisce in modo corretto e armonioso lungo i meridiani e se "Yin" e "Yang" sono in equilibrio tra loro (Kaptchuk, 2002).

I punti di agopuntura, situati lungo i meridiani, sono un mezzo per alterare il flusso di "Qi", influenzando lo stato di salute dell'individuo. La malattia viene quindi concepita come un'alterazione del flusso del "Qi" (elevato, assente, bloccato) o come uno squilibrio dell'interazione fra "Yin" e "Yang"; il trattamento ha come scopo quello di ristabilire questo equilibrio (Vickers & Zollman, 1999).

Associata alla teoria del "Qi" vi è il concetto di "Deqi", ovvero il processo tramite cui la pratica di agopuntura regola lo "Yin" e lo "Yang" dell'individuo secondo valutazioni specifiche e personalizzate fatte dagli agopuntori (Vanderploeg & Yi, 2009). Il "Deqi" rappresenta la manipolazione del "Qi" o della forza vitale dell'individuo all'interno dei meridiani; è un fattore molto importante della pratica di agopuntura in quanto è stato considerato essenziale per raggiungere un'efficacia terapeutica nel trattamento (Zhou & Benharash, 2014). A livello pratico, il "Deqi" si manifesta negli individui sottoposti ad agopuntura sotto forma di intorpidimento, dolore, formicolio pesantezza, calore freschezza (Zhou & Benharash, 2014).

Nel corso dei secoli, nella tradizione cinese, l'agopuntura è stata ampiamente studiata e sviluppata, fino a diventare una terapia standard da associare ad altri trattamenti.

Nonostante la diversità di pensiero delle varie scuole che la praticavano, durante la dinastia Ming (1368 -1644), fu emanato il “Grande Compendio di agopuntura e moxibustione” dove sono elencati e descritti i 365 punti attraverso cui è possibile modificare il flusso di forza vitale (Qi) tramite l’inserimento degli aghi. Questo compendio fornisce tutt’oggi le basi dell’agopuntura moderna (White & Ernst, 2004).

La teoria tradizionale cinese sostiene che i punti specifici attraverso cui è possibile modificare il flusso di energia si trovino posizionati lungo dodici meridiani che collegano il corpo tra loro simulando una rete. Nel corso del tempo, sono stati scoperti e aggiunti ulteriori punti attraverso cui è possibile effettuare la manipolazione, fino ad arrivare ad un totale di duemila. Alcuni di questi punti trattano la disarmonia tra “Yin” e “Yang”, altri invece presentano un’azione terapeutica più locale. A livello pratico però, il repertorio di un agopuntore si aggira intorno a 150 punti e i siti stimolati all’interno di una sessione di agopuntura varia da cinque a quindici punti (Kaptchuk, 2002).

Storicamente, l’interesse per l’agopuntura fra la popolazione cinese non fu sempre ai massimi livelli; l’enfasi per questo tipo di trattamento cominciò infatti a diminuire dal diciassettesimo secolo in quanto l’agopuntura veniva considerata come poco tangibile e frutto di superstizione. Venne infatti esclusa dall’istituto medico imperiale nel 1822 e considerata illegale nel 1929, anche a causa dell’insediamento e successiva accettazione della medicina occidentale in Cina. Le pratiche di agopuntura e le relative conoscenze vennero però mantenute nella tradizione cinese e vent’anni dopo, sotto il governo comunista, le pratiche mediche tradizionali, tra cui l’agopuntura, tornarono legali e in voga. Furono anche istituiti centri di ricerca e reparti specifici negli ospedali per utilizzare e valorizzare questa terapia in tutta la Cina. Uno dei motivi del ripristino della medicina tradizionale risiede anche nella possibilità di far arrivare cure economiche alla popolazione più svantaggiata (White & Ernst, 2004).

La diffusione dell’agopuntura non è limitata al contesto cinese infatti, in momenti diversi, altri paesi come Cina, Giappone, Corea, Francia, Stati Uniti hanno sviluppato diversi stili, tecniche e approcci di agopuntura. Corea e Giappone hanno preso spunto dall’agopuntura cinese e l’hanno utilizzata in associazione con altre terapie; la Francia adottò questa terapia già a partire dal sedicesimo secolo; Stati Uniti e Gran Bretagna, dopo una diffidenza iniziale, hanno riconosciuto prove di efficacia positive in una gamma limitata di condizioni (Kaptchuk, 2002; White & Ernst, 2004). In particolare, gli Stati Uniti, prima

nel 1992 con l'istituzione del "Office of Alternative Medicine" e successivamente con il consenso del National Institutes of Health (NIH), hanno riconosciuto ufficialmente terapie mediche alternative come l'agopuntura, riscontrando prove di efficacia nel trattamento di vomito, nausea e dolore post-operatorio (Vanderploeg & Yi, 2009).

L'adozione dell'agopuntura da parte di un gran numero di paesi ha fatto sì che molti medici adottassero delle varianti che non si basavano sulle spiegazioni della tradizione cinese bensì sulle recenti scoperte scientifiche riguardanti i probabili meccanismi dell'agopuntura (Ulett et al., 1998). Queste varianti, nonostante si avvicinassero di più alla filosofia della medicina occidentale, non sono del tutto distaccate dalle conoscenze e dalle teorie tradizionali dell'agopuntura (Kaptchuk, 2002). Una variante molto utilizzata in ambito di ricerca e in ambito clinico è l'elettroagopuntura (EA). Questa tecnica, risalente a meno di cinquant'anni fa, si basa sull'inserimento di due aghi nel corpo, che fungono da elettrodi per il passaggio di corrente elettrica. È essenziale che almeno uno dei due aghi venga inserito all'interno di uno specifico agopunto. Uno dei vantaggi di questa tecnica, sia nella pratica che nella ricerca, è la possibilità di impostare la frequenza e l'intensità della stimolazione in modo quantificabile e oggettivo. Questa tecnica sta acquisendo sempre più popolarità ma l'agopuntura manuale (MA) rimane la tecnica più comunemente utilizzata sia nella pratica clinica che nella ricerca (Napadow et al., 2005).

Ad oggi, varie forme di agopuntura sono ampiamente utilizzate in tutto il mondo; nel 2010 l'agopuntura cinese è entrata a far parte nel patrimonio culturale immateriale dell'umanità dell'organizzazione delle Nazioni Unite per l'educazione, la scienza e la cultura. Secondo la federazione mondiale di Agopuntura e Moxibustione, 183 paesi del mondo applicano l'agopuntura cinese in differenti forme. Nel 2017 l'agopuntura è diventata simbolo della medicina cinese a tutti gli effetti, a seguito della presentazione di una statua di agopuntura all'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (Zhu, Li, Yang, & Liu, 2021).

Nonostante il largo utilizzo di questa pratica, l'efficacia universale dell'agopuntura rimane ancora non riconosciuta. Come suggerito da Zhu et al. (2021) le ragioni possono essere assimilate a due macrocategorie. Da una parte non ci sono evidenze cliniche chiare causate da metodologie in parte inadeguate e che non tengono conto dei lavori passati; dall'altra parte i meccanismi alla base dell'agopuntura sono ancora poco chiari. Negli

ultimi anni, per affrontare queste sfide, sono stati effettuati numerosi Studi Randomizzati e Controllati (RCT) che avevano lo scopo di fornire una buona qualità metodologica e una più dettagliata comprensione dei meccanismi sottostanti dell'agopuntura (Zhu et al., 2021).

Di seguito verranno mostrati i principali dati sperimentali a sostegno dell'efficacia dell'agopuntura per alcune condizioni cliniche e verranno discussi i meccanismi sottostanti coinvolti.

1.2 Principali evidenze a sostegno dell'effetto analgesico dell'agopuntura

Un vasto impiego dell'agopuntura nella pratica clinica riguarda il trattamento e la gestione del dolore. Questa terapia, infatti, presenta pochi effetti collaterali ed è ben tollerata dai pazienti. L'agopuntura tradizionale e le tecniche derivate, come l'elettroagopuntura (EA), forniscono numerose prove di efficacia per il miglioramento del dolore in vari tipi di condizioni. I fattori che contribuiscono alla variabilità di questo effetto terapeutico sono: la tecnica di inserimento dell'ago, il punto di agopuntura, il tipo di ago utilizzato e la durata della stimolazione nello specifico punto (Kelly & Willis, 2019).

Le evidenze a sostegno dell'efficacia terapeutica dell'agopuntura nella gestione del dolore derivano da studi controllati che indagano l'effetto dell'agopuntura in relazione a diverse sindromi dolorose.

La lombalgia (mal di schiena localizzato nella zona del dorso o dei lombi) è una condizione dolorosa molto studiata in relazione all'agopuntura e negli ultimi vent'anni più di 600 articoli hanno indagato l'efficacia dell'agopuntura sulla lombalgia cronica o acuta (Liang et al., 2017).

Una revisione del 2013 che ha indagato gli effetti dell'agopuntura sulla condizione di lombalgia ha dimostrato un miglioramento statisticamente significativo della condizione di dolore nei soggetti trattati con agopuntura rispetto ai controlli (agopuntura fittizia e farmaci antiinfiammatori) (Lee, Lee, Kim, & Yang, 2021).

Un'altra revisione sistematica e metanalisi, che comprendeva 25 studi sulla lombalgia cronica, ha rilevato che il trattamento di agopuntura era associato ad una riduzione

statisticamente significativa del dolore rispetto ai controlli (agopuntura fittizia, nessun trattamento) (Lam, Galvin, & Curry, 2013). Risultati simili sono stati raggiunti anche dal lavoro di Liu, Skinner, McDonough, Mabire, e Baxter (2015), a seguito della valutazione di revisioni sistematiche su lombalgia cronica e acuta.

Un'altra condizione di dolore studiata in relazione all'agopuntura è l'artrosi del ginocchio. Numerosi studi, revisioni e metanalisi hanno dimostrato che l'agopuntura è più efficace dei controlli nel determinare un miglioramento significativo a breve termine nel dolore indotto da questa condizione (Kelly & Willis, 2019).

Una revisione sistematica del 2010 ha mostrato come diversi studi di agopuntura controllati da gruppi in lista d'attesa presentavano dei benefici statisticamente significativi nella riduzione del dolore causato dall'artrosi. Tuttavia, gli studi controllati con agopuntura fittizia mostravano dei benefici statisticamente significativi ma molto piccoli nella riduzione del dolore da artrosi, non risultando clinicamente rilevanti (Manheimer et al., 2010). Nonostante questi risultati di entità lieve, una metanalisi conferma che la terapia di agopuntura dovrebbe essere presa in considerazione come trattamento efficace per la riduzione del dolore al ginocchio causata da artrosi (Corbett et al., 2013).

Altre evidenze rilevanti supportano l'effetto analgesico dell'agopuntura in relazione a cefalea cronica (mal di testa ricorrente e persistente) o tensiva (mal di testa persistente che interessa principalmente la nuca). È stata pubblicata una revisione con lo scopo di valutare se l'agopuntura fosse più efficace rispetto ai controlli nel ridurre la frequenza e l'intensità del dolore causato da cefalea cronica tensiva. Dei 12 studi presi in esame per la revisione, sette hanno utilizzato agopuntura fittizia come controllo, due hanno utilizzato cure abituali e i restanti hanno utilizzato fisioterapia, massaggio o esercizio fisico. I risultati hanno mostrato che i soggetti che hanno ricevuto agopuntura reale presentavano una riduzione significativa del mal di testa rispetto ai controlli. I benefici però risultavano maggiori quando l'agopuntura era messa a confronto con le cure abituali (Linde et al., 2016).

L'agopuntura è risultata più efficace delle cure abituali e dell'agopuntura fittizia anche nel prevenire il dolore causato da mal di testa episodico e nel complesso sono presenti sufficienti prove che supportano la terapia come trattamento efficace per i disturbi da cefalea cronica o tensiva (Kelly & Willis, 2019).

Benefici terapeutici derivati dalla terapia di agopuntura sono stati riscontrati anche in altre sindromi dolorose come, ad esempio, la fibromialgia (dolori muscolari diffusi associati a rigidità, affaticamento, insonnia), il dolore al collo, il dolore post-operatorio e la sindrome dolorosa miofasciale (patologie muscolari che comprendono dolore muscolare, contrattura, nevralgia) (Kelly & Willis, 2019).

1.3 Principali evidenze a sostegno dell'effetto terapeutico dell'agopuntura in relazione a diverse condizioni cliniche

Oltre al ruolo analgesico, l'agopuntura si è dimostrata una terapia efficace anche per il trattamento di altre condizioni cliniche come ad esempio i disturbi gastrointestinali, l'ictus e le problematiche associate, i disturbi da abuso di sostanze e altre patologie e disturbi

Per quanto riguarda i disturbi gastrointestinali, la sintomatologia attribuibile a questa condizione clinica comprende diarrea, stitichezza, vomito, nausea, dolore addominale e gonfiore. I disturbi gastrointestinali funzionali (FGID) rispecchiano problematiche nella motilità intestinale, nell'ipersensibilità viscerale, nell'alterazione del microbiota intestinale e comprendono patologie quali sindrome dell'intestino irritabile (IBS), dispepsia funzionale e stitichezza funzionale (Black, Drossman, Talley, Ruddy, & Ford, 2020).

Nel 2016, Liu e colleghi hanno effettuato uno studio per determinare l'efficacia terapeutica dell'elettroagopuntura (EA) in relazione alla stitichezza funzionale cronica grave. Il meccanismo patologico alla base della stitichezza è il deficit nella motilità gastrica. Nello studio i partecipanti sono stati sottoposti a terapia di EA per otto settimane e i movimenti intestinali spontanei sono stati analizzati fino alla ventesima settimana. I risultati mostrano come il trattamento di EA è stato efficace nell'aumentare i movimenti intestinali spontanei apportando un miglioramento significativo nella qualità della vita dei pazienti con stitichezza funzionale cronica grave (Liu et al., 2016).

Una revisione del 2018 ha preso in considerazione una serie di studi clinici con lo scopo di studiare gli effetti terapeutici dell'elettroagopuntura (EA) nel trattamento di alcune problematiche gastrointestinali quali reflusso gastroesofageo, dispepsia funzionale

(difficoltà digestive croniche), sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e stitichezza. Gli autori suggeriscono che, nonostante alcune limitazioni metodologiche riguardanti i disegni di ricerca e i controlli con placebo, l'agopuntura presenta un grande potenziale per il trattamento di queste problematiche gastrointestinali (Chen, Ni, & Yin, 2018).

Altre evidenze che confermano l'efficacia dell'agopuntura nei FGID derivano da una revisione sistematica e metanalisi che esaminava il ruolo dell'agopuntura nel trattamento della dispepsia funzionale; in particolare, l'agopuntura ha mostrato un effetto statisticamente significativo rispetto al placebo (agopuntura fittizia) nel trattamento di questa patologia (Guo, Wei, & Chen, 2020).

In contrasto con queste evidenze, Lowe e colleghi hanno effettuato uno studio per indagare se la vera terapia di agopuntura fosse superiore all'agopuntura placebo nel migliorare i sintomi della sindrome dell'intestino irritabile (IBS). È stato quindi condotto uno studio in doppio cieco dove i pazienti hanno ricevuto agopuntura reale o fittizia per quattro settimane. I risultati hanno mostrato un miglioramento significativo dei sintomi in entrambi i gruppi (reale/placebo) ma non ci sono state differenze significative tra un gruppo e l'altro, suggerendo che l'agopuntura non era superiore all'agopuntura fittizia nel trattamento dell'IBS (Lowe, Aiken, Day, Depew, & Vanner, 2017).

Questi risultati supportano il ruolo terapeutico dell'agopuntura nel trattamento delle problematiche gastrointestinali, tuttavia, mostrano anche la necessità di effettuare ulteriori studi ben pianificati e controllati per verificare l'efficacia reale di questa terapia.

Un'altra applicazione clinica dell'agopuntura riguarda il trattamento dell'ictus e la cura delle problematiche associate. L'ictus viene definito come una lesione del Sistema Nervoso Centrale (SNC) causato da infarto o emorragia cerebrale. L'ictus è una patologia molto invalidante e rappresenta una delle principali cause di morte nel mondo. Nel corso del tempo, la mortalità causata da ictus è molto diminuita ma le conseguenze di questa patologia rimangono molto significative ed invalidanti per i pazienti, per le famiglie e per le comunità (Yang et al., 2016).

Nonostante la copiosa ricerca riguardo le modalità di trattamento, non esiste un percorso riabilitativo univoco per migliorare il recupero. Questa condizione ha portato a riconsiderare nuove ed alternative modalità di trattamento come l'agopuntura e l'elettroagopuntura (EA) (Yang et al., 2016).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) raccomanda l'utilizzo dell'agopuntura come terapia alternativa al trattamento dell'ictus. Negli ultimi anni sono stati svolti numerosi lavori volti a dimostrare l'efficacia dell'agopuntura nel migliorare le problematiche associate all'ictus, riguardanti il miglioramento dell'equilibrio, il miglioramento della forza muscolare, il miglioramento del benessere e la riduzione della spasticità (Chavez et al., 2017). Vi sono anche evidenze che supportano l'effetto benefico dell'agopuntura nel migliorare deficit neurologici, deterioramento cognitivo, disturbo della deglutizione e disfunzione degli arti. Inoltre, un intervento precoce di agopuntura può avere un effetto maggiore a lungo termine sul miglioramento della disfunzione motoria e dei sintomi infiammatori nei pazienti con ictus (Zhu et al., 2021). Una metanalisi ha preso in esame 29 RCT che confrontavano la terapia di agopuntura, nel trattamento della disfagia post-ictus (difficoltà di deglutizione causate dall'apparato digerente), con altri trattamenti quali allenamento riabilitativo e farmaci abituali. I risultati sostengono l'efficacia della terapia di agopuntura nel trattamento della disfagia post-ictus rispetto a riabilitazione e farmaci (Li, Deng, & Qu, 2018).

Un'ampia gamma di studi (56) sono stati confrontati e discussi in una revisione sistematica e metanalisi del 2010 che ha fornito prove convincenti dell'efficacia terapeutica dell'agopuntura nella riabilitazione post-ictus. Gli autori sostengono però, che la scarsa qualità dello studio e i bias di pubblicazione possono interferire con questi risultati, suggerendo la necessità di ulteriori studi clinici randomizzati, ben condotti e di alta qualità, per implementare l'agopuntura nella pratica clinica (Wu, Mills, Moher, & Seely, 2010). Questi dati sono stati confermati da un'altra revisione del 2016 che ha preso in esame 31 studi con lo scopo di valutare l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento dei pazienti con ictus in fase di convalescenza. Solo due studi hanno confrontato agopuntura reale con agopuntura fittizia, mostrando nessuna differenza significativa tra i due gruppi nel miglioramento della qualità della vita e della funzione motoria. I restanti 29 studi hanno confrontato l'agopuntura solo con il trattamento basale (privo di agopuntura fittizia), mostrando effetti benefici e miglioramenti sulle attività della vita quotidiana, sul deficit neurologico globale, su compromissioni neurologiche specifiche, sulla funzione cognitiva, sugli aspetti depressivi, sulla funzione di deglutizione e sulla condizione generale di dolore.

Gli autori suggeriscono che, sulla base di questi risultati, la terapia di agopuntura è in grado di generare un miglioramento nella qualità di vita dei pazienti con ictus. Tuttavia, gli studi presi in esame presentavano qualità e dimensione non adeguate, suggerendo la necessità di effettuare ulteriori studi per confermare tali risultati (Yang et al., 2016).

La terapia di agopuntura e di elettroagopuntura (EA) ha mostrato inoltre un miglioramento clinicamente significativo nel deterioramento cognitivo dei pazienti post ictus. Questo risultato è stato estrapolato da una metanalisi molto recente che ha confrontato studi randomizzati controllati (RCT) che indagavano gli effetti dell'agopuntura rispetto a nessun trattamento, trattamento convenzionale e agopuntura fittizia. Anche in questo lavoro, gli autori evidenziano la necessità di studi clinici randomizzati più rigorosi e su larga scala per determinare in maniera più affidabile i benefici terapeutici dell'agopuntura (Zhou, Wang, Qiao, Wang, & Luo, 2020).

Un altro ambito relativamente recente dove la terapia di agopuntura ha sortito degli effetti terapeutici riguarda l'abuso e la dipendenza da sostanze stupefacenti e farmaci. Questa condizione ha un impatto sociale ed economico molto elevato e spesso la farmacologia presenta degli effetti limitati nel trattare tali problematiche. Queste limitazioni hanno quindi portato ad esplorare approcci complementari per il trattamento come, ad esempio, l'agopuntura e la fitoterapia (Lu et al., 2009).

Sono stati eseguiti studi clinici per determinare l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento della tossicodipendenza e nonostante non vi sia ancora un valido accordo, esistono prove che l'agopuntura possa rappresentare una terapia efficace nel ridurre gli effetti rinforzanti delle sostanze.

Per valutare l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento della dipendenza da cocaina, 82 pazienti dipendenti sono stati suddivisi in tre gruppi: agopuntura auricolare, agopuntura fittizia e nessun trattamento. A seguito del trattamento, sono stati eseguiti degli esami tossicologici per valutare il consumo di cocaina nei pazienti nelle settimane successive. I risultati hanno mostrato che i soggetti nel gruppo di agopuntura auricolare avevano più probabilità di risultare negativi ai test tossicologici post-trattamento, suggerendo che l'agopuntura potrebbe risultare una terapia promettente ed efficace per il trattamento della dipendenza da cocaina (Avants, Margolin, Holford, & Kosten, 2000).

In uno studio successivo molto simile ed eseguito dagli stessi autori, questi risultati non vengono confermati in quanto l'effetto terapeutico dell'agopuntura trovato nel primo

studio non è stato rilevato nel secondo. Gli autori suggeriscono che le motivazioni di questa discrepanza non sono chiare e possono essere dovute alle differenze nel contesto psicosociale o alla mancanza di efficacia dell'agopuntura in questa applicazione clinica. Queste considerazioni raccomandano l'importanza di valutare l'influenza del contesto e l'influenza di altre variabili nella terapia di agopuntura (Margolin, Avants, & Holford, 2002).

Rispetto alla dipendenza da oppioidi, è stato riscontrato che i sintomi di astinenza sono diminuiti a seguito della terapia di agopuntura e che l'attivazione dell'ipotalamo associata all'agopuntura era maggiore nei tossicodipendenti da eroina rispetto ai soggetti sani (Motlagh, Ibrahim, Rashid, Seghatoleslam, & Habil, 2016).

Inoltre, valutando il consumo giornaliero di metadone, due settimane di terapia di agopuntura hanno ridotto in modo significativo, rispetto ai controlli (agopuntura fittizia), l'assunzione di metadone, suggerendo che l'agopuntura potrebbe risultare un utile complemento alla terapia nella dipendenza da eroina (Chan et al., 2014). Emergono però anche evidenze controverse dove la terapia di agopuntura non ha mostrato un miglioramento significativo per il trattamento di mantenimento aggiuntivo con metadone in pazienti tossicodipendenti. (Motlagh et al., 2016).

Una revisione sistematica e metanalisi del 2018 ha rilevato che la terapia di agopuntura potrebbe essere efficace nel trattamento del disturbo da uso di oppioidi. Lo scopo era quello di valutare l'efficacia dell'agopuntura attraverso parametri quali intensità della sindrome da astinenza, dolore, ansia, depressione, insonnia e altri sintomi associati. In particolare, i risultati hanno mostrato che l'agopuntura manuale e l'elettroagopuntura (EA) erano più efficaci nel trattare la sindrome da astinenza rispetto a nessun trattamento e rispetto all'agopuntura fittizia (controllo placebo).

Inoltre, rispetto ai sintomi associati, è stato rilevato che l'elettroagopuntura potrebbe essere più efficace rispetto ai controlli (agopuntura fittizia e nessun trattamento) nel ridurre il desiderio da oppioidi, la depressione e i sintomi d'ansia.

Questi dati recenti forniscono prove dell'efficacia dell'agopuntura nel trattamento della tossicodipendenza, tuttavia, secondo gli autori, la bassa qualità degli studi presi in esame e la sicurezza ancora incerta della terapia non supportano l'uso clinico dell'agopuntura nel trattamento del disturbo da oppioidi (Chen, Wang, Wang, Xie, & Ren, 2018).

Rispetto alle dipendenze da altre sostanze, Zeng e colleghi avevano lo scopo di indagare l'effetto dell'elettroagopuntura (EA) in relazione a sintomi psichiatrici, ansia e depressione, in pazienti tossicodipendenti da metanfetamina. I risultati confermano l'efficacia dell'EA nel migliorare in modo significativo i sintomi di psicosi, ansia e depressione durante l'astinenza, suggerendo l'efficacia dell'EA nella riabilitazione dei pazienti dipendenti da metanfetamina (Zeng et al., 2018).

Nonostante vi sia un'ampia letteratura che indaga gli effetti terapeutici dell'agopuntura in relazione alla tossicodipendenza, la presenza di evidenze controverse rende necessario lo sviluppo di ulteriori RCT ben progettati per confermare l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento della dipendenza da sostanze.

Oltre alle condizioni cliniche sopra elencate, la terapia di agopuntura si è mostrata efficace anche per altri disturbi e condizioni mediche. In particolare, l'agopuntura è risultata più efficace del placebo nel ridurre l'incontinenza urinaria da stress nella popolazione cinese di sesso femminile; vi sono evidenze che l'agopuntura è significativamente più efficace nel migliorare la qualità del sonno rispetto al placebo (agopuntura fittizia); Inoltre, sembra essere una terapia utile e promettente nel trattamento del morbo di Alzheimer, sindrome di Sjogren primaria, complicanze tumorali e angina cronica stabile (Zhu et al., 2021).

Altre evidenze mostrano risultati positivi della terapia di agopuntura in relazione al miglioramento del dolore, della qualità della vita, e dell'affaticamento in pazienti malati di cancro (Lau et al., 2016). Un RCT molto recente mostra l'efficacia dell'agopuntura, rispetto al placebo, nel ridurre i sintomi di insonnia per almeno 6 settimane post-intervento (Zhang et al., 2020). Infine, si evidenzia come l'agopuntura può essere considerata una terapia complementare nel trattamento della dispnea da sforzo in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) (Suzuki et al., 2012).

L'agopuntura, terapia cardine della medicina tradizionale cinese, si è dimostrata un trattamento sicuro, efficace e conveniente, al punto di essere accettata e adottata in tutto il mondo. Numerosi studi clinici hanno fornito prove scientifiche per favorire il processo clinico decisionale e nonostante non vi sia ancora un chiaro accordo sui meccanismi sottostanti, l'interesse per l'agopuntura consentirà di raggiungere grandi risultati in futuro (Zhu et al., 2021).

1.4 Meccanismi neurobiologici coinvolti nell'agopuntura analgesia

Numerosi studiosi, nel corso del tempo, si sono impegnati in ricerche di base che avevano lo scopo di dimostrare i meccanismi alla base dell'agopuntura; negli ultimi anni sono stati condotti e pubblicati studi controllati randomizzati (RCT) di alta qualità e ben progettati per cercare di spiegare tali meccanismi (Zhu et al., 2021). Nel 2019, Chen e colleghi hanno anche sviluppato delle linee guida utili ad affrontare la metodologia della ricerca in agopuntura, la scelta del disegno di ricerca e la successiva scelta del controllo più adeguato da utilizzare. All'interno dello studio sono presenti gli elementi cardine da considerare nella progettazione e preparazione di uno studio controllato randomizzato di agopuntura (Chen et al., 2019).

Lo studio dei meccanismi scientifici alla base dell'agopuntura è molto importante sia per guidare futuri lavori di ricerca finalizzati a dimostrare l'efficacia clinica dell'agopuntura, sia per promuovere questa pratica all'interno della medicina più tradizionale. Per fare questo è necessario che l'azione terapeutica dell'agopuntura sia spiegabile e comprensibile usando concetti attuali di neurobiologia. È utile considerare l'agopuntura come il semplice inserimento di aghi in punti specifici del corpo (input) al fine di ottenere un certo effetto terapeutico (output). Questa pratica, scoperta migliaia di anni fa, era associata ai concetti di "Qi" e di meridiani, nel tentativo di dare una spiegazione a questo fenomeno. Al giorno d'oggi, per cercare di spiegare questi meccanismi, il tentativo è quello di utilizzare non più i concetti di "Qi" o di meridiani, ma di usare concetti scientifici e assimilabili alla medicina contemporanea (Cheng, 2014).

Negli ultimi decenni sono stati fatti molti progressi con l'obiettivo di fornire un'interpretazione scientifica dell'agopuntura nelle sue varie forme, basate sull'evidenza e sulla ricerca clinica.

Una delle condizioni più diffuse dove l'agopuntura è stata impiegata maggiormente è la gestione del dolore. Le prime teorie occidentali hanno cercato quindi di spiegare il meccanismo dell'agopuntura basandosi su modelli di riduzione e gestione del dolore. Queste teorie sostenevano che l'agopuntura stimolava nervi afferenti, modulando la trasmissione del segnale spinale e la percezione del dolore al cervello (Wang, Kain, & White, 2008). Uno dei più importanti studiosi ad occuparsi dei meccanismi sottostanti all'agopuntura fu Pomeranz, che nel 1987, utilizzando un modello animale, scoprì che il

naloxone, antagonista del recettore degli oppioidi, era in grado di bloccare l'analgia prodotta dall'agopuntura. Sulla base di questa scoperta, Pomeranz, formulò un'ipotesi secondo cui l'agopuntura agisce stimolando e attivando le fibre afferenti A- δ e C nel muscolo, inviando segnali al midollo spinale e innescando un rilascio di oppioidi endogeni (dinorfina ed encefalina). Con la sua ipotesi sostenne, inoltre, che la trasmissione dei segnali venga ulteriormente propagata al mesencefalo (nucleo di rafe e area grigia periacqueduttale) promuovendo la soppressione del dolore (Vanderploeg & Yi, 2009). Questa teoria è ampiamente dimostrata da altri studi eseguiti sia dal gruppo di lavoro di Pomeranz sia da altri gruppi di ricerca. L'antagonista del recettore degli oppioidi naloxone è stato infatti utilizzato anche da Mayer e colleghi per dimostrare che l'analgia indotta da agopuntura può essere bloccata da naloxone anche nell'uomo (Mayer, Price, & Rafii, 1977).

Un altro lavoro che ha aperto la strada allo studio dei meccanismi alla base dell'agopuntura nell'uomo è stato pubblicato nel 1973 dove i partecipanti sono stati esposti a dolore acuto indotto e suddivisi in tre gruppi specifici. Il primo gruppo ha ricevuto sessioni di agopuntura nell'intestino, il secondo nello stomaco e il terzo ha ricevuto solo somministrazioni di morfina. I risultati hanno mostrato chiaramente come, sia i soggetti che hanno ricevuto agopuntura, sia i soggetti che hanno ricevuto esclusivamente morfina, presentavano un significativo aumento della soglia del dolore. Quando però i ricercatori, prima di somministrare l'agopuntura, hanno anestetizzato localmente i punti target, l'agopuntura non aveva alcun effetto nell'aumentare la soglia del dolore. Questo può implicare che l'effetto analgesico dell'agopuntura necessita di un sistema nervoso funzionante e intatto (Wang et al., 2008).

Un'altra evidenza che supporta la teoria del rilascio degli oppioidi in risposta all'agopuntura è data dal lavoro di Clement-Jones et al. (1980). Questo lavoro ha dimostrato che l'elettroagopuntura (EA) riduce significativamente il dolore ricorrente nei pazienti. In particolare, a seguito di EA, i livelli di β -endorfina (oppioide endogeno) sono aumentati in tutti i soggetti testati, suggerendo che la riduzione del dolore successiva all'agopuntura può essere mediata dal rilascio di oppioidi endogeni nel liquido spinale (Clement-Jones et al., 1980).

Anche Guo et al. (1996) hanno dimostrato che l'elettroagopuntura (EA) a bassa ed alta frequenza stimola il rilascio rispettivamente di encefalina e dinorfina, entrambe sostanze

oppioidi (Guo et al., 1996). Una recensione del 2004 sui meccanismi d'azione alla base dell'agopuntura ha rivelato che gli oppioidi endogeni nel sistema nervoso centrale mediano l'effetto analgesico dell'elettroagopuntura (EA). È stato anche dimostrato come diverse frequenze di EA stimolano il rilascio di oppioidi diversi. A basse frequenze (2Hz) l'EA stimola il rilascio di encefalina, β -endorfina ed endomorfina; ad alte frequenze (100hz) l'EA stimola il rilascio di dinorfina. Inoltre, combinazioni di alta e bassa frequenza stimolano il rilascio combinato degli oppioidi sopracitati, producendo un effetto terapeutico massimo. I risultati di questa recensione sono stati ottenuti tramite studi clinici con pazienti affetti da dolore cronico di vario tipo (lombalgia, dolore neuropatico) (Han, 2004).

Secondo un'altra revisione basata su diversi studi neurofisiologici, per indurre analgesia da agopuntura sono essenziali le vie nocicettive afferenti; inoltre come già riportato, l'analgesia indotta da agopuntura è mediata da neurotrasmettitori endogeni, dal rilascio di encefalina e dinorfina e dai recettori N-metil-d-aspartato. Infine, la stimolazione prolungata all'agopuntura aumenta la tolleranza al dolore, mediato da rilascio di colecistochinina octapeptide. È stato anche verificato come sia il dolore che l'agopuntura attivino l'asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrenale (Wang et al., 2008).

Questi studi supportano la teoria secondo cui l'agopuntura stimoli il rilascio di oppioidi endogeni. Questa teoria, considerata dalla comunità scientifica come "teoria neurormonale" è una delle teorie principali che ha cercato di spiegare i meccanismi alla base dell'agopuntura (Vanderploeg & Yi, 2009).

Essendo l'agopuntura un fenomeno molto complesso, numerosi gruppi di ricerca, nel tentativo di chiarire i meccanismi sottostanti all'agopuntura, hanno esaminato anche le aree cerebrali coinvolte in questa pratica. È stato evidenziato come diverse frequenze di elettroagopuntura (EA) stimolano l'espressione di c-fos (un marker di attività neuronale) in aree cerebrali diverse. Ad alte frequenze (100Hz) vi è un aumento di attività nel nucleo parabrachiale, contenente fibre autonome e nocicettive che si proiettano nell'area grigia periacqueduttale; a basse frequenze (2HZ) vi è un aumento di attività nel nucleo arcuato dell'ipotalamo. Questi dati suggeriscono la presenza di percorsi neuronali diversi in funzione di EA di frequenze diverse (Guo et al., 1996).

Oltre al nucleo parabrachiale e al nucleo arcuato, è stata valutata anche l'attività della ghiandola pituitaria in risposta alla terapia di agopuntura. Utilizzando sempre

l'espressione di c-fos come marker di attività neuronale, Pan e colleghi hanno evidenziato un aumento dell'attività del lobo anteriore della ghiandola pituitaria e un aumento di attività nel nucleo arcuato. I risultati suggeriscono che l'attivazione della ghiandola pituitaria può contribuire all'effetto analgesico dell'agopuntura mediato da percorsi antinocicettivi discendenti (Pan, Castro-Lopez, & Coimbra, 1994).

Grazie alla tomografia a emissione di positroni (PET) e alla risonanza magnetica funzionale (fMRI) sono stati condotti degli studi che avevano lo scopo di esaminare le aree del cervello coinvolte durante il processo di agopuntura. (Vanderploeg & Yi, 2009). In particolare, Hsieh et al. (2001) hanno riscontrato che durante l'agopuntura, in condizioni di "Deqi" (formicolio, sensazione di calore o di pesantezza, intorpidimento), vi era una maggiore attivazione nell'ipotalamo che si estendeva nel grigio periacqueduttale e nell'insula. Quando invece l'agopuntura non stimolava un agopunto specifico, questa attività non è stata rilevata. Questo studio supporta il ruolo attivo dell'ipotalamo nella via antinocicettiva discendente e supporta il ruolo delle regioni limbiche del cervello (Hsieh et al., 2001).

Un'area molto studiata in relazione all'agopuntura è il grigio periacqueduttale, in quanto è stato dimostrato essere coinvolto negli stimoli nocivi e nella modulazione del dolore attraverso il rilascio di encefaline (Vanderploeg & Yi, 2009). Utilizzando la fMRI, Liu et al. (2003) hanno dimostrato che l'agopuntura provoca l'attivazione del grigio periacqueduttale ma solo nel caso in cui si stimola un agopunto; quando l'agopuntura non stimola un punto specifico, non si riscontra l'attivazione di quest'area (Liu et al., 2003). Oltre a quelle già descritte, è stata dimostrata l'attivazione di altre aree cerebrali in risposta alla terapia di agopuntura analgesia, come il giro cingolato anteriore sinistro, l'insula bilaterale, il cervelletto bilaterale, il giro frontale superiore destro, la corteccia cingolata anteriore, le aree somatosensoriali bilaterali e le corteccie prefrontali mediali.

Queste evidenze indicano che nel processo di analgesia indotta da agopuntura sono coinvolte diverse aree che implicano il mesencefalo, il cervelletto e le aree corticali superiori (Vanderploeg & Yi, 2009).

Anche studi più recenti si sono concentrati sui meccanismi alla base dell'analgesia indotta da agopuntura. È stato riscontrato come uno stimolo doloroso può determinare l'amplificazione centrale del dolore, denominata sensibilizzazione centrale. Questo

termine viene utilizzato per indicare "un'amplificazione della segnalazione neurale all'interno del sistema nervoso centrale (SNC) che provoca ipersensibilità al dolore" (Woolf, 2011). Questa sensibilizzazione può quindi causare una condizione di allodinia e iperalgesia (condizione di aumentata sensibilità al dolore), causata da un input nocicettivo che si traduce in elevata reattività. Sulla base di questo assunto, Lai, Lin, e Hsieh (2019) hanno rilevato che l'azione dell'agopuntura porta ad un miglioramento dell'effetto inibitorio discendente, modulando la sensazione di dolore e la sensibilizzazione centrale. È stato inoltre riscontrato che i possibili meccanismi alla base di questo effetto analgesico dell'agopuntura riguardano l'inibizione segmentale e l'attivazione delle vie dell'acido endogeno oppioide, adrenergico, 5-idrossitriptamina e acido N-metil-D-aspartico. Un altro risultato emerso da questo studio è che la terapia di agopuntura può portare ad una riduzione locale dei livelli di mediatori infiammatori, grazie all'interazione con i recettori oppioidi (Lai et al., 2019).

Un altro studio molto recente ha indagato i meccanismi alla base dell'agopuntura analgesia attraverso risonanza magnetica funzionale (fMRI). In particolare, lo studio di Yu e colleghi aveva lo scopo di indagare gli effetti dell'agopuntura sulla connettività funzionale a riposo (rsFC) del grigio periacqueduttale (PAG) e dell'area tegmentale ventrale (VTA) in pazienti con lombalgia cronica. Diverse evidenze hanno mostrato come i sistemi di ricompensa della dopamina e di modulazione del dolore discendente degli oppioidi fossero responsabili dell'elaborazione del dolore. Sono state quindi studiate le aree VTA e PAG in quanto rappresentano rispettivamente regioni responsabili dell'attività del sistema di ricompensa e di modulazione del dolore discendente. I risultati hanno mostrato che l'agopuntura ha portato ad un aumento della connettività funzionale allo stato di riposo (rsFC) tra l'area tegmentale ventrale (VTA), il grigio periacqueduttale e l'amigdala e questo aumento di connettività è associato ad una diminuzione del dolore. Questi dati supportano la tesi che l'agopuntura moduli la connettività funzionale nelle regioni responsabili della modulazione del dolore discendente (PAG) e del sistema di ricompensa (VTA), e che l'amigdala svolga un ruolo importante per la produzione di effetti antinocicettivi (Yu et al., 2020).

Queste evidenze mostrano che nel corso del tempo, molti lavori hanno trattato il meccanismo neurale dell'agopuntura, senza però arrivare ad una teoria unificata; sono

quindi disponibili vari modelli e ipotesi per diverse applicazioni cliniche che tentano di far luce su tali meccanismi (Cheng, 2014).

1.5 Meccanismi neurobiologici coinvolti nell'agopuntura in relazione a diverse condizioni cliniche

Oltre ad occuparsi di analgesia, la ricerca sui meccanismi scientifici alla base dell'agopuntura si è occupata anche di altri disturbi e patologie invalidanti.

Vi sono varie evidenze che sottolineano l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento di problematiche gastrointestinali (Chen et al., 2018; Guo et al., 2020; Liu et al., 2016; Zhu et al., 2021) e numerosi studi hanno anche esaminato il meccanismo d'azione attraverso cui l'agopuntura agisce nel determinare un beneficio terapeutico. Uno studio molto recente che ha utilizzato un modello animale ha messo in luce che il sistema nervoso, in risposta alla terapia di agopuntura, regola il movimento gastrointestinale e questa regolazione neurale dipende: dalla modalità di trasmissione del segnale di agopuntura, dal sistema nervoso simpatico e parasimpatico, dal sistema nervoso enterico (ENS) (regolazione endogena) e dal sistema nervoso centrale (SNC) (regolazione esogena) (Yu, 2020).

Per quanto riguarda la trasmissione del segnale, quando lo stimolo fisico (ago) penetra nella pelle, genera una stimolazione meccanica che si traduce in segnali neurochimici. Questi segnali, a loro volta, si trasformano in segnali somatici afferenti in grado di modulare la motilità gastrointestinale. Le fibre nervose somatiche afferenti, riconosciute per avere un ruolo principale nel meccanismo neurale alla base dell'agopuntura, possono essere classificate in diversi tipi sulla base del loro diametro (es. A- α , A- β , A- δ e C). È stato riscontrato che l'agopuntura è efficace e sortisce un beneficio solo quando la stimolazione con l'ago supera la soglia delle fibre A- δ e/o C.

Riguardo al ruolo del sistema nervoso simpatico e parasimpatico, la stimolazione dei punti di agopuntura che hanno gli stessi segmenti spinali degli organi viscerali innervati diminuisce la pressione intestinale attraverso le vie simpatiche (recettori β_1 e β_2), mentre la stimolazione dei punti con segmenti spinali diversi dagli organi innervati apporta un beneficio intestinale mediante le vie parasimpatiche.

Il ruolo del SNC è quello di fornire input neurali estrinseci per controllare la motilità gastrointestinale, coinvolgendo diverse strutture quali midollo spinale, il midollo allungato e il mesencefalo. Il SNC, in risposta all'agopuntura, regola l'attività dei nuclei responsabili del movimento gastrointestinale come il nucleo motorio dorsale (DMV), il nucleo del tratto solitario (NTS), i nuclei rafe, l'ipotalamo laterale (LHA) e il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo (PVN) (Yu, 2020).

Utilizzando sempre un modello animale, Wang, Liu, Hu, Zhang, e Shen (2020) hanno rilevato come il sistema glutamatergico ippocampale è strettamente coinvolto nella regolazione della motilità gastrica in risposta alla terapia di elettroagopuntura (EA). In particolare, lo scopo era quello di valutare sia l'effetto dell'elettroagopuntura sulla motilità gastrica nei ratti affetti da dispepsia funzionale (difficoltà digestive croniche), sia quello di valutare i meccanismi alla base dell'effetto terapeutico dell'EA. I risultati hanno mostrato che l'EA ha significativamente migliorato la motilità gastrica nei ratti diminuendo il glutammato nell'ippocampo, suggerendo un ruolo chiave del sistema glutamatergico nel regolare la motilità gastrica (Wang et al., 2020).

Un'altra condizione clinica dove l'agopuntura ha mostrato dei benefici terapeutici è la cura dell'ictus e delle problematiche associate. Nonostante vi siano numerose conferme dell'efficacia terapeutica dell'agopuntura nel trattamento dell'ictus, non esiste ancora un accordo rispetto ai meccanismi sottostanti all'agopuntura nel sortire tale effetto terapeutico. Secondo una revisione di Chavez et al. (2017), i principali meccanismi coinvolti negli effetti benefici dell'agopuntura sulla riabilitazione dell'ictus ischemico sono: 1. Promozione della neurogenesi e della proliferazione cellulare nel sistema nervoso centrale (SNC); 2. Regolazione del flusso sanguigno cerebrale nell'area ischemica; 3. Anti-apoptosi nell'area ischemica; 4. Regolazione delle sostanze neurochimiche; 5. Miglioramento del potenziamento a lungo termine alterato (LTP) e della memoria dopo l'ictus. Questi risultati mostrano che l'effetto benefico dell'agopuntura modula vari aspetti del Sistema Nervoso Centrale (Chavez et al., 2017).

Per studiare i cambiamenti cerebrali dei pazienti con ictus, una tecnica fondamentale è la risonanza magnetica (MRI). Un lavoro molto recente si è concentrato sullo studio dei meccanismi alla base dell'agopuntura nel trattamento dell'ictus, in relazione alla plasticità cerebrale. Lo studio ha confrontato 32 lavori che hanno utilizzato la risonanza magnetica (MRI) per valutare la neuroplasticità nei pazienti con ictus a seguito di

agopuntura. I risultati hanno mostrato che l'agopuntura agisce riorganizzando una serie di aree cerebrali implicate in diverse funzioni. I fenomeni di plasticità riguardano: la rete di memoria, tra cui corteccia primaria (M1), corteccia premotoria, area motoria supplementare (SMA), rete frontoparietale, rete sensomotoria (SMN); le aree cerebrali implicate nel linguaggio tra cui i lobi frontali, i lobi temporali, i lobi parietali e occipitali; le aree associate alla cognizione.

Lo scarso accordo riguardo i meccanismi alla base dell'agopuntura nel trattamento dell'ictus e la scarsità di dati presenti in letteratura conferma la necessità di ulteriori studi ed ulteriori evidenze per convalidare i risultati (Zhang, Lu, Wu, Nie, & Yu 2021).

Per quanto riguarda il trattamento della tossicodipendenza, le evidenze che supportano l'efficacia dell'agopuntura sono più controverse. Tuttavia, sono stati eseguiti molti studi che avevano lo scopo di indagare i potenziali meccanismi coinvolti nella terapia di agopuntura in relazione a questa condizione clinica. Le evidenze neurobiologiche e comportamentali mostrano che l'agopuntura è in grado di ridurre gli effetti rinforzanti della sostanza, modulando il rilascio di dopamina nel sistema mesolimbico. Inoltre, diversi neurotrasmettitori come serotonina, oppioidi e aminoacidi tra cui GABA, sono implicati nel rilascio di dopamina a seguito di agopuntura (Yang, Lee, & Sohn, 2008).

Per quanto riguarda la dipendenza da oppiacei vi sono evidenze che mostrano come l'agopuntura e l'elettroagopuntura (EA) siano efficaci nel ridurre le sindromi di astinenza con effetti collaterali molto bassi. (Lu et al., 2009). I meccanismi sottostanti all'effetto terapeutico dell'agopuntura nel ridurre i sintomi di astinenza sono stati studiati da Kim et al. (2005) attraverso uno studio che mirava ad indagare, attraverso un modello animale, l'effetto dell'agopuntura sui cambiamenti indotti da morfina nei livelli di dopamina extracellulari. Ci sono prove che la morfina porta ad un aumento dei livelli di dopamina nel nucleo accumbens (NAcs) e questo aumento può svolgere un ruolo chiave nello sviluppo del comportamento di ricerca e quindi nel comportamento di dipendenza. Nel presente studio, i ratti sono stati trattati con dosi crescenti di morfina o di soluzione salina (gruppo di controllo) per tre giorni, due volte al giorno. I risultati hanno mostrato che l'agopuntura ha ridotto in modo significativo il rilascio di dopamina nel nucleo accumbens (NAcs) e ha ridotto l'iperattività causata dalle iniezioni di morfina. Secondo gli autori questi risultati mostrano che l'agopuntura agisce sulla dipendenza da morfina

attraverso la riduzione della sensibilizzazione neurochimica e comportamentale della morfina. Gli autori ipotizzano che l'agopuntura potrebbe essere in grado di inibire l'effetto degli oppiacei sui neuroni dopaminergici attraverso i neuroni GABA (neuroni in grado di sopprimere i neuroni della dopamina) nell'area tegmentale ventrale (VTA) (Kim et al., 2005).

Vi sono anche evidenze che hanno esaminato l'effetto dell'agopuntura sull'abuso e sulla dipendenza da metanfetamina, tuttavia, l'effetto dell'agopuntura sui comportamenti provocati da tale sostanza e i meccanismi sottostanti non sono del tutto chiari. Kim et al. (2019) hanno proposto uno studio con lo scopo di indagare l'effetto dell'agopuntura sull'attività locomotoria e sul rilascio di dopamina nel nucleo accumbens in ratti trattati con metanfetamina. La metanfetamina aumenta il rilascio di dopamina nel sistema mesolimbico fino ad arrivare al nucleo accumbens (NAcs) e aumenta i livelli extracellulari di dopamina anche nello striato dorsale e ventrale. Questo aumento contribuisce agli effetti gratificanti derivati dalla sostanza e alla sensibilizzazione comportamentale. I risultati dello studio mostrano che, a seguito di elettroagopuntura (EA), l'attività locomotoria dei ratti è sensibilmente diminuita ed è diminuito anche il rilascio di dopamina nel sistema mesolimbico e di conseguenza nel nucleo accumbens (Kim et al., 2019). Questi risultati sono in linea con uno studio precedente di Ho et al. (2017) dove, a seguito di EA in ratti trattati con metanfetamina, è stata riscontrata una diminuzione dei livelli di dopamina nel nucleo accumbens.

Per quanto riguarda la cocaina, è stato riscontrato che il sistema mesolimbico della dopamina è responsabile del comportamento di ricerca e della sensibilizzazione a tale sostanza. Numerosi studi hanno indagato le basi neurobiologiche sottostanti all'effetto terapeutico dell'agopuntura in relazione alla dipendenza da cocaina, suggerendo un ruolo attivo del nucleo accumbens e della dopamina. Uno studio molto recente di Jin et al. (2018) ha mostrato che la terapia di agopuntura può sopprimere il rilascio dopamina indotto dalla cocaina nel nucleo accumbens (NAcs); è stato riscontrato inoltre che il comportamento di ricerca è stato soppresso attraverso l'attivazione dei neuroni GABA nell'area tegmentale ventrale (VTA) (Jin et al., 2018).

Una revisione molto recente del 2021 analizza i meccanismi neurobiologici sottostanti all'agopuntura nel trattamento della tossicodipendenza. In particolare, vengono espone

due teorie diverse sul ruolo dei percorsi di ricompensa nell'attivare la ricerca compulsiva della sostanza. La teoria della sensibilizzazione all'incentivo sostiene che la ricerca di sostanze è causata da specifici effetti e stimoli associati alla sostanza, attivando così un percorso di ricompensa sensibilizzato. La teoria del processo avversario propone che la ricerca di farmaci causi uno stato ipo-funzionale del percorso di ricompensa portando ad uno stato emotivo negativo. Queste teorie suggeriscono che il desiderio può derivare da stati di iper o ipofunzione del sistema di ricompensa, includendo la via mesolimbica della dopamina. L'agopuntura, in questo senso, normalizza l'iper o iporeattività del sistema mesolimbico della dopamina e il conseguente comportamento di ricerca delle sostanze, attivando il percorso cerebrale tramite stimolazione somatosensoriale (Lee et al., 2021).

CAPITOLO 2: EFFETTO PLACEBO E AGOPUNTURA

2.1 Definizione, Origine e storia del placebo

Tradizionalmente, medici e ricercatori hanno considerato l'effetto placebo come un'interferenza da considerare all'interno di studi clinici randomizzati (Eccles, 2006; Quattrone, Barbagallo, Cerasa, & Stoessl, 2018). Tuttavia, negli ultimi anni, numerose prove sperimentali sostengono l'importanza degli effetti positivi del trattamento con placebo a sostegno delle diverse applicazioni cliniche.

Il termine placebo viene comunemente utilizzato per definire un trattamento inerte, privo di qualsiasi proprietà terapeutica intrinseca e specifica. L'effetto placebo invece rappresenta l'effetto che si verifica a seguito della somministrazione di un trattamento inerte (placebo) (Benedetti, 2014). Di conseguenza, tutti gli effetti psicobiologici che si verificano a seguito della somministrazione di un placebo possono essere chiamati effetti placebo (Benedetti, 2008). Nonostante l'ampio utilizzo di questa definizione, sono necessarie alcune chiarificazioni in quanto un placebo è composto non solo da un trattamento inerte ma anche da altri fattori come, ad esempio, parole, simboli e significati. Il placebo riguarda quindi la somministrazione di un trattamento inerte all'interno di un ambiente psicosociale; in questi termini il placebo rappresenta l'intero atto terapeutico (Benedetti, 2014).

Per una migliore comprensione, è necessario riconsiderare il placebo in termini di "intervento placebo", costituito da un trattamento fittizio e da un contesto clinico circostante (Finniss, Kaptchuk, Miller, & Benedetti, 2010). Le ricerche hanno dimostrato che l'effetto placebo deriva da processi psicologici attribuibili al contesto terapeutico (Enck, Benedetti, & Schedlowski, 2008).

Qualsiasi trattamento è accompagnato da un contesto psicosociale che influenza l'esito terapeutico. Anche quando viene somministrato un trattamento reale, la risposta che ne deriva sul paziente è il risultato del trattamento stesso e del contesto in cui viene somministrato (Finniss et al., 2010).

Per studiare il contesto psicosociale è necessario eliminare l'azione specifica di una terapia e simulare un contesto estremamente simile a quello di un trattamento reale. Per

raggiungere tale scopo viene somministrato al paziente un trattamento placebo (fittizio) facendo credere che si tratti di una terapia efficace e inducendo aspettative di un miglioramento clinico (Benedetti, Mayberg, Wager, Stohler, & Zubieta, 2005). In questo modo è possibile simulare un contesto terapeutico tale che l'effetto dell'intervento (effetto placebo) sia attribuibile al modo in cui il contesto influisce sul cervello, sul corpo e sul comportamento del paziente (Finniss et al., 2010).

È importante quindi sottolineare che lo studio dell'effetto placebo è lo studio del contesto psicosociale attorno al paziente (Benedetti et al., 2005). Il contesto può essere composto da fattori individuali del paziente, del medico e dall'interazione tra paziente, medico e ambiente di trattamento. Questa concettualizzazione del placebo consente di comprendere meglio i fattori che costituiscono il contesto psicosociale e di come questi possono essere migliorati nella pratica clinica (Finniss et al., 2010).

Per distinguere gli effetti placebo positivi da quelli nocivi è stato introdotto il termine nocebo. L'effetto nocebo si verifica quando, a seguito di un trattamento inerte accompagnato da suggerimenti verbali di esiti negativi, il soggetto riscontra un peggioramento della propria condizione di salute (Colloca, Sigaudó, & Benedetti, 2008). Questo effetto sottolinea l'importanza dell'interazione mente-corpo-cervello, in quanto la suggestione e l'immaginazione del paziente producono non più degli effetti benefici e terapeutici bensì degli effetti negativi.

Alcuni esempi di questo effetto negativo sono forniti da alcune popolazioni dell'Australia, dell'America Latina e dell'Africa che, attraverso rituali che sfruttano la suggestione, possono indurre effetti negativi nell'altro. L'aspettativa è essenziale in quanto spinge l'individuo ad aspettarsi qualcosa di negativo, portando ad un aumento di ansia e sofferenza e, di conseguenza, un aumento di risposte negative (Benedetti, 2013).

Sembra che la storia del placebo possa considerarsi equivalente alla storia della medicina in quanto quasi tutte le terapie che venivano utilizzate nei secoli passati erano di fatto un placebo, ovvero prive di azione curativa reale. I trattamenti utilizzati per offrire cure e alleviare le sofferenze erano principalmente di natura religiosa e metafisica, senza un fondamento scientifico e razionale. Nonostante l'apparente inefficacia di intrugli, rituali e trattamenti della medicina prescientifica, uno degli aspetti interessanti è che queste terapie bizzarre portavano a dei miglioramenti reali e tangibili nelle persone. Le ragioni di tali benefici sono assimilabili alla remissione spontanea di una patologia e al contatto

umano che, riducendo l'ansia e la preoccupazione, diminuisce l'impatto del dolore e della sofferenza (Benedetti, 2013).

Con il passare del tempo e con l'evoluzione di conoscenze relative all'anatomia e alla fisiologia, emerge la necessità da parte degli studiosi, di spiegare, a livello scientifico, l'efficacia di molte terapie utilizzate fino ad ora (Kaptchuk, 1998).

Nella seconda metà del Settecento vennero quindi messi in discussione alcuni interventi medici non coerenti con le recenti scoperte scientifiche, quali ad esempio il Mesmerismo, il Perkinismo (terapia basata su barre metalliche allo scopo di espellere fluido patogeno) e l'omeopatia (terapia basata sull'utilizzo di una piccolissima quantità di sostanza patogena per curare le malattie).

Il Mesmerismo, ad esempio, era basato sull'idea che esistesse un fluido curativo denominato magnetismo animale. Per valutare l'efficacia di questo trattamento fu istituita una commissione che effettuò uno dei primi studi controllati con placebo. I risultati mostrarono chiaramente che i benefici derivati dal trattamento mesmerico erano frutto dell'immaginazione e della suggestione e che non fosse presente nessun fluido mesmerico (Benedetti, 2013; Kaptchuk, 1998).

A seguito di queste esperienze, nella comunità scientifica, cominciò ad emergere l'idea che molte terapie che fino a quel tempo erano considerate valide, in realtà producevano dei miglioramenti frutto di una regressione spontanea della patologia oppure frutto di suggestione ed immaginazione dei pazienti. Da questa consapevolezza nacque l'esigenza di effettuare degli studi clinici rigorosi che tenessero in considerazione l'efficacia di una terapia al netto di altri fattori psicosociali. È in questo periodo che trova le sue origini il termine "placebo" che genera la necessità in medici e ricercatori di introdurre studi in doppio cieco dove la terapia in esame viene paragonata con una terapia finta (terapia placebo), al fine di verificarne l'efficacia.

Tra gli anni Venti e Trenta, furono condotti numerosi studi clinici in doppio cieco per testare l'efficacia di molte terapie in relazione a diverse condizioni cliniche (Benedetti, 2013). In quest'epoca di ricerca basata sull'evidenza, l'effetto placebo era considerato più come un fastidio per lo sperimentatore e per l'industria piuttosto che come un vantaggio per il paziente. Un punto di svolta rispetto a questa concezione del placebo è probabilmente dovuto alla pubblicazione di un articolo di Beecher (1955) intitolato "The powerful placebo". In questa pubblicazione Beecher ha mostrato che nel 35% dei pazienti

è possibile riscontrare un reale beneficio terapeutico tramite un trattamento con placebo per molte malattie. Nonostante le critiche ricevute, questo lavoro può essere considerato un punto di svolta nel modo in cui le comunità scientifiche considerano i placebo (Eccles, 2006).

Al giorno d'oggi, per valutare l'efficacia di una terapia viene effettuato un trial clinico in doppio cieco che prevede la successione di varie fasi dove il trattamento viene testato sui soggetti e paragonato ad un placebo per verificare la sua efficacia. In questi trial, il placebo deve essere rigorosamente indistinguibile in tutto e per tutto al trattamento vero e proprio in quanto, sia il soggetto, sia lo sperimentatore, non devono rendersi conto della differenza. Rendere indistinguibili due pillole può risultare poco complicato in quanto è sufficiente che abbiano la stessa forma, colore e sapore; rendere indistinguibili altre forme di terapia come, ad esempio, l'agopuntura o una psicoterapia può essere invece molto più complesso. Questa complessità rende molto difficile testare queste terapie con protocolli e metodologie rigorose, mantenendo quindi dei dubbi sulla loro efficacia.

Howard Brody nel 2000 definì l'effetto placebo come “un cambiamento del corpo o della mente che avviene come risultato del significato simbolico che viene attribuito ad un evento o a un oggetto in ambito sanitario” (Benedetti, 2013). Quando si somministra un placebo, quindi, si inducono delle aspettative legate al benessere e alla guarigione, capaci di produrre degli effetti terapeutici. Numerose ricerche hanno infatti evidenziato che i meccanismi coinvolti nella risposta placebo sono sostanzialmente due, l'aspettativa e il condizionamento classico.

L'aspettativa implica prevedere il futuro in base a esperienze passate. L'aspettarsi una determinata cosa risulta essere un potente meccanismo che serve per anticipare una situazione e tale anticipo è fondamentale per la sopravvivenza e la vita di relazione. In questo senso, quando ci si ammala e si intraprende una terapia, le aspettative sono importantissime; quando si simula una terapia con un placebo, si induce nel paziente un'aspettativa di guarigione e tale aspettativa produce una modificazione del sintomo (Benedetti, 2012).

Non sempre l'aspettativa, da sola, è sufficiente per produrre un effetto placebo; un altro importante meccanismo alla base dell'effetto placebo è una forma particolare di apprendimento, il condizionamento. Secondo questa ipotesi, uno stimolo neutro può

acquisire la capacità di produrre un miglioramento (effetto placebo) dopo ripetute associazioni con uno stimolo incondizionato. Ad esempio, i pazienti con mal di testa che assumono con regolarità aspirine per alleviare il dolore, possono associare la forma e il colore delle pastiglie alla riduzione del dolore. Dopo diverse associazioni, se viene somministrata una pillola inerte, per esempio di zucchero, che assomiglia all'aspirina e viene detto loro che la pillola è aspirina, il dolore può diminuire. Il cervello del paziente quindi impara ad associare la forma della pastiglia con la scomparsa del dolore, per cui si è verificato un tipo di apprendimento dove, colore e forma della pastiglia, suscitano una diminuzione del dolore (Benedetti & Amanzio, 1997).

Non esiste quindi un solo meccanismo implicato nell'effetto placebo, ma molti. Si può affermare che meccanismi diversi sono presenti in soggetti diversi; di conseguenza, sarebbe utile parlare non più di un "effetto placebo" ma di "effetti placebo" per sottolineare la molteplicità di meccanismi e fattori che sottendono a tale effetto (Benedetti, 2013).

In conclusione, il concetto di placebo si è molto evoluto nel corso del tempo e al giorno d'oggi rappresenta un fattore essenziale nei trial clinici per testare l'efficacia di farmaci e terapie e per comprendere meglio l'interazione fra mente e corpo (Benedetti, 2013).

2.2 Implicazioni dell'effetto placebo in agopuntura

Come ampiamente descritto, l'agopuntura mostra significativi effetti terapeutici nel trattamento di molte condizioni cliniche. In particolare, la sua efficacia emerge maggiormente quando è confrontata con nessun trattamento o con cure abituali. Tuttavia, parte della letteratura riguardante l'efficacia dell'agopuntura non è riuscita a mostrare differenze significative tra agopuntura reale e agopuntura fittizia (controllo placebo). Queste evidenze suggeriscono un contributo importante dell'effetto placebo nel determinare un risultato terapeutico (Yang et al., 2021).

L'effetto specifico di un intervento rappresenta l'azione terapeutica responsabile di un particolare risultato. Nella terapia di agopuntura, l'inserimento dell'ago è considerato la fonte principale di effetti specifici. Tuttavia, gli effetti benefici dell'agopuntura non sono attribuibili solo all'inserimento di aghi in punti specifici del corpo. Le evidenze riportano

che numerosi effetti non specifici causati dall'agopuntura possono essere determinati da vari fattori psicologici, sociali e ambientali, che possono interagire con l'effetto specifico dell'agopuntura al fine di determinare un beneficio terapeutico. In particolari, gli effetti non specifici possono riguardare la percezione dell'agopuntore da parte del paziente, la conoscenza della tecnica, gli atteggiamenti e i comportamenti del paziente, la relazione paziente-agopuntore e l'ambiente di prova che agiscono nel determinare un aumento degli effetti non specifici dell'agopuntura (Ho et al., 2021a).

Nel contesto di uno studio esplicativo di agopuntura che mira ad eliminare effetti non specifici, il controllo fittizio dovrebbe essere fisiologicamente inerte e indistinguibile dall'agopuntura reale. Nei vari studi condotti fino ad ora, i ricercatori hanno utilizzato varie procedure di agopuntura fittizia come controlli, tra cui: 1. Inserimento dell'ago in siti vicini non corrispondenti a nessun punto di agopuntura tradizionale; 2. Inserimento superficiale dell'ago nei punti di agopuntura tradizionali; 3. Dispositivi di agopuntura fittizia non penetranti collocati nei punti di agopuntura tradizionale; 4. Dispositivi di agopuntura fittizia non penetranti collocati in siti vicini non corrispondenti a nessun punto di agopuntura tradizionale 4. Stimolazione nervosa elettrica transcutanea o l'agopuntura laser (Ho et al., 2021a).

In accordo con il discorso presentato nel febbraio 2019 a una conferenza sull'agopuntura sponsorizzata dal National Institutes of Cancer (NCI) e dal National Center for Complementary and Integrative Health (NCCIH) presso il National of Institutes of Health (NIH), il dibattito sugli effetti placebo pone un dilemma per la pratica dell'agopuntura. In particolare, sono state sollevate numerose questioni critiche relative ai paradigmi utilizzati negli RTC di agopuntura.

In primo luogo, la qualità metodologica degli RCT di agopuntura e delle revisioni che valutano l'efficacia dell'agopuntura non è sufficientemente adeguata. Un lavoro molto recente sottolinea come le limitazioni presenti nelle revisioni sistematiche che valutano l'efficacia dell'agopuntura possono influire negativamente sull'affidabilità delle loro conclusioni. Nonostante il numero di revisioni sistematiche sia aumentato nel corso degli ultimi anni, ci sono ancora preoccupazioni sulla loro qualità metodologica. Ad esempio, le problematiche possono riguardare una ricerca bibliografica inappropriata, l'assenza di una valutazione critica degli studi primari e delle metanalisi, scarsa considerazione del rischio di bias nell'interpretazione dei risultati della revisione e scarsa valutazione della

presenza e del probabile impatto del bias di pubblicazione. Queste limitazioni metodologiche possono fuorviare il processo decisionale nella pratica clinica. È necessario quindi valutare il rigore delle revisioni esistenti e considerare la loro affidabilità nell'informare il processo decisionale. (Ho et al., 2021b).

In secondo luogo, sono state riscontrate delle problematiche rispetto ai controlli inadeguati con placebo dato che l'agopuntura include modalità multiple. Gli studi di agopuntura di solito testano una delle tante tecniche di agopuntura e poi traggono conclusioni sull'agopuntura in generale, con il rischio di commettere un errore di eccessiva generalizzazione (Birch et al., 2022b).

Rispetto all'utilizzo di controlli, un'altra critica avanzata riguarda il fatto che spesso vengono utilizzati dei controlli fittizi non inerti che possono stimolare una serie di percorsi fisiologici noti per essere coinvolti nella pratica di agopuntura reale (Birch et al., 2022b).

In terzo luogo, esiste una discrepanza tra l'agopuntura eseguita in RCT con l'agopuntura del mondo reale e questa differenza deve essere considerata nel momento in cui si traggono delle conclusioni sulla potenziale efficacia di questa pratica. Come suggerito da Kim, Lee, Alraek, e Birch, (2020), l'agopuntura Verum negli studi di agopuntura controllata da dispositivi fittizi potrebbe differire dalla pratica di agopuntura nel mondo reale. L'unità di base, necessaria per mantenere un dispositivo di agopuntura fittizio (non penetrante) sulla pelle del paziente, viene utilizzata anche per l'agopuntura Verum. Grazie all'utilizzo di questi strumenti, i ricercatori possono ottenere con successo il "blinding" dei partecipanti. Questa pratica però potrebbe ridurre la stimolazione appropriata, che è di grande importanza nell'agopuntura del mondo reale. La manipolazione degli aghi può essere influenzata negativamente dalle componenti dei dispositivi fittizi, consentendo agli aghi di agopuntura di essere manipolati solo con profondità, stimolazione e direzione limitate (Kim et al., 2020).

Infine, prove emergenti suggeriscono che l'agopuntura Verum e l'agopuntura fittizia possono avere lo stesso effetto clinico ma presentare un meccanismo cerebrale molto diverso, influenzando comunque la stima accurata delle dimensioni dell'effetto del trattamento e portando potenzialmente a conclusioni errate (Kaptchuk, 2020).

Questi fenomeni e queste criticità devono essere considerati in una valutazione della potenziale efficacia dell'agopuntura. Lo sviluppo di metodologie efficaci per separare

l'agopuntura Verum e il placebo rimane tutt'ora una sfida importante sia nello studio, sia nella pratica di agopuntura. Sono necessarie ulteriori ricerche sia per l'agopuntura che per la medicina sulla questione dell'individuazione del paradigma ideale per valutare l'efficacia dell'agopuntura e dei controlli con placebo (Kaptchuk, 2020).

2.3 Sfida metodologica per controllare il placebo nella terapia di agopuntura

L'agopuntura è una pratica terapeutica che si esegue inserendo uno o più aghi in siti specifici sulla superficie corporea a scopo terapeutico. Per valutare l'efficacia di questo specifico trattamento, sono state sviluppate numerose procedure fittizie per controllare l'effetto placebo in studi clinici randomizzati controllati (RCT). In virtù della natura inerte dei controlli placebo rispetto ai trattamenti attivi, gli studi controllati con placebo consentono di differenziare gli effetti terapeutici di uno specifico trattamento da effetti di trattamento non specifici, come il contesto medico e le conseguenti aspettative. Per questa ragione, le procedure di agopuntura fittizia (controllo placebo) utilizzate negli RCT di agopuntura devono essere indistinguibili dalla pratica di agopuntura reale, senza però produrre effetti terapeutici e fisiologici. Per raggiungere questo obiettivo, una delle soluzioni più utilizzate dai ricercatori sono i dispositivi di agopuntura placebo non penetranti.

Sono stati quindi sviluppati degli aghi non penetranti con un aspetto simile ai veri aghi per agopuntura, che si ritraggono quando vengono premuti sulla pelle, fornendo ai soggetti l'illusione visiva e sensoriale di una penetrazione cutanea (Chae, Lee, & Enck, 2018). Gli aghi non penetranti sono stati spesso utilizzati come standard nello studio dei meccanismi alla base degli effetti dell'agopuntura ed è interessante notare che diversi studi hanno dimostrato che l'efficacia degli aghi per agopuntura placebo è simile a quella degli aghi per agopuntura reale. Alcuni RCT hanno dimostrato che i trattamenti di agopuntura reali e placebo sono ugualmente efficaci e che entrambi sono superiori ai trattamenti abituali o a nessun trattamento per il dolore. Questi dati suggeriscono che la pratica di agopuntura Verum sia ugualmente efficace dell'agopuntura fittizia con dispositivi non penetranti e questo potrebbe portare a concludere precipitosamente che la pratica di agopuntura sia in realtà frutto esclusivamente di un effetto placebo. In realtà,

l'adeguatezza dei controlli utilizzati in questi studi deve ancora essere determinata in modo chiaro, rimanendo oggetto di numerose questioni (Chae et al., 2018).

Determinare il corretto controllo inerte per un RCT progettato per valutare l'efficacia dell'agopuntura è metodologicamente impegnativo per tre ragioni principali. 1. È difficile creare un dispositivo di controllo inerte che imiti sia l'aspetto visivo del dispositivo di trattamento dell'agopuntura sia il metodo di inserimento dell'ago coinvolto nel trattamento dell'agopuntura. 2. È difficile sviluppare un dispositivo di agopuntura inerte in grado di controllare tutti i fattori non specifici coinvolti in un trattamento di agopuntura. La penetrazione della pelle induce, inoltre, una varietà di risposte fisiologiche non specifiche che coinvolgono la microcircolazione, la funzione immunitaria locale e gli effetti analgesici neuromediati. 3. È difficile mascherare rispetto alle condizioni di trattamento l'agopuntore che sta amministrando direttamente l'agopuntura (Zhu, Gao, Chang, & Kong, 2013).

Per affrontare quindi la sfida metodologica di controllo del placebo, i ricercatori hanno sviluppato una serie di dispositivi placebo di agopuntura non penetranti e tra i più studiati e validati emergono il dispositivo Streitberger, il dispositivo Park e il dispositivo Takakura (Zhang et al., 2015).

Il dispositivo Streitberger è stato sviluppato e introdotto nel 1998 da Streitberger e Kleinhenz (Streitberger & Kleinhenz, 1998). L'obiettivo degli autori era quello di simulare una procedura di agopuntura senza penetrare la pelle. Il dispositivo è stato testato per la prima volta in un esperimento con 60 volontari e i risultati hanno mostrato che 47 dei 60 soggetti hanno avvertito la penetrazione con l'ago placebo e che nessuno dei presenti sospettava che l'ago potesse non essere penetrato nella pelle. Secondo gli autori quindi, l'ago placebo è risultato sufficientemente credibile per essere utilizzato nelle valutazioni degli effetti dell'agopuntura. Il dispositivo Streitberger utilizza un ago a punta smussata che si ritrae nel manico di rame, consentendo la produzione di una sensazione di puntura quando l'ago tocca la pelle ma senza penetrazione cutanea. Per posizionare l'ago e per consentire che rimanga aderente alla pelle anche senza un'effettiva penetrazione, viene utilizzato un anello di plastica coperto da un foglio di plastica. Questa procedura deve essere utilizzata anche nell'agopuntura reale (con la differenza che l'ago

in questo caso penetra realmente) per rendere indistinguibili le due condizioni (Streitberger & Kleinhenz, 1998).

Tuttavia, sono state mosse alcune critiche a questo dispositivo tra cui: 1. È potenzialmente inadatto ad alcune aree del corpo; 2. La stimolazione manuale e la direzione della stimolazione è parzialmente ridotta; 3. La sterilizzazione degli aghi può essere compromessa poiché l'ago penetra attraverso il supporto o la medicazione che viene posta sopra la pelle (Zhang et al., 2015).

Il dispositivo Park è stato sviluppato successivamente, nel 1999, in modo indipendente rispetto al lavoro di Streitberger e Kleinhenz. Si tratta di un ago placebo che appare indistinguibile da un vero ago per agopuntura, con la differenza che presenta una punta smussata e uno stelo che si ritrae nella maniglia quando viene applicata una pressione a contatto con la pelle. Il manico dell'ago è composto da acciaio inossidabile avvolto in un tubo che dà resistenza al movimento dell'ago. Per consentire all'ago fittizio di rimanere in posizione nonostante l'assenza di penetrazione, è stato sviluppato il tubo Park, ovvero un tubo guida maggiorato in silicone che ad un'estremità aderisce alla pelle con nastro biadesivo. Il principale tubo guida dove si ritrae l'ago si adatta perfettamente all'interno del tubo Park. Questo dispositivo poi deve essere utilizzato anche nella condizione di agopuntura reale (con la differenza che l'ago in questo caso penetra realmente) per rendere indistinguibili le due procedure. In sintesi, il set che compone questo dispositivo è formato da ago placebo o ago reale, un tubo guida e il tubo maggiorato in silicone Park. Nella pratica, l'agopuntore fa scorrere il tubo guida in avanti all'interno del tubo Park e l'impressione risulta essere quella della penetrazione anche se in realtà l'ago si ritrae all'interno del tubo guida (Park, White, Lee, & Ernst, 1999).

Il dispositivo Takakura è stato sviluppato nel 2007 con l'obiettivo di fornire un ago non penetrante in grado di garantire la condizione di doppio cieco (medico-paziente). Il dispositivo è composto da un tubo guida opaco e un'imbottitura superiore (situata all'inizio del tubo opaco) per fornire resistenza al corpo dell'ago durante il suo passaggio attraverso il tubo guida. Questa imbottitura genera nei praticanti una sensazione simile nelle diverse condizioni (ago penetrante-ago non penetrante), favorendo così il "blinding" non solo dei partecipanti ma anche dei professionisti. Nella condizione di agopuntura reale, l'ago penetrante è più lungo del tubo guida, ma nella condizione fittizia, l'ago non penetrante è sufficientemente lungo da consentire alla punta smussata di

premere contro la pelle quando il corpo dell'ago arriva al limite. L'ago non penetrante contiene anche un'imbottitura sul fondo per dare all'agopuntore una sensazione di penetrazione simile a quelle di un ago penetrante. Entrambi gli aghi hanno un supporto che impedisce all'impugnatura di avanzare ulteriormente quando la punta dell'ago penetrante o la punta smussata non penetrante raggiunge la posizione specifica. È presente, inoltre, un supporto adesivo su ciascun ago che permette al dispositivo di aderire saldamente alla superficie della pelle (Takakura & Yajima, 2007).

A causa della lunghezza fissa dell'ago e della posizione di riempimento, il dispositivo Takakura è limitato nella sua capacità di simulare i metodi tradizionali di manipolazione dell'ago e i vari angoli di inserimento (Zhu et al., 2013).

Il dispositivo è stato testato per la prima volta su 60 volontari sani e i risultati hanno mostrato come i praticanti non sono riusciti a distinguere tra gli aghi penetranti e non penetranti, indipendentemente dalla loro esperienza pratica. Inoltre, i soggetti non erano in grado di distinguere l'autenticità dell'ago.

Gli autori però suggeriscono che la capacità del dispositivo di creare una condizione di doppio cieco deve essere convalidata anche in condizioni cliniche in cui i partecipanti sono stati informati del possibile uso di aghi non penetranti (Takakura & Yajima, 2007).

Nonostante vi siano molti altri dispositivi di agopuntura placebo non penetranti, i tre sopra descritti sono stati i più ampiamente utilizzati e convalidati in studi controllati e randomizzati (Zhang et al., 2015).

Ai fini dell'utilizzo in ambito sperimentale, è importante evidenziare quali sono i vantaggi, gli svantaggi e gli aspetti unici di questi dispositivi, nonché alcune accortezze che i ricercatori dovrebbero prendere in fase di progettazione di uno studio di agopuntura controllato con placebo.

Questi tre dispositivi vengono utilizzati in modo simile, inserendo un ago smussato che, toccando la pelle, viene represso, ma senza penetrare. Il dispositivo Streitberger è l'unico che consente una buona manipolazione dell'ago, simile a quella che viene eseguita nella pratica di agopuntura reale al di fuori del contesto sperimentale (Zhu et al., 2013).

Il dispositivo Park e Takakura, infatti, a causa di componenti che ruotano attorno all'ago per favorire il mascheramento, presentano delle limitazioni fisiche per quanto riguarda la loro capacità di facilitare una serie di metodi di manipolazione, come l'inserimento superficiale o orizzontale. Inoltre, non sono efficaci per tutti i tipi di agopunto e per tutte

le posizioni di agopuntura e possono essere inseriti solo perpendicolarmente rispetto al corpo (Gan, Aye, & Sin, 2021).

Per quanto riguarda il “blinding”, tutti i dispositivi di agopuntura placebo, se usati in modo corretto, possono garantire il mascheramento del paziente in contesti di trattamenti acuti e a breve termine. Tuttavia, in un contesto di trattamento a lungo termine, che presenta numerose sedute, il mascheramento del paziente può essere difficile da mantenere a causa della curiosità del soggetto a comprendere meglio il tipo di trattamento ricevuto. È quindi importante che in fase di progettazione si tenga in considerazione l’eventualità che il “blinding” possa non essere mantenuto fino alla fine dello studio (Zhu et al., 2013).

Una recente revisione e metanalisi di Zhang et al. (2015) valuta l’efficacia dei tre dispositivi come controllo placebo inerte ed è molto utile per confrontare i punti di forza e di debolezza dei dispositivi placebo, fornendo indicazioni utili sul potenziale sviluppo di una migliore forma di intervento di controllo dell’agopuntura per futuri RCT. Dei 36 studi presi in esame in questo lavoro, 21 hanno utilizzato il dispositivo Streitberger, 13 hanno utilizzato il dispositivo Park e solo 2 il dispositivo Takakura. Le condizioni trattate con agopuntura nei vari studi sono eterogenee e vanno dal trattamento del dolore fino al trattamento dell’ejaculazione precoce. Rispetto al “blinding”, 15 studi non hanno condotto test di credibilità mentre 20 studi hanno condotto test per valutare il mascheramento; di questi, 19 hanno riportato un mascheramento riuscito nei confronti dei pazienti. Tuttavia, diversi studi hanno riportato una credibilità piuttosto vaga, affermando che nessun partecipante è stato in grado di distinguere tra agopuntura Verum e placebo invece di riportare il numero esatto di partecipanti. Nonostante questo aspetto, un’altra revisione di Moroz et al. (2013) ha suggerito che utilizzando i tre aghi non penetranti come controllo placebo (dispositivi Streitberger, Park e Takakura) è stato raggiunto un mascheramento efficace dei partecipanti.

I due studi che hanno utilizzato il dispositivo Takakura invece, hanno riportato non solo un successo nel mascheramento dei partecipanti, ma anche un successo nel mascheramento del professionista, rivelandosi quindi l’unico dispositivo in grado di supportare la condizione di doppio cieco (Zhang et al., 2015).

Confrontando il design dei tre dispositivi, lo Streitberger è quello più utilizzato e convalidato. Sono state però sollevate delle preoccupazioni in merito alla difficoltà di applicare il dispositivo su determinati punti di agopuntura in alcune specifiche aree del corpo, come le dita, le dita dei piedi e il cuoio capelluto. Inoltre, la sterilizzazione può essere compromessa in quanto l'ago penetra attraverso il supporto di plastica che consente all'ago di rimanere in posizione nonostante l'assenza di penetrazione. Nonostante il dispositivo Streitberger e il dispositivo Park supportino il mascheramento del paziente, entrambi non sembrano essere adeguati per uno studio in doppio cieco (mascheramento di soggetto e praticante). Anche il dispositivo Park presenta limitazioni nell'applicazione del dispositivo a punti specifici di agopuntura situati, ad esempio, sulle dita o sulle dita dei piedi. Tuttavia, il tubo guida nel dispositivo Park consente la sterilizzazione dell'ago senza le complicazioni presenti nel dispositivo Streitberger.

Il dispositivo Takakura, invece, viene descritto come quello più efficace nel raggiungere tutti i punti di agopuntura (comprese dita delle mani e dei piedi). Il suo maggior punto di forza è quello di consentire il mascheramento del professionista grazie al materiale morbido imbottito che Takakura e colleghi hanno aggiunto nel tubo guida del dispositivo, per garantire che il praticante provi le stesse sensazioni inserendo aghi penetranti o aghi non penetranti con punta smussata. Nonostante questo aspetto positivo, in virtù delle sue caratteristiche, questo dispositivo è quello più costoso rispetto ai precedenti ed essendo il più recente, necessità ancora di ulteriori studi di convalida.

Un aspetto critico di questi dispositivi è rappresentato dal rischio che il “blinding” venga a mancare a causa di un sanguinamento provocato dall'agopuntura Verum. In questo caso, infatti, il partecipante verrebbe a conoscenza della condizione a cui è sottoposto (Zhang et al., 2015). Un altro aspetto critico riguarda il fatto che questi dispositivi si basano esclusivamente sul nastro biadesivo o su un piedistallo da attaccare alla pelle. Il nastro adesivo però potrebbe non essere adatto per la pelle particolarmente pelosa o per le aree che non sono piatte e, di conseguenza, l'utilizzo di dispositivi di agopuntura fittizi può essere impegnativo sul cuoio capelluto, sulle regioni pelose e sulla pelle con una grande curvatura come le orecchie, le dita delle mani e dei piedi (Gan et al., 2021).

Un lavoro più recente condotto dallo stesso gruppo di ricerca ha evidenziato, in accordo con i risultati precedenti, che la capacità di mascheramento dei dispositivi Park e Takakura dipendesse dagli specifici punti di agopuntura. In particolare, il “blinding” era

ottimale in tutti i punti di agopuntura testati, fatta eccezione per il punto LI4, situato sul dorso della mano, tra il primo e il secondo metacarpo. Gli autori, infatti, suggeriscono che per questa tipologia di punti, sarebbe più utile utilizzare il dispositivo Takakura per rispettare il “blinding”.

Differentemente da altre forme di agopuntura placebo, i tre dispositivi citati rappresentano sotto tanti aspetti la migliore forma di controllo dell'agopuntura con placebo, in virtù del plausibile “blinding” nei confronti del paziente e nei confronti del praticante (nel caso del dispositivo Takakura) e in virtù di numerosi studi di convalida e standardizzazione (Zhang et al., 2018).

Un altro aspetto importante da tenere in considerazione quando si valuta l’appropriatezza dei dispositivi placebo per testare l'efficacia del trattamento con agopuntura in RCT è la sensazione “Deqi”. Come accennato nel primo capitolo, l'inserimento e la manipolazione di un ago in un agopunto specifico produce una serie di risposte sensoriali situate nel luogo di inserimento dell'ago; queste risposte però possono anche irradiarsi lungo un meridiano noto come “Deqi” (Grillo et al., 2018).

A livello pratico, il “Deqi” si manifesta negli individui sottoposti ad agopuntura sotto forma di intorpidimento, dolore, formicolio, pesantezza, calore o freschezza. La risposta di “Deqi” può essere percepita anche dall'agopuntore come tensione o come una forte risposta e resistenza dell'ago. La sensazione “Deqi” è qualcosa che va oltre il dolore; si tratta di un'esperienza di agopuntura completa composta da percezioni di varie dimensioni. Questa sensazione è stata descritta come uno stimolo condotto da un ampio spettro di fibre nervose e si ritiene che l’effetto dell’agopuntura sia dovuto all’acquisizione di questa risposta. Questa idea è stata supportata dall’utilizzo dell’agopuntura per il trattamento del dolore il cui effetto analgesico si verificava solo quando il “Deqi” veniva percepito dai pazienti. Nonostante l’importanza attribuita a questa componente dell’agopuntura, il “Deqi” non è sempre sottolineato e preso in considerazione negli studi clinici, anche a causa della difficoltà nel caratterizzare questa risposta (Zhou & Benharash, 2014).

In virtù della sua natura soggettiva, il “Deqi”, considerato un requisito importante per raggiungere una risposta terapeutica, può variare da soggetto a soggetto in base alle condizioni di salute ma provoca sensazioni e risposte simili indipendentemente dagli attributi individuali e culturali (Grillo et al., 2018).

Alla luce di queste considerazioni e in accordo con la definizione di controllo placebo inerte, i dispositivi fittizi non penetranti, utilizzati come controllo negli RCT per valutare l'efficacia dell'agopuntura, non dovrebbero sortire una risposta "Deqi" nel paziente. In realtà l'evidenza mostra come una procedura non invasiva come l'agopuntura fittizia mediante il dispositivo Streitberger, può indurre una risposta "Deqi" in tutti i punti di agopuntura testati. Questo potrebbe dimostrare che la risposta "Deqi" non è esclusivamente fisiologica (derivante dalla penetrazione dell'ago) ma potrebbe derivare anche dalla visione dell'ago che innesca una precedente esperienza emotiva di dolore. Il dolore, infatti, non si configura solo come un'esperienza sensoriale ma presenta anche una forte componente emotiva. Questa ipotesi però può essere plausibile solo nel caso in cui il soggetto è in grado di vedere i punti di agopuntura; gli agopunti situati nella parte posteriore della testa, ad esempio, non essendo visibili, non dovrebbero portare ad un'associazione emotiva con precedenti esperienze di dolore.

Un altro lavoro che ha valutato in maniera accurata la sensazione "Deqi" ha riportato che un numero maggiore di soggetti ha percepito questa risposta nella condizione di agopuntura reale. Tuttavia, una parte di soggetti ha percepito comunque la risposta "Deqi" nella condizione di agopuntura fittizia non penetrante, dove il controllo placebo utilizzato nello studio era il dispositivo Park. Tuttavia, poiché il "Deqi" è considerato un fattore attivo per l'efficacia clinica, questo studio ha rivelato che il "Deqi" ha meno probabilità di essere evocato dall'agopuntura non penetrante. Inoltre, è stato anche dimostrato che, oltre al dispositivo Streitberger, anche il dispositivo Park può indurre una risposta di questo tipo. Un altro risultato importante che deriva da questa evidenza è che il tocco con ago non penetrante sugli agopunti è percepito come ancora più doloroso rispetto all'agopuntura reale. Nonostante questo, il "Deqi" non è considerato solo una sensazione di dolore, bensì una risposta più ampia che comprende una varietà di esperienze e percezioni di agopuntura. Di conseguenza la maggior percezione di dolore che deriva dall'agopuntura fittizia non penetrante può non essere associata ad un aumento della risposta "Deqi" (Liang et al., 2013).

Per arrivare ad una maggiore comprensione della risposta "Deqi" nella pratica di agopuntura, alcuni ricercatori hanno utilizzato altri mezzi di stimolazione in studi controllati di agopuntura per valutare la risposta "Deqi". Quando viene utilizzata la stimolazione tattile al posto dell'agopuntura, (simile alla condizione di un ago che stimola

la pelle senza penetrarla) gli individui riportano molte delle sensazioni associate al “Deqi”, anche se con modelli e frequenze diverse. Le sensazioni di formicolio e intorpidimento sono state riportate in entrambe le condizioni (agopuntura reale e stimolazione tattile), mentre dolore sordo e dolore sono stati osservati quasi esclusivamente nel gruppo di agopuntura. La presenza di determinate fibre nervose negli strati più profondi dei tessuti può spiegare tali differenze e può anche spiegare perché la risposta “Deqi” è stata riscontrata nel 98% degli individui sottoposti a trattamento con agopuntura reale e solo nel 27% degli individui che ha sperimentato la stimolazione tattile. Questi risultati suggeriscono che, nonostante siano coinvolte molte fibre nervose a tutti i livelli nel sortire una risposta “Deqi”, la rete neuronale intramuscolare probabilmente svolge un ruolo di maggiore importanza (Zhou & Benharash, 2014).

La sensazione di “Deqi” sarebbe associata infatti alla profondità di inserimento dell'ago che raggiunge strati muscolari più profondi. Tuttavia, l'ago per agopuntura raggiunge non solo gli strati profondi, ma stimola anche le fibre nervose superficiali, che susciterebbero la sensazione di “Deqi” a causa delle connessioni che esistono tra i tessuti superficiali e profondi. Oltre ad influire sul sistema nervoso, queste connessioni tra tessuti e fibre nervose stimolano una vasta gamma di sensazioni spiegando potenzialmente la risposta apparente dell'agopuntura fittizia. Inoltre, i punti di agopuntura sono siti anatomici che contengono molti componenti neurali e neuroattivi che possono rispondere alla stimolazione tattile e all'agopuntura non penetrante (Grillo et al., 2018).

Nonostante queste forti evidenze che cercano di spiegare la risposta “Deqi” anche nell'agopuntura fittizia, alcuni studi mostrano che coloro che hanno sperimentato una sensazione “Deqi” prima del trattamento, sono spesso consapevoli dell'assenza di “Deqi” quando ricevono un trattamento di agopuntura fittizia non penetrante. Ad esempio, pazienti con dolore cronico sottoposti sia al trattamento di agopuntura Verum sia al trattamento di agopuntura placebo, mostrano significative differenze nella risposta “Deqi”; i soggetti che hanno ricevuto per primo il trattamento placebo hanno inizialmente pensato di ricevere un trattamento Verum. Tuttavia, dopo il secondo trattamento reale con ago penetrante, quasi il 40% di quegli stessi soggetti è stato in grado di rilevare una differenza tra i due aghi. Sulla base di questa considerazione, per testare l'efficacia dell'agopuntura in RCT, viene suggerito ai ricercatori di escludere quei soggetti con precedenti esperienze di agopuntura (Zhu et al., 2013).

La rilevazione della risposta “Deqi” anche nei soggetti sottoposti ad agopuntura fittizia non penetrante riapre la discussione sull’appropriatezza dei controlli utilizzati negli studi che valutano l’efficacia dell’agopuntura. L’agopuntura fittizia non penetrante, infatti, è stata sviluppata per essere utilizzata come intervento di controllo inerte negli studi clinici di agopuntura. Tuttavia, esistono delle controversie sulla validità e affidabilità di questa tecnica (Birch et al., 2022b).

Nell’ipotesi in cui i controlli utilizzati siano completamente inerti, l’agopuntura fittizia non penetrante e i relativi dispositivi utilizzati (Streitberger, Park, Takakura), non dovrebbero esercitare effetti specifici dell’agopuntura diversi dagli effetti non specifici attesi di un placebo. Di conseguenza non dovrebbero neanche scatenare una risposta “Deqi” nel paziente o nell’agopuntore. L’evidenza empirica però, come descritto in precedenza, mostra il contrario, suggerendo che la pratica di agopuntura fittizia potrebbe avere degli effetti fisiologici e questo problema ha scatenato il dibattito sull’inadeguatezza dell’agopuntura fittizia non penetrante attualmente utilizzata come un adeguato intervento di controllo (Kim, Lee, Birch, & Alraek, 2022).

Se l’agopuntura non penetrante non presenta effetti fisiologici oltre al placebo, è plausibile aspettarsi che i cambiamenti fisiologici, i cambiamenti nella neurotrasmissione, i cambiamenti nell’attività cerebrale e nella secrezione endocrinologica causati da un trattamento di agopuntura Verum, non si manifestino. Un’importante revisione si è posta l’obiettivo di fare maggiore chiarezza sulla questione, esaminando una possibile differenza nell’espressione dei biomarcatori (indicatore biologico, ad esempio una sequenza di DNA o una proteina, correlato con una data malattia o con una risposta a un determinato trattamento) tra i trattamenti di agopuntura Verum e Sham inclusi negli studi clinici di agopuntura. Da 51 studi presi in esame, i ricercatori hanno riscontrato che la maggior parte dei 36 biomarcatori valutati non suggeriva una differenza tra l’agopuntura reale e quella fittizia non penetrante. La condizione di agopuntura fittizia, quindi, potrebbe avere effetti simili sui biomarcatori rispetto alle tecniche di agopuntura reale poiché una stimolazione più superficiale o tattile influenzerà gli stessi recettori indipendentemente dalle tecniche di stimolazione più o meno profonde (Kim et al., 2022).

Sembra che il sistema somatosensoriale venga attivato direttamente dai dispositivi placebo, che esercitano varie azioni fisiologiche nel corpo, simili a quelle esercitate dai

veri aghi per agopuntura. Entrambe le tipologie di aghi (veri e placebo) producono risposte di conduttanza cutanea migliorate e diminuiscono la frequenza cardiaca, suggerendo che gli aghi placebo non sono fisiologicamente inerti in termini di risposta autonoma (Chae et al., 2018).

Uno studio che ha utilizzato risonanza magnetica funzionale (fMRI) ha dimostrato che la stimolazione tattile, simile all'agopuntura non penetrante, induce l'attivazione nelle regioni di elaborazione sensomotoria e modula le aree cognitive superiori nel cervello (Napadow et al., 2009).

Inoltre, una metanalisi ha dimostrato che gli aghi placebo non penetranti producono modelli simili di attivazione cerebrale rispetto all'agopuntura reale (Chae et al., 2013).

Infine, è importante considerare che il trattamento con aghi non penetranti, così come gli altri trattamenti di agopuntura fittizi, coinvolgono un'altra componente fondamentale, ovvero il contatto tra medico e paziente. Questo aspetto comporta una stimolazione delicata della pelle, attivando le fibre tattili e inducendo sensazioni di calma e benessere. Prima di inserire l'ago, il professionista tocca il paziente per valutare il tessuto cutaneo e per identificare il punto specifico su cui verrà applicato l'ago. Questo processo attiva le fibre tattili e allevia la sgradevolezza, ristabilisce il senso di autostima e benessere del paziente, inducendo una risposta limbica al tatto (Chae et al., 2018).

Un lavoro di Kaptchuk et al. (2008) supporta il ruolo del tocco affettivo nei trattamenti con agopuntura e aghi placebo poiché il miglioramento della relazione paziente-medico ha prodotto maggiori benefici nei pazienti con sindrome dell'intestino irritabile. Nonostante l'ago placebo agisca come un controllo in quanto consente la non penetrazione cutanea, la componente tattile non può essere completamente rimossa perché fa parte del trattamento dell'agopuntura. Di conseguenza, il suo utilizzo negli studi di agopuntura può produrre effetti cruciali e non specifici come attivare il sistema somatosensoriale, rafforzare la relazione tra medico e paziente e migliorare le condizioni generali del paziente. Lo sviluppo di una tecnica per controllare le componenti tattili degli interventi di agopuntura rappresenta tutt'ora una sfida metodologica importante (Chae et al., 2018).

Queste considerazioni critiche potrebbero portare alla riconsiderazione degli studi clinici di agopuntura basati sul presupposto che l'agopuntura fittizia non penetrante sia un intervento inerte molto simile a un farmaco placebo (Kim et al., 2022). Il fatto di non

considerare e valutare in modo appropriato gli effetti fisiologici dell'agopuntura fittizia non penetrante ha portato molti ricercatori a concludere prematuramente che il trattamento di agopuntura era solo un placebo per molte malattie perché non era significativamente più efficace del presunto controllo utilizzato (trattamento fittizio) (MacPherson et al., 2014).

Gli studi presi in considerazione hanno dimostrato che 1. la sensazione di “Deqi” non può essere completamente spiegata quando si usano aghi placebo 2. L'agopuntura fittizia tramite dispositivi non penetranti può attivare il sistema somatosensoriale (anche se in misura minore) e influenzare diversi biomarcatori in maniera simile all'agopuntura reale (aghi penetranti), suggerendo un certo livello di efficacia clinica. 3. I dispositivi placebo, considerati come una forma di controllo per studi sperimentali di agopuntura, possono rappresentare una forma di trattamento di agopuntura a basso dosaggio o che fornisce una stimolazione debole.

Visto il ruolo parzialmente attivo dei dispositivi placebo utilizzati come controllo negli studi sull'agopuntura, è normale chiedersi perché questi dispositivi vengono ancora utilizzati nella ricerca come controlli placebo completamente inerti. Una parziale risposta deriva da una revisione molto recente di Birch et al. (2022), dove viene riportato che la ricerca per convalidare questi interventi e dispositivi fittizi come fisiologicamente inerti è ancora molto limitata. La convalida invece si è concentrata maggiormente sullo stabilire il “blinding” e la credibilità degli interventi. Questo però fornisce dati ancora insufficienti sui molteplici percorsi fisiologici che vengono attivati da una stimolazione con aghi non penetranti.

Secondo i ricercatori però, queste limitazioni non dovrebbero inibire ulteriori studi di agopuntura randomizzati e controllati. Queste argomentazioni implicano che gli aghi per agopuntura contengono un livello sostanziale di effetto placebo, che non viene completamente escluso controllando la penetrazione tramite i dispositivi Sham. È importante quindi considerare le caratteristiche uniche degli aghi placebo e valutare tutte le possibili condizioni di controllo prima di trarre conclusioni premature che l'agopuntura stessa sia solo un placebo (Chae et al., 2018).

Un'altra condizione di controllo placebo molto utilizzata negli RCT per valutare l'efficacia dell'agopuntura è l'inserimento di aghi per agopuntura Verum in siti vicini ma

non corrispondenti a nessun punto di agopuntura tradizionale. Come illustrato anche nel capitolo precedente, la terapia di agopuntura si basa sulla stimolazione di punti specifici del corpo (situati lungo i meridiani), attraverso cui è possibile modificare il flusso di forza vitale (Qi), con l'obiettivo di sortire un effetto terapeutico. La penetrazione di aghi in posizioni non corrispondenti a nessun punto di agopuntura specifico non dovrebbe sortire alcun effetto terapeutico e non dovrebbe quindi stimolare una risposta "Deqi". L'utilizzo di questa condizione di controllo ha come obiettivo quello di differenziare gli effetti fisiologici (specifici) dagli effetti psicologici (non specifici) dell'agopuntura. Essendo che in questa condizione la penetrazione avviene realmente è pressoché impossibile per il paziente discriminare l'agopuntura Verum dall'agopuntura fittizia usata come controllo. Data l'indistinguibilità dei due trattamenti di agopuntura, eventuali differenze nei risultati terapeutici tra le due forme di agopuntura dovranno essere attribuiti a specifici effetti del trattamento (Haake et al., 2007).

In linea teorica, questa condizione di controllo sembra essere molto efficace, poiché consente di risolvere le problematiche relative al "blinding" e al tocco superficiale non inerte dei dispositivi fittizi non penetranti. In realtà anche in merito a questa condizione di controllo vi sono dati piuttosto controversi.

Haake et al. (2007) hanno rilevato che nel trattamento della lombalgia, la condizione di agopuntura reale è risultata ugualmente efficace rispetto al trattamento di agopuntura fittizia penetrante nei non agopunti. Inoltre, l'efficacia dell'agopuntura, sia Verum che Sham, era quasi il doppio rispetto alla terapia convenzionale farmacologica. I risultati di una revisione molto ampia hanno inoltre suggerito che l'agopuntura Verum ha mostrato solo dei benefici limitati quando confrontata con agopuntura fittizia penetrante nei non agopunti. In particolare, dei 15 studi presi in esame che utilizzavano questa condizione di controllo, quattro non hanno mostrato un miglioramento maggiore e gli altri hanno mostrato un miglioramento appena significativo (Chen, Bassi, & Yang, 2019).

Questi risultati, in contrasto con la teoria alla base dell'agopuntura, possono essere spiegati ipotizzando l'esistenza di ulteriori punti o regioni di agopuntura ancora sconosciuti, che vengono involontariamente stimolati nella condizione Sham penetrante. Un'altra ipotesi può riguardare il fatto che non siano presenti dei veri e propri effetti specifici dell'agopuntura oppure che l'effetto specifico dell'agopuntura è molto piccolo ed

è sovrapposto da effetti non specifici. Infine, si può anche supporre che esistano degli effetti specifici dell'agopuntura, ancora sconosciuti, che portano al miglioramento dei sintomi indipendentemente dalla selezione dei punti e dalla profondità della penetrazione (Haake et al., 2007).

Studi sugli animali, ad esempio, hanno mostrato come la penetrazione di non agopunti abbia comunque indotto analgesia e sollievo dal dolore (Chen et al., 2019).

Infine, alcuni studi hanno utilizzato anche una terza condizione di controllo negli RCT per valutare l'efficacia dell'agopuntura. Questa condizione rappresenta una sorta di combinazione tra le procedure precedenti e consiste nell'utilizzo di dispositivi placebo non penetranti, situati nei non agopunti. In questo caso si cerca di controllare sia la penetrazione dell'ago sia la posizione specifica del punto di agopuntura. L'obiettivo anche in questo caso è sempre quello di separare gli effetti placebo generali dagli effetti specifici dell'agopuntura (Shen, Fellow, Younger, Goddard, & Mackey, 2009). Anche in questa condizione però rimangono le limitazioni già discusse in precedenza con le altre procedure.

Shen et al. (2009) hanno riportato come la terapia di agopuntura, confrontata con la condizione di controllo dispositivo fittizio nei non agopunti, è risultata significativamente più efficace nel ridurre i sintomi del dolore miofasciale.

Anche in questo caso però non tutti i risultati sono coerenti con la piena efficacia di questa condizione di controllo. Su 18 studi presi in esame, che confrontavano l'agopuntura reale con agopuntura fittizia tramite dispositivi placebo sia negli agopunti che nei non agopunti, solo 11 hanno mostrato un miglioramento significativo del dolore nella condizione di agopuntura Verum (Chen et al., 2019).

Da un punto di vista metodologico, quando l'affidabilità dei controlli viene messa in discussione o quando il mascheramento sia dei soggetti che degli sperimentatori diventa difficile, è possibile utilizzare delle strategie di controllo alternative. L'obiettivo rimane sempre quello di separare gli effetti terapeutici specifici del trattamento (in questo caso dell'agopuntura), da effetti non specifici (ad esempio contestuali), da pregiudizi e da remissione spontanea. Vengono quindi discusse alcune alternative di progettazione che presentano sia dei vantaggi che degli svantaggi.

Per separare la variazione spontanea dalle risposte placebo, può essere funzionale utilizzare un gruppo di controllo senza trattamento. Questa prima alternativa permette di determinare la quantità di effetti specifici che possono dipendere dalla variazione spontanea e dal recupero. Questo specifico gruppo di controllo può essere utile anche per controllare gli effetti di assuefazione e sensibilizzazione che possono verificarsi a seguito di stimolazione ripetitiva, ad esempio, negli studi di analgesia del dolore e del placebo (Chae et al., 2018).

I gruppi di controllo senza trattamento però sono limitati da regole etiche stabilite dalla Dichiarazione di Helsinki dell'Associazione Medica Mondiale, (2013), dove i pazienti con una condizione clinica grave non possono partecipare ad uno studio che li assegnerebbe potenzialmente ad un gruppo di controllo senza trattamento. Nel caso in cui non fosse possibile assegnare i pazienti ad un gruppo senza trattamento, per condizioni cliniche o per altri motivi, è possibile ricorrere a gruppi di controllo differenti, come ad esempio Controllo in lista d'attesa (WLC) e Trattamento come al solito (TAU).

Si tratta di strategie di controllo per test non farmacologici utilizzate quando non è disponibile un placebo inerte. Il primo è caratterizzato da un gruppo di partecipanti che ricevono lo stesso trattamento del gruppo sperimentale, ma in un secondo momento, al fine di tenere in considerazione la potenziale influenza del tempo trascorso sull'efficacia del trattamento. Il secondo invece è caratterizzato da un gruppo di partecipanti che ricevono un trattamento già utilizzato nella pratica clinica, al fine di confrontarlo con il trattamento sperimentale (Freedland, Mohr, Davidson, & Schwartz, 2011).

Le limitazioni di questi due gruppi di controllo possono essere assimilate a due problematiche significative: 1. Mentre i pazienti si aspettano di ricevere una terapia efficace, sono assegnati al trattamento di routine che la maggior parte di loro ha avuto in passato (TAU); 2. I pazienti devono aspettare il trattamento per cui sono stati reclutati (WLC), con una conseguente delusione e potenziale effetto nocebo (Chae et al., 2018).

Sulla base di queste considerazioni non si è ancora giunti alla definizione di un controllo placebo univoco che possa adattarsi in maniera ottimale ad ogni procedura di agopuntura utilizzata negli RCT per valutare l'efficacia di questa pratica. Nel complesso, ogni tentativo di controllare in maniera esaustiva l'effetto placebo presenta delle criticità e dei punti forza che si possono adattare o meno ad una determinata procedura o condizione clinica.

Non esiste quindi un controllo placebo migliore rispetto a tutti gli altri; domanda di ricerca, condizione clinica e scopo da raggiungere, sono tutti elementi fondamentali che concorrono alla scelta della procedura migliore per controllare il placebo. Ad esempio, se si ipotizza che un dato beneficio terapeutico sia dovuto alla penetrazione profonda degli aghi per agopuntura, un controllo appropriato potrebbe essere l'inserimento dell'ago nella stessa posizione ma con penetrazione superficiale o senza penetrazione. Se invece l'ipotesi è che la penetrazione profonda ha effetti diversi nei punti di agopuntura rispetto ai punti non di agopuntura, allora sono necessari quattro gruppi sperimentali (punti di agopuntura con penetrazione, punti di agopuntura senza penetrazione con aghi placebo, punti di non agopuntura con penetrazione e punti di non agopuntura senza penetrazione con aghi placebo) (Langevin et al., 2011).

La sfida metodologica, quindi, consiste nel fare le corrette valutazioni e utilizzare procedure diverse per cercare di separare il più possibile gli effetti fisiologici del trattamento di agopuntura (specifici) dagli effetti psicologici del trattamento (non specifici).

Il presente lavoro si configura come un'analisi dettagliata della pratica di agopuntura, degli effetti placebo che influenzano questa tecnica e della metodologia utilizzata per controllare e separare gli effetti placebo dagli effetti specifici del trattamento. Il passo successivo sarà quello di presentare un protocollo di studio sperimentale che utilizza la pratica di agopuntura per la riduzione dell'ansia, utilizzando tre diversi gruppi di controllo.

CAPITOLO 3: PROTOCOLLO SPERIMENTALE PER LA RIDUZIONE DELL'ANSIA

3.1 Sfondo teorico

La paura è uno stato di allarme neurofisiologico automatico caratterizzato da una risposta di attacco o fuga in relazione ad una valutazione del pericolo presente, reale o percepito. Si tratta, quindi, di una reazione adattiva che dovrebbe innescare un sistema di protezione sia dal punto di vista fisico che psichico. L'ansia è legata alla paura e riguarda una condizione di attivazione che il soggetto mette in atto di fronte a una prefigurazione di situazioni potenzialmente minacciose o pericolose. Si tratta di uno stato d'animo orientato al futuro che si manifesta attraverso un complesso sistema di risposte cognitive, affettive, fisiologiche e comportamentali, associate alla preparazione per gli eventi o le circostanze, previsti e percepiti come minacciosi. L'ansia è quindi una risposta naturale del corpo allo stress, ma diventa patologica quando vi è una sopravvalutazione della minaccia percepita o un'errata valutazione del pericolo di una situazione che porta a risposte eccessive e inadeguate (Chand & Marwaha, 2022). L'ansia eccessiva rappresenta una delle forme più comuni di disagio emotivo ed è accompagnata da una costante e intensa sensazione di paura. L'ansia è difficile da controllare e spesso può avere un impatto negativo sulla vita quotidiana dei pazienti (Zhu, Arsovska, & Kozovska, 2020).

L'ansia viene considerata una delle condizioni psichiatriche più diffusa nell'Unione Europea (UE) con oltre 60 milioni di persone affette da questa condizione. Quando non trattata, l'ansia implica costi personali e sociali significativi a causa di: frequenti richieste di assistenza primaria, diminuzione della produttività lavorativa, disoccupazione e relazioni sociali compromesse. Inoltre, l'ansia può rappresentare un importante fattore di rischio per lo sviluppo di altri disturbi legati all'ansia (Amorim et al., 2018).

I disturbi d'ansia costituiscono il gruppo più numeroso di disturbi mentali nella maggior parte delle società occidentali e sono una delle principali cause di disabilità. Di recente le evidenze hanno sottolineato che i disturbi d'ansia stanno diventando un problema globale

e che la loro prevalenza sta aumentando rapidamente anche nei paesi in via di sviluppo (Yang, Yang, Huang, Ren, & Li, 2021).

A livello sintomatologico, l'ansia si manifesta attraverso persistenti sentimenti di apprensione, disperazione, tensione e angoscia, con lo sviluppo di sintomi fisici come tachicardia, nervosismo e incapacità di rilassarsi. Questa condizione può diventare cronica, interferendo con la vita quotidiana e predisponendo l'individuo ad altre gravi condizioni di salute e stili di vita non salutari. La terminologia "Disturbi d'ansia" è un termine generale che comprende diverse condizioni come disturbo di panico, disturbo d'ansia sociale, disturbo d'ansia da separazione, fobia specifica, mutismo selettivo, ansia indotta dall'uso di sostanze, ansia associata a una condizione medica e disturbo d'ansia generalizzato (GAD) (Amorim et al., 2018).

Per quanto riguarda il trattamento, la terapia farmacologica e la psicoterapia sono considerati i trattamenti convenzionali per l'ansia. Sebbene gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) e la terapia cognitivo comportamentale (CBT) siano la scelta terapeutica primaria, i metodi clinici utilizzati nel trattamento del disturbo d'ansia sono ancora insufficienti e la percentuale di pazienti che ricevono una cura adeguata è ancora bassa (Yang et al., 2021).

La terapia farmacologica presenta, inoltre, numerose criticità in quanto l'assunzione di farmaci può portare all'assuefazione e presentare effetti collaterali. A causa della sua cronicità, degli alti tassi di recidiva e della necessità di un trattamento non invasivo a lungo termine, è necessario un trattamento efficace dei sintomi ansiosi, con minori effetti collaterali e con maggiore efficacia anche a lungo termine (Amorim et al., 2018). Questo ha portato ad una focalizzazione dell'attenzione nei confronti di interventi complementari ed alternativi come, ad esempio, l'agopuntura (approccio alternativo più utilizzato). I vantaggi di questo tipo di approccio sono l'assenza di effetti collaterali, la sicurezza della terapia, il costo relativamente basso e la sostenibilità a lungo termine (Li et al., 2019).

Sono numerose le evidenze che indicano che la pratica di agopuntura sortisce un effetto positivo nella riduzione dell'ansia di stato (ansia in risposta a una situazione specifica percepita come minacciosa o pericolosa) associata, ad esempio, a operazioni, esami e cure dentistiche. Quarantaquattro studenti di medicina, sottoposti ad agopuntura, nei punti IC1, TF1, SC, AT1 e TG, il giorno prima di ogni esame per un mese, hanno riportato una

diminuzione significativa dell'ansia da esame, superiore rispetto ai controlli (dispositivo placebo e nessun trattamento)(Klausenitz et al., 2016).

Errington-Evans (2015) ha dimostrato che 10 sessioni di agopuntura, utilizzando i punti PC6, HT7 e LR3 bilateralmente, hanno prodotto una riduzione significativa dei punteggi di ansia di stato e di tratto rispetto al controllo in lista d'attesa. Questi risultati sono particolarmente interessanti in quanto i soggetti trattati soffrivano di ansia cronica, ripetutamente trattata senza benefici sufficienti, con terapia cognitivo comportamentale e con terapia farmacologica.

Infine, l'agopuntura auricolare è stata utilizzata nel trattamento dell'ansia acuta in un gruppo di individui che si dovevano sottoporre ad un intervento dentale. I gruppi utilizzati come controllo comprendevano: agopuntura placebo (ago placebo situato in non agopunti), terapia farmacologica e nessun trattamento. I risultati hanno mostrato che, nel trattamento dell'ansia dentale, non vi era differenza tra il gruppo di agopuntura auricolare e il gruppo che utilizzava la terapia farmacologica; entrambi i gruppi però mostravano degli effetti superiori nella riduzione dell'ansia rispetto a nessun trattamento e ad agopuntura placebo (Karst et al., 2007).

Esistono anche diverse revisioni e metanalisi che supportano l'efficacia dell'agopuntura nel trattamento dell'ansia di stato.

Bae, Bae, Min, & Cho (2014) hanno condotto una metanalisi con l'obiettivo di valutare l'efficacia della terapia di agopuntura nel ridurre l'ansia che l'individuo manifesta prima di sottoporsi ad un intervento chirurgico (ansia preoperatoria). Dei 14 RCT presi in esame, sei hanno mostrato che il trattamento di agopuntura ha portato a maggiori riduzioni dell'ansia preoperatoria rispetto all'agopuntura fittizia. I restanti otto hanno anche evidenziato delle differenze statisticamente significative nel miglioramento dell'ansia preoperatoria tra agopuntura e agopuntura fittizia. I gruppi di controllo nei vari studi includevano: agopuntura fittizia superficiale o con dispositivi placebo negli agopunti; agopuntura fittizia superficiale o con dispositivi placebo nei siti non corrispondenti a punti di agopuntura; agopuntura tradizionale in siti non corrispondenti a punti di agopuntura; gruppi senza trattamento o in lista d'attesa. Gli autori, in funzione dei risultati, hanno concluso che la pratica di agopuntura può rappresentare un trattamento efficace nella riduzione dell'ansia preoperatoria (Bae et al., 2014).

Altre evidenze hanno anche dimostrato l'efficacia ansiolitica dell'agopuntura in pazienti che presentavano disturbi d'ansia conclamati. Amorim et al. (2018) hanno svolto una revisione sistematica analizzando 13 studi con lo scopo di valutare l'efficacia dell'agopuntura per il trattamento di pazienti con disturbo d'ansia. I risultati hanno evidenziato delle buone prove scientifiche che incoraggiano la terapia dell'agopuntura per il trattamento dei disturbi d'ansia poiché produce risultati efficaci e con meno effetti collaterali rispetto ai trattamenti convenzionali. È stato anche rilevato che i controlli utilizzati che comprendevano agopuntura fittizia, portavano comunque ad una riduzione dell'ansia (rispetto a nessun trattamento), tuttavia, questa diminuzione era generalmente di grado inferiore rispetto a quella che si verificava nell'agopuntura reale. Gli autori infine suggeriscono dei siti specifici di agopuntura che i ricercatori dovrebbero sempre includere in un progetto che mira a valutare l'efficacia dell'agopuntura nella riduzione dell'ansia. Questi punti sono PC6, EX-HN3 e HT7. In questo lavoro però non è stato possibile eseguire una metanalisi a causa dell'eterogeneità dei metodi e della scarsa progettazione sperimentale negli studi inclusi (Amorim et al., 2018).

Per approfondire questo aspetto è stata condotta una panoramica delle revisioni sistematiche al fine di valutare la qualità metodologica e riassumere gli esiti delle revisioni sistematiche e metanalisi che valutano l'effetto ansiolitico dell'agopuntura. Sono state incluse 10 recensioni e, a livello generale, è stato riscontrato che la maggior parte di queste suggeriva che l'agopuntura era più efficace di altre terapie (terapia farmacologica, agopuntura fittizia, nessun trattamento) nel trattamento dell'ansia. Tuttavia, la qualità metodologica complessiva delle revisioni incluse era criticamente bassa così come la qualità delle evidenze per i risultati riportati. Inoltre, la maggior parte degli studi non aveva lo scopo di trarre delle conclusioni definitive a causa delle ridotte dimensioni del campione o a causa della scarsa qualità metodologica. Gli autori auspicano quindi futuri studi randomizzati e controllati di qualità maggiore, per determinare se l'agopuntura è effettivamente più efficace di altri trattamenti nella riduzione dell'ansia (Li et al., 2019).

Per colmare queste lacune metodologiche e per comprendere appieno l'efficacia ansiolitica dell'agopuntura, abbiamo messo a punto un protocollo di studio, pianificando in maniera dettagliata i diversi gruppi di controllo da utilizzare e prevedendo una numerosità campionaria più elevata rispetto ai tradizionali RCT di agopuntura.

3.2 Metodo

3.2.1 Panoramica del Progetto e obiettivi

Questo protocollo di studio sarà uno studio controllato e randomizzato in doppio cieco ed è stato progettato con l'obiettivo di determinare l'efficacia del trattamento di agopuntura nella riduzione dell'ansia in soggetti sani, separando il più possibile gli effetti non specifici del trattamento dagli effetti specifici dell'agopuntura.

Per raggiungere tale scopo abbiamo messo a punto un protocollo rigoroso, con un'elevata qualità metodologica, che include quattro diversi gruppi dove i partecipanti verranno assegnati in modo casuale.

Il primo rappresenta il gruppo di agopuntura reale (gruppo sperimentale), mentre gli altri tre rappresentano i gruppi di agopuntura placebo (agopuntura fittizia non penetrante, agopuntura Verum penetrante in non agopunti e agopuntura fittizia non penetrante in non agopunti).

Le misurazioni dell'ansia verranno effettuate attraverso il compito Go/no-go, attraverso il questionario STAI e attraverso la rilevazione di pressione arteriosa, frequenza cardiaca e frequenza respiratoria.

Le principali ipotesi di ricerca di questo protocollo di studio sono le seguenti:

1. Il trattamento di agopuntura Verum risulterà efficace nella riduzione del livello d'ansia in soggetti sani, portando ad aumento del numero di errori di commissione e ad una diminuzione del numero di errori di omissione, nel compito Go/no-go. Questa ipotesi è supportata dalle numerose evidenze (vedi "Sfondo teorico") che indicano che il trattamento di agopuntura è una terapia alternativa e complementare efficace nel trattamento dell'ansia di stato e dell'ansia di tratto.
2. I trattamenti di agopuntura fittizia (gruppi di controllo) risulteranno comunque efficaci nella riduzione dell'ansia di stato in soggetti sani, ma in misura significativamente minore rispetto al trattamento di agopuntura Verum. Come descritto in precedenza (Capitolo 1-2), infatti, molti RCT di agopuntura hanno mostrato che i trattamenti di agopuntura fittizi sortiscono nel paziente un effetto terapeutico per molte condizioni cliniche ma con effetti minori e più moderati rispetto al trattamento Verum.

3. Il dispositivo placebo Streitberger, ampiamente utilizzato e validato negli RCT in singolo cieco, sarà in grado di supportare anche il mascheramento del praticante, consentendo l'attuazione di uno studio di agopuntura in doppio cieco. Questo dispositivo, infatti, è in grado di assicurare il "blinding" nei confronti del partecipante in quanto fornisce una sensazione di penetrazione molto simile a quella di un ago reale. Possiamo però ipotizzare che questo dispositivo permetta il mascheramento anche del praticante in quanto l'ago placebo è indistinguibile dall'ago reale e il dispositivo di plastica (anello e foglio che lo ricopre) che viene applicato per consentire all'ago di rimanere in posizione anche in assenza di penetrazione, fornisce al praticante una sensazione di resistenza molto simile a quella della pelle durante la penetrazione. Inoltre, in questo protocollo di studio il praticante non è un esperto agopuntore e non è a conoscenza della differenza tra i punti veri e fittizi.

3.2.2 Partecipanti e reclutamento

I partecipanti verranno reclutati all'interno delle strutture dell'università di Padova e dovranno soddisfare alcuni criteri necessari per l'inclusione ovvero: 1. I partecipanti non devono essere stati precedentemente sottoposti ad esperienze di agopuntura; 2. I partecipanti devono essere soggetti sani senza patologie esistenti. 3. I partecipanti devono avere un'età superiore a 18 anni.

Tutti i partecipanti forniranno poi il consenso informato scritto, necessario per la partecipazione allo studio.

3.2.3 Randomizzazione e "blinding"

Prima dell'inizio del trattamento di agopuntura, i partecipanti reclutati per lo studio saranno assegnati in modo casuale ai rispettivi gruppi (sperimentale o di controllo). La sequenza di allocazione casuale dei partecipanti sarà implementata utilizzando dei servizi web che generano sequenze casuali (www.random.org). Si tratta di un programma che consente di generare sequenze casuali con randomizzazioni diverse. Per garantire che

l'assegnazione sia nascosta sia al valutatore che al praticante che effettuerà l'agopuntura, la sequenza di allocazione verrà generata da uno dei ricercatori non coinvolti nel reclutamento, nella valutazione dei pazienti e nel trattamento di agopuntura.

In questo protocollo di studio, i valutatori, i praticanti e i partecipanti saranno mascherati (studio in doppio cieco) rispetto all'assegnazione del trattamento, per ridurre il rischio di pregiudizi dal gruppo di trattamento di agopuntura assegnato (Verum o fittizia).

Il "blinding" dei partecipanti sarà reso possibile grazie all'utilizzo del dispositivo Streitberger in quanto è stato ampiamente validato come dispositivo che supporta il "blinding" in studi in singolo cieco. Questo dispositivo si compone di un ago retrattile e di un anello coperto da un foglio di plastica per consentire all'ago di rimanere aderente alla pelle anche in assenza di un'effettiva penetrazione. L'ago retrattile fornisce al paziente la sensazione di penetrazione rendendolo indistinguibile da un ago reale penetrante. Per garantire il mascheramento è quindi necessario che il supporto di plastica venga utilizzato anche negli altri gruppi di trattamento, compreso il gruppo di agopuntura Verum.

Il "blinding" dei valutatori sarà reso possibile in quanto l'assegnazione dei partecipanti ai vari gruppi di trattamento è stata precedentemente nascosta; inoltre, il trattamento di agopuntura (Verum o fittizia) verrà eseguito dal praticante in un'altra stanza separata per limitare l'osservazione della procedura.

Per quanto riguarda il "blinding" del praticante, non abbiamo motivo di pensare che con il dispositivo Streitberger, nonostante non sia stato validato per gli studi in doppio cieco, lo sperimentatore possa accorgersi della differenza tra ago reale e ago placebo. Questo è supportato dal fatto che nel presente protocollo di studio, il praticante che eseguirà il trattamento sarà un medico non specializzato in agopuntura che verrà istruito da un professionista sui punti specifici da stimolare (sia nella condizione Verum che nelle condizioni di controllo). Il praticante, quindi, sarà completamente allo scuro rispetto a quali siano i punti di stimolazione veri e fittizi, così come sarà allo scuro rispetto a quale sarà l'ago vero e l'ago placebo. Il supporto di plastica (necessario per il dispositivo Streitberger) che verrà utilizzato in tutte e quattro le condizioni fungerà da ausilio al mascheramento del praticante; inoltre, il dispositivo Streitberger, consente una discreta manipolazione dell'ago da parte del praticante rendendolo pressoché indistinguibile da

un ago reale. Infine, gli aghi reali e gli aghi fittizi sono di uguali dimensioni e colore e verranno forniti al praticante (nella medesima confezione) solo nel momento del trattamento di agopuntura.

Per valutare l'efficacia del “blinding”, alla fine della sperimentazione, verrà chiesto a ciascun partecipante di indovinare a quale condizione è stato sottoposto (ago penetrante, ago non penetrante). La stessa procedura verrà effettuata anche con il praticante per esaminare la validità dello studio in doppio cieco.

3.2.4 Strumentazione

Compito Go/no-go:

Il compito Go/no-go è un compito in cui i partecipanti devono rispondere rapidamente agli stimoli “Go” (tutte le lettere maiuscole dell’alfabeto ad eccezione della “X”) frequentemente presentati e trattenere le loro risposte agli stimoli “No-go” (le lettere maiuscole “X”) presentati raramente (Watson & Garvey, 2013).

Questo compito verrà somministrato ai soggetti tramite un computer portatile in tutte e quattro le condizioni, pre e post trattamento di agopuntura. Ai partecipanti verranno presentate le istruzioni per l’attività e verrà resa disponibile una sessione di prova per prendere dimestichezza con il compito.

Il compito Go/no-go è stato sviluppato attraverso PsychoPy, un pacchetto multiplatforma gratuito che consente di eseguire una vasta gamma di esperimenti nelle scienze comportamentali.

La maggior frequenza delle prove “Go” rispetto alle prove “No-go” crea una tendenza a rispondere su ogni prova (risposta prepotente) che deve quindi essere inibita al fine di sopprimere l’azione. In questo compito, la variabilità dei tempi di risposta e gli errori di commissione e omissione (risposte allo stimolo “No-go” e non risposte allo stimolo “Go”) sono una misura sia dell’attenzione sostenuta che del controllo inibitorio. I risultati estrapolabili sono quindi i tempi di risposta, le omissioni nelle prove “Go” e gli errori di commissione nelle prove “No-go” (Cragg & Nation, 2008; Lewis, Reeve, Kelly, & Johnson, 2017).

Il controllo inibitorio è una delle principali funzioni esecutive che riguarda la capacità di controllare la propria attenzione, il proprio comportamento, e i propri pensieri e/o emozioni, al fine di ignorare un forte stimolo interno o esterno, producendo una risposta più appropriata o necessaria. Si tratta di una funzione regolatoria che utilizza il controllo attenzionale per frenare l'allocazione di risorse attentive nei confronti di stimoli salienti irrilevanti o risposte prepotenti. In altre parole, Il controllo inibitorio dell'attenzione ci consente di rispondere selettivamente, concentrandoci su ciò che scegliamo e sopprimendo l'attenzione ad altri stimoli (Diamond, 2013).

La scelta di utilizzare questo compito deriva dall'evidenza che l'ansia di stato accentuata facilita l'inibizione della risposta durante il compito Go/no-go, cioè riduce gli errori di commissione (risposte allo stimolo "No-go") senza influenzare il tempo di risposta agli stimoli "Go" (Robinson, Krimsky, & Grillon, 2013). È stato anche riscontrato che i livelli di ansia influenzano un'altra variabile di risposta, ovvero gli errori di omissione nelle prove "Go". Grillon et al. (2017) hanno trovato una correlazione positiva tra ansia di stato ed errori di omissione; gli individui con ansia di stato maggiore hanno mostrato una migliore precisione nelle risposte "No-go" ma anche una precisione di risposte "Go" compromessa, suggerendo un'associazione tra ansia di stato e inibizione motoria complessiva.

I lavori sui roditori supportati da Gray hanno suggerito che l'ansia attiva il sistema di inibizione comportamentale, innescando una serie di risposte difensive, tra cui l'inibizione delle risposte prepotenti (cioè l'inibizione della risposta) (Grillon et al., 2017). Sembra che l'ansia di stato tenda a diminuire la tendenza a rispondere agli stimoli "No-go" allineando il comportamento con il compito di fermare la risposta motoria. Inoltre, sembra che l'ansia migliori la sensibilità di rilevamento del segnale, probabilmente portando a una migliore discriminazione dello stimolo. Questo effetto è coerente con i risultati che evidenziano che l'ansia di stato facilita l'elaborazione percettiva e sensoriale precoce. Questi effetti sensoriali potrebbero facilitare il rilevamento degli stimoli, contribuendo anche a migliorare la precisione nelle risposte "No-go".

Nel loro studio, Grillon et al. (2017) hanno sottoposto pazienti sani, e pazienti con ansia clinica al compito Go/no-go. I risultati hanno indicato che nei pazienti sani, il compito Go/no-go ha comportato una bassa tendenza all'inibizione della risposta che ha portato ad un aumento della probabilità di errori di commissione "No-go". Nei pazienti ansiosi

invece gli errori di commissione sono diminuiti, indicando un aumento dell'inibizione della risposta, implicando però anche un aumento degli errori di omissione nelle prove "Go".

Per quanto riguarda l'attenzione sostenuta, questa viene definita come una componente fondamentale dell'attenzione, caratterizzata dalla prontezza del soggetto a rilevare segnali che si verificano raramente e imprevedibilmente per periodi di tempo prolungati. Si tratta di una funzione attentiva di base che determina l'efficacia degli aspetti superiori dell'attenzione (attenzione selettiva, attenzione divisa) e della capacità cognitiva in generale (Sarter, Givens, & Bruno, 2001).

Robinson et al. (2013) hanno esaminato l'effetto dell'ansia di stato sull'attenzione sostenuta e sul controllo inibitorio attraverso un compito Go/no-go. Nonostante si ritenga che gli effetti dell'ansia producano una maggiore eccitazione, che può aiutare a mantenere un'elevata attenzione sostenuta, gli autori non hanno rilevato variabilità nella velocità dei tempi di risposta alle prove "Go" (Robinson et al., 2013).

Lo stato di ansia, quindi, sembra migliorare l'aspetto inibitorio senza influenzare la velocità dei tempi di risposta, non fornendo alcuna indicazione di un compromesso che implica un aumento dell'accuratezza a discapito della velocità. In altre parole, l'ansia sembra migliorare l'accuratezza senza alcun costo per la velocità, senza evidenziare alcuna prova di un compromesso velocità/accuratezza.

Queste evidenze mostrano che l'ansia di stato è responsabile di una tendenza all'inibizione della risposta, con effetti benefici e dannosi a seconda della natura della risposta (risposte "No-go" migliorate, risposte "Go" compromesse con errori di omissione).

Alla luce di queste considerazioni teoriche, nel presente studio, soggetti più ansiosi tenderanno a presentare una maggiore accuratezza nelle risposte agli stimoli "No-go", senza intaccare la velocità dei tempi di risposta alle prove "Go". Inoltre, i soggetti ansiosi tenderanno a commettere maggiori errori di omissione nelle prove "Go", indicando uno stato di inibizione motoria complessiva.

State-Trait Anxiety Inventory (STAI):

La State-Trait Anxiety Inventory (STAI) è una misura che viene comunemente utilizzata, sia in ambito clinico, sia ambito di ricerca, per valutare l'ansia di stato e l'ansia di tratto negli individui (Spielberger, Gorsuch, Lushene, Vagg & Jacobs, 1983).

L'ansia di stato viene definita come una condizione di ansia che si manifesta in risposta ad una situazione specifica, percepita come minacciosa o pericolosa. L'ansia di stato può variare di intensità e modificarsi nel tempo.

L'ansia di tratto, invece, viene definita come una propensione a provare ansia, a vedere il mondo come più pericoloso o minaccioso e a rispondere con ansia di stato a situazioni che non susciterebbero tale risposta in individui con bassa ansia di tratto (Spielberger, et. al, 1983).

La versione iniziale della scala (modulo X), è stata revisionata con l'obiettivo di sviluppare una misura più affidabile dell'ansia di stato e di tratto. Il risultato di questa revisione è rappresentato dal modulo Y. La STAI Y è una scala di autovalutazione composta da 20 item che valutano l'ansia di stato (STAI Y-1) e 20 item che valutano l'ansia di tratto (STAI Y-2). Gli elementi relativi all'ansia di stato includono: “Sono teso; Sono preoccupato” e “Mi sento tranquillo; Mi sento al sicuro”. Gli elementi relativi all'ansia di tratto includono: “Mi preoccupo troppo per qualcosa che in realtà non ha importanza” e “Sono contento; Sono una persona stabile”. Tutti gli item sono valutati su una scala likert a 4 punti (ad esempio, da “Quasi mai” a “Quasi sempre”). Nel modulo STAI Y-1 (ansia di stato) si chiede ai pazienti di rispondere in base a come si sentono “in questo momento”. Nel modulo STAI Y-2 (ansia di tratto) si chiede ai pazienti di rispondere in base a come si sentono “generalmente”. Punteggi più alti indicano una maggiore ansia. Il punteggio totale varia da 20 a 80 per entrambe le scale, classificando i livelli di ansia come bassi (20–39), moderati (40–59) o alti (≥ 60). I coefficienti di consistenza interna per la scala variavano da .86 a .95 mentre i coefficienti di affidabilità test-retest variavano da .65 a .75 su un intervallo di 2 mesi. (Spielberger, 1989).

Stato fisiologico:

I valori della pressione arteriosa, della frequenza cardiaca e della frequenza respiratoria verranno valutati molteplici volte durante tutta la durata dell'esperimento.

La valutazione della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca verrà effettuata dallo sperimentatore attraverso sfigmomanometro digitale. Il valore della pressione è dato da due valori: il primo rappresenta la pressione sistolica e il secondo la pressione diastolica. Si considera una condizione ideale quando la pressione sistolica non supera i 120mmHg e la pressione diastolica non supera gli 80mmHg. Verranno esclusi i partecipanti che presenteranno una pressione sistolica al di sopra dei 160mmHg e una pressione diastolica al di sotto dei 60mmHg.

Il valore della frequenza cardiaca invece è dato dal numero di battiti del cuore in un minuto. Si considera una condizione ideale quando i battiti al minuto sono compresi tra 60 e 100, in condizioni di riposo.

La frequenza respiratoria viene misurata dallo sperimentatore attraverso una procedura manuale (poggiare la mano sul torace), contando quanti atti respiratori compie il soggetto. Il valore della frequenza respiratoria è dato dal numero di atti respiratori in un minuto. La frequenza respiratoria media si registra intorno ad un range di 16-20 atti.

3.2.5 Intervento e procedura

Tutte le procedure dello studio verranno eseguite presso i laboratori del Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione dell'Università degli Studi di Padova. Dopo aver ottenuto il consenso informato, ai partecipanti verrà somministrato il questionario State-Trait Anxiety Inventory (STAI) per rilevare il livello di ansia di stato e di tratto. A questo punto verranno rilevati i parametri fisiologici (pressione arteriosa, frequenza cardiaca e frequenza respiratoria). Il partecipante poi completerà la prima sessione del compito Go/no-go a cui seguirà nuovamente la rilevazione dei parametri fisiologici. Il soggetto verrà poi sottoposto al trattamento di agopuntura in una stanza separata a cui seguirà nuovamente la rilevazione dei parametri fisiologici. Gli aghi verranno lasciati in posizione per 15 minuti dopo l'inserimento. Dopo il trattamento, il soggetto completerà la seconda sessione del compito Go/no-go a cui seguirà l'ultima rilevazione dei parametri fisiologici. Infine, verrà chiesto al partecipante di indovinare la condizione a cui è stato sottoposto, ovvero se ha percepito o meno la penetrazione dell'ago (ago penetrante/ago non penetrante).

Secondo la sequenza di allocazione, i soggetti saranno assegnati in modo casuale ad uno dei quattro gruppi di trattamento di agopuntura (Verum o fittizia). Tutti gli interventi comprenderanno una singola sessione di agopuntura della durata di 15 minuti. Il professionista che eseguirà il trattamento e i partecipanti verranno mascherati rispetto alle varie condizioni sperimentali e di controllo.

I quattro gruppi di agopuntura sono così composti:

- 1. Gruppo di agopuntura reale (RA):** I soggetti riceveranno il trattamento di agopuntura nei punti indicati per favorire il rilassamento e ridurre l'ansia. La selezione dei punti di agopuntura è stata effettuata in conformità con la ricerca passata sull'agopuntura per favorire il rilassamento e ridurre l'ansia. I punti standardizzati che verranno utilizzati in questo gruppo di trattamento sono la coppia di punti "A". La procedura in questo gruppo comprende anche l'utilizzo di un anello e di un foglio di plastica che aderisce alla pelle nei punti di penetrazione per rendere indistinguibili le procedure placebo da quelle reali.
- 2. Gruppo di agopuntura fittizia non penetrante negli agopunti (PA1):** I soggetti in questo gruppo riceveranno una sessione di agopuntura fittizia nei medesimi punti del gruppo RA ma con l'utilizzo del dispositivo Streitberger. Questo dispositivo utilizza un ago a punta smussata che si ritrae nel manico quando tocca la pelle, senza penetrarla. Anche in questo caso viene utilizzato un anello di plastica coperto da un foglio di plastica per consentire all'ago di rimanere in posizione anche in assenza di penetrazione.
- 3. Gruppo di agopuntura fittizia non penetrante nei non agopunti (PA2):** I soggetti in questo gruppo riceveranno una sessione di agopuntura fittizia, mediante il dispositivo Streitberger, ma nella coppia di non agopunti "B", ovvero in posizioni che si discostano da tutti i punti o meridiani di agopuntura noti. Anche in questo caso verrà utilizzato un anello e un foglio di plastica aderente alla pelle, in prossimità dei punti stimolati.
- 4. Gruppo di agopuntura fittizia penetrante nei non agopunti (PA3):** I soggetti in questo gruppo riceveranno una sessione di agopuntura fittizia, dove gli aghi utilizzati saranno gli stessi del gruppo RA (aghi per agopuntura reale) ma in questo caso la penetrazione verrà eseguita nella coppia di non agopunti "B", ovvero nelle posizioni che si discostano da tutti i punti o meridiani di agopuntura noti. Anche

in questo caso verrà utilizzato un anello e un foglio di plastica aderente alla pelle, in prossimità dei punti stimolati.

Durante la sessione di trattamento, la comunicazione tra paziente e professionista sarà limitata esclusivamente alle spiegazioni necessarie al protocollo, al fine di evitare di smascherare il paziente e interrompere il “blinding” con osservazioni suggestive.

3.2.6 Misure di risultato

Il risultato primario sarà dato dalla variazione dei tempi di risposta e dalla variazione del numero di errori di commissione e omissione nel compito go/no-go, somministrato pre e post trattamento di agopuntura. Questi risultati saranno poi analizzati in relazione al punteggio del soggetto al questionario STAI che valuta il livello di ansia al basale.

Gli esiti secondari sono rappresentati da:

1. I punteggi al questionario State-Trait Anxiety Inventory (STAI) che valuta il livello di ansia, somministrato al soggetto all'inizio della procedura sperimentale.
2. La variazione dei valori di pressione arteriosa e frequenza cardiaca, misurati dallo sperimentatore attraverso sfigmomanometro digitale, pre Go/no-go (1), pre trattamento di agopuntura, post trattamento di agopuntura e post Go/no-go (2).
3. Il valore della frequenza respiratoria, misurata dallo sperimentatore attraverso una procedura manuale (poggiare la mano sul torace), pre Go/no-go (1), pre trattamento di agopuntura, post trattamento di agopuntura e post Go/no-go (2).

CAPITOLO 4: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'agopuntura è una pratica della Medicina Tradizionale Cinese (MTC) che si basa sulla stimolazione di punti specifici del corpo, attraverso l'inserimento di aghi sottili, al fine di sortire un effetto benefico nell'individuo. Ad oggi, questa pratica viene ampiamente utilizzata in tutto il mondo con riscontri molto positivi in termini di miglioramento e applicabilità clinica. Nonostante il largo utilizzo di questa terapia, l'efficacia universale dell'agopuntura rimane ancora non completamente riconosciuta a causa di RCT con metodologie in parte inadeguate che non consentono di trarre conclusioni definitive sull'efficacia dell'agopuntura e a causa di una comprensione ancora insufficiente dei meccanismi neurobiologici alla base dell'agopuntura.

Vi sono numerose evidenze che supportano il ruolo terapeutico dell'agopuntura nel trattamento di diverse condizioni cliniche. Il dolore è la problematica più comune che ha trovato un riscontro positivo nella pratica di agopuntura. Lombalgia, artrosi al ginocchio e cefalea sono solo alcune delle condizioni di dolore in cui l'agopuntura si è dimostrata una terapia efficace. Oltre alla gestione del dolore, l'agopuntura ha mostrato dei benefici in molti altri disturbi e patologie, fornendo delle prove di efficacia nel trattamento di disturbi gastrointestinali, ictus e problematiche associate, disturbi da abuso di sostanze, incontinenza urinaria, broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), disturbi del sonno, morbo di Alzheimer, sindrome di Sjogren e angina cronica stabile.

Nonostante questi risultati promettenti, parte della letteratura riguardante l'efficacia clinica dell'agopuntura non è riuscita a mostrare differenze significative tra il trattamento di agopuntura reale e il controllo con placebo, che per definizione dovrebbe essere inerte. Nella terapia di agopuntura, l'inserimento dell'ago in una determinata posizione del corpo rappresenta l'effetto specifico del trattamento, mentre gli effetti non specifici possono essere determinati da vari fattori psicologici, sociali e ambientali. Tra questi fattori troviamo la percezione dell'agopuntore da parte del paziente, la conoscenza della tecnica, gli atteggiamenti e i comportamenti del paziente, la relazione paziente-agopuntore e l'ambiente di prova, che agiscono nel determinare un aumento degli effetti non specifici dell'agopuntura. Nei vari studi condotti fino ad oggi, i ricercatori hanno utilizzato diverse procedure per controllare l'effetto placebo, tra cui dispositivi di agopuntura fittizi non

penetranti e aghi reali ma posizionati in siti non corrispondenti a nessun punto di agopuntura.

Malgrado i vari tentativi di controllare in modo efficace l'effetto placebo, non si è ancora giunti alla definizione di una condizione di controllo univoca che permetta di separare definitivamente gli effetti non specifici del trattamento di agopuntura dagli effetti specifici. Ogni tentativo di controllare in maniera esaustiva l'effetto placebo presenta delle criticità e dei punti forza che si possono adattare o meno ad una determinata procedura o condizione clinica.

In virtù di queste considerazioni, abbiamo sviluppato un protocollo di studio rigoroso, controllato da tre differenti gruppi placebo, con l'obiettivo di determinare l'efficacia dell'agopuntura nella riduzione dell'ansia in soggetti sani. Abbiamo deciso di implementare questo protocollo con tre gruppi di controllo in quanto ogni procedura, presa singolarmente, presentava delle limitazioni.

Dopo aver revisionato le principali evidenze in letteratura riguardanti la validità e l'efficacia dei dispositivi placebo (Zhang et al., 2015; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2013), abbiamo scelto di utilizzare il dispositivo Streitberger nei due gruppi di controllo senza penetrazione. I dispositivi più studiati in letteratura sono il dispositivo Streitberger, il dispositivo Park e il dispositivo Takakura. Il dispositivo Streitberger però, oltre ad essere il più utilizzato e validato, è anche l'unico che consente una buona manipolazione dell'ago, simile a quella che viene eseguita nella pratica di agopuntura reale al di fuori del contesto sperimentale. Inoltre, questo dispositivo si compone solo di un ago che si ritrae all'interno di un manico, senza componenti più ingombranti che ruotano attorno all'ago come nel dispositivo Park e Takakura. Uno dei principali aspetti critici del dispositivo Streitberger è che non è adatto per tutti i tipi di agopunto come le dita delle mani, le dita dei piedi e il cuoio capelluto. Nel nostro studio però non era necessario stimolare questi punti in quanto l'area del corpo interessata era il braccio.

Un aspetto interessante del dispositivo Takakura riguarda la possibilità di supportare uno studio in doppio cieco. Grazie alle sue componenti, infatti, il dispositivo fornisce al praticante una sensazione di penetrazione simile a quella di un ago Verum. Nonostante questa caratteristica, la nostra scelta non è ricaduta su Takakura in quanto è il dispositivo più costoso rispetto ai precedenti, non consente una manipolazione completa (come il

dispositivo Streitberger) ed essendo il più recente, necessità ancora di ulteriori studi di convalida.

L'utilizzo di un dispositivo placebo nel primo gruppo di controllo (ago placebo situato negli agopunti) dovrebbe consentire di controllare la penetrazione ma non la posizione, escludendo una parte dell'effetto specifico del trattamento di agopuntura. In questo modo i risultati dovrebbero rispecchiare la misura dell'effetto placebo presente nel trattamento riguardante la penetrazione. In realtà, alcune evidenze sottolineano come le procedure di agopuntura fittizia non penetrante, potrebbero stimolare comunque (a livello superficiale) fibre afferenti, biomarcatori e aree cognitive superiori, in modo simile all'agopuntura tradizionale penetrante (Chae et al., 2013; Chae et al., 2018; Kim et al., 2022; Napadow et al., 2009). Di conseguenza, i dispositivi placebo che stimolano in modo superficiale le posizioni di agopuntura consentono di controllare in modo certo solo la penetrazione profonda, escludendo una parte e non la totalità dell'effetto specifico del trattamento riguardante la penetrazione.

Nel secondo gruppo di controllo (ago placebo situato nei non agopunti) il dispositivo placebo dovrebbe consentire di controllare non solo la penetrazione profonda, ma anche la posizione specifica, escludendo, a livello teorico, la quasi totalità dell'effetto specifico del trattamento. I risultati dovrebbero rispecchiare la misura dell'effetto placebo presente nel trattamento riguardante la penetrazione profonda e la posizione specifica del punto. Anche in questa procedura però vi sono delle criticità in quanto alcune evidenze (Chen et al., 2019; Shen et al., 2009) hanno mostrato che questo trattamento fittizio produce comunque degli effetti terapeutici nell'individuo (maggiori rispetto a gruppi senza trattamento o in lista d'attesa) imputabili al fatto che potrebbero esistere ulteriori punti o regioni di agopuntura ancora sconosciuti, che vengono involontariamente stimolati nella condizione di controllo presa in esame (ago placebo situato nei non agopunti) (Haake et al., 2007).

Nel terzo gruppo di controllo vengono utilizzati aghi reali penetranti ma in posizioni che si discostano da tutti i punti o meridiani di agopuntura noti. Questa procedura di controllo ci consente di controllare non più la penetrazione (che avviene allo stesso modo dell'agopuntura reale) bensì la posizione della stimolazione, in modo analogo al secondo gruppo di controllo. In questo caso però, l'effettiva penetrazione consente in maniera

inequivocabile di mascherare il paziente rispetto al trattamento, riducendo al minimo il rischio di pregiudizi rispetto al gruppo di agopuntura assegnato. Utilizzando un dispositivo non penetrante invece, entra in gioco la questione relativa al “blinding”, che deve essere presa in considerazione per la valutazione dei risultati.

In base alle nostre conoscenze, non è ancora stato sviluppato un RCT che presenta contemporaneamente queste tre diverse condizioni di controllo, ognuna delle quali cerca di controllare aspetti diversi della stimolazione e di conseguenza aspetti diversi dell'effetto specifico dell'agopuntura. È auspicabile che, controllando tutte queste variabili, i risultati forniranno una misura affidabile dell'efficacia ansiolitica dell'agopuntura, al netto degli effetti placebo.

Per quanto riguarda i risultati, coerentemente con le ipotesi di ricerca, ci aspettiamo una differenza significativa nelle variabili di risposta al compito Go/no-go (somministrato pre e post trattamento) tra il gruppo di agopuntura Verum e i gruppi di controllo. In particolare, in accordo con Grillon et al. (2017) e Robinson et al. (2013), individui più ansiosi tenderanno a commettere un minor numero di errori di commissione nelle prove “No-go” e un maggior numero di errori di omissione nelle prove “Go”, senza alterazione dei tempi di risposta. A seguito del trattamento di agopuntura Verum, coerentemente con le evidenze sperimentali (Amorim et al., 2018; Bae et al., 2014; Errington-Evans, 2015; Karst et al., 2007; Klausenitz et al., 2016; Li et al., 2019) ci aspettiamo una riduzione dei livelli d'ansia negli individui, e di conseguenza prevediamo, rispetto ai risultati del compito pre trattamento, un aumento del numero di errori di commissione nelle prove “No-go” e una diminuzione del numero di errori di omissione nelle prove “Go”.

Nei gruppi di controllo invece non ci aspettiamo gli stessi cambiamenti nelle risposte al compito Go/no-go. In particolare, a seguito del trattamento fittizio è comunque prevedibile, rispetto ai risultati del compito pre trattamento, un aumento limitato del numero di errori di commissione e una diminuzione del numero di errori di omissione (rispecchiando così una diminuzione dei livelli d'ansia dei soggetti) ma in misura molto più ridotta rispetto al gruppo di agopuntura Verum. Questi risultati sono attesi sulla base di numerose evidenze che suggeriscono l'efficacia dei trattamenti di agopuntura fittizia per molte condizioni cliniche, ma in misura significativamente minore rispetto all'agopuntura Verum (Amorim et al., 2018; Bae et al., 2014; Karst et al., 2007; Linde et al., 2016; Lowe, 2017; Yang et al., 2016). Se ipotizzassimo quindi la presenza di un quarto

gruppo di controllo senza trattamento, sarebbe plausibile aspettarsi che i gruppi di agopuntura fittizia comportino una riduzione dell'ansia maggiore rispetto a nessun trattamento.

Rispetto alla misurazione dei risultati, la State-Trait Anxiety Inventory (STAI), somministrata all'inizio dello studio, sarà molto utile in fase di analisi in quanto fornisce il livello di ansia al basale dei partecipanti. In questo modo sarà possibile conoscere la condizione di partenza di ciascun individuo, che verrà poi confrontata con le risposte al compito Go/no-go. L'evidenza, infatti, suggerisce che le tecniche non farmacologiche di riduzione dell'ansia, come l'agopuntura, sono più efficaci in soggetti altamente ansiosi (Michalek-Sauberer et al., 2012). Ad esempio, se i risultati del questionario indicassero un elevato livello di ansia nell'individuo, sarebbe possibile aspettarsi che questa condizione influisca in maniera notevole sulle risposte al Go/no-go, con minori errori di commissione e maggiori errori di omissione. Se invece l'individuo presentasse livelli di ansia molto bassi al basale, le risposte al Go/no-go potrebbero non differire in maniera significativa pre e post trattamento, fornendo meno indicazioni utili sull'efficacia ansiolitica dell'agopuntura.

Un aspetto centrale in fase di misurazione riguarda la scelta di utilizzare il questionario State-Trait Anxiety Inventory (STAI) per valutare esclusivamente il livello iniziale di ansia nei soggetti, sottoponendo poi il compito Go/no-go per misurare la variazione dell'ansia pre e post trattamento di agopuntura. Questa decisione si pone in contrasto con la letteratura riguardante la misurazione dell'ansia nella terapia di agopuntura. Numerosi studi infatti hanno utilizzato il questionario STAI sia pre trattamento che post trattamento di agopuntura, con l'obiettivo di valutare la modificazione dell'ansia nei soggetti. (Bussell, 2013; Errington-Evans, 2015; Karst et al., 2007; Michalek-Sauberer et al., 2012). Le caratteristiche di queste evidenze però differiscono dal nostro studio in quanto i livelli di ansia dei partecipanti erano maggiori e più evidenti (ansia pre intervento dentale o chirurgico, ansia cronica) e i trattamenti di agopuntura prevedevano sessioni multiple o sessioni singole di durata maggiore.

In questo protocollo di studio però, il trattamento di agopuntura a cui i soggetti verranno sottoposti comprende una singola sessione della durata di 15 minuti. Abbiamo quindi ipotizzato che l'effetto del trattamento di agopuntura fosse troppo piccolo per essere apprezzabile da un questionario self report come lo STAI. Di conseguenza, abbiamo

scelto di utilizzare una misura dell'ansia più sensibile come il compito Go/no-go che riuscisse ad apprezzare anche una variazione leggera dei livelli di ansia dei soggetti.

Rispetto alla procedura di “blinding” abbiamo ipotizzato che il dispositivo Streitberger, ampiamente utilizzato e validato negli RCT in singolo cieco, sarà in grado di supportare anche il mascheramento del praticante, consentendo l'attuazione di uno studio di agopuntura in doppio cieco. Le evidenze mostrano chiaramente che questo dispositivo è in grado di mascherare il soggetto rispetto al trattamento di agopuntura in quanto è composto da un ago a punta smussata che si ritrae nel manico quando tocca la pelle, fornendo una sensazione di puntura ma senza penetrazione cutanea (Zhang et al., 2015; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2013).

Per consentire all'ago di rimanere in posizione e per mascherare il partecipante rispetto all'assenza di penetrazione, il dispositivo è composto anche da un anello di plastica coperto da un foglio di plastica opaco in prossimità del punto da stimolare (Streitberger & Kleinhenz, 1998).

Per eseguire uno studio in doppio cieco, è necessario che il praticante (colui che somministrerà il trattamento di agopuntura) non sia a conoscenza della condizione di trattamento somministrata al soggetto. Nel presente studio non abbiamo ragione di pensare che il dispositivo Streitberger non sia in grado di soddisfare questo requisito. Il praticante che effettuerà il trattamento di agopuntura (Verum o fittizio) sarà un medico non specializzato in questa pratica che verrà prontamente istruito da un professionista del settore sulle modalità di stimolazione intrinseche del trattamento. Inoltre, il praticante, pur essendo istruito rispetto alle coppie di punti da stimolare, sarà completamente allo scuro rispetto a quali siano i punti di stimolazione veri e fittizi così come sarà allo scuro rispetto a quale sarà l'ago vero e l'ago placebo. Gli aghi retrattili del dispositivo Streitberger sono praticamente indistinguibili dagli aghi per agopuntura Verum in quanto presentano la stessa forma, lunghezza e colore.

A livello teorico quindi, alla luce di queste considerazioni, sono presenti tutti i presupposti per eseguire uno studio in doppio cieco. A livello pratico invece, durante la fase di sviluppo del protocollo, abbiamo riscontrato diverse criticità nella procedura di “blinding”.

In primo luogo, abbiamo testato se effettivamente l'ago placebo del dispositivo Streitberger fosse in grado di bucare il foglio di plastica e toccare la pelle, rimanendo in

posizione nonostante l'assenza di penetrazione. A seguito di alcune prove effettuate sul braccio, abbiamo verificato che l'ago retrattile non è sempre in grado di bucare il foglio in quanto la resistenza fornita dalla plastica è sufficiente per far ritrarre l'ago nel manico. È stato quindi necessario stringere leggermente il manico dell'ago per evitare un rientro del medesimo a contatto con la plastica e consentire il tocco con la pelle. Abbiamo anche controllato se l'ago placebo fosse in grado di rimanere in posizione sulla pelle in modo simile all'ago Verum, ma questo è stato possibile solo in determinati punti di stimolazione, che sono stati presi in considerazione per l'attuazione del protocollo.

In secondo luogo, abbiamo testato praticamente se il dispositivo Streitberger fosse in grado di mascherare un praticante non specializzato in agopuntura. Come discusso in precedenza, i due aghi (Verum e placebo) sono indistinguibili a livello visivo e anche in fase di stimolazione, il praticante non è stato in grado di distinguere i due aghi in quanto entrambi hanno rimandato le stesse sensazioni di resistenza e rigidità. La penetrazione del foglio di plastica situato sopra l'anello di plastica fornisce una sensazione molto simile alla sensazione che prova il praticante quando penetra realmente la pelle con un ago tradizionale, rendendo indistinguibili le due stimolazioni. Questa considerazione è valida per un praticante non esperto in agopuntura ma potrebbe non esserlo per un professionista con una sensibilità e dimestichezza maggiore.

Un aspetto critico riguardava il "packaging" degli aghi in quanto erano inseriti in confezioni sterili differenti tra loro. Durante le varie procedure, il praticante, anche inconsapevolmente, potrebbe avvertire delle sensazioni simili tra aghi confezionati nel medesimo modo e di conseguenza potrebbe crearsi dei pregiudizi e interferire con il trattamento di agopuntura. Per ovviare questa problematica non sarà più il praticante a prendere l'ago direttamente dalla confezione ma sarà il valutatore a scartare l'ago dalla confezione e consegnarlo al praticante, non interferendo con il trattamento di agopuntura.

In terzo luogo, la selezione dei punti da stimolare è stata influenzata da diversi fattori. Inizialmente, sono state prese in considerazione due coppie di punti (Verum e fittizie) ma sono state scartate quasi subito in quanto il praticante era a conoscenza di una delle due coppie, rendendo impossibile attuare il "blinding".

Successivamente, sono state selezionate altre due coppie di punti ma anche in questo caso sono state scartate poiché i punti in una delle coppie erano situati in posizioni opposte del braccio. A seguito della stimolazione, infatti, il risultato sarebbe stato quello di avere un

ago orientato verso l'alto e uno verso il basso. In questo modo, i soggetti sottoposti a stimolazione non penetrante nella coppia di punti situati in posizioni opposte, avrebbero avvertito una sensazione di penetrazione più intensa nel punto in cui l'ago è orientato verso l'alto e una sensazione meno intensa nel punto in cui l'ago è orientato verso il basso. Abbiamo constatato che la forza di gravità nella condizione non penetrante gioca un ruolo importante, fornendo due sensazioni diverse a seconda della posizione della stimolazione. In conclusione, sono state selezionate due coppie di punti situate nella stessa porzione del braccio in modo da poter girare il braccio a seconda della posizione degli aghi, al fine di garantire che la forza di gravità eserciti la medesima pressione su entrambi i punti della coppia. Questa criticità è stata affrontata con lo scopo di non fornire alcuna indicazione al soggetto rispetto al tipo di trattamento assegnato (Verum o fittizio).

Questo studio presenta tuttavia alcune limitazioni.

In primo luogo, nonostante questo protocollo sarà uno studio randomizzato e controllato in doppio cieco, non abbiamo la certezza che il praticante rimanga completamente allo scuro riguardo l'allocazione del trattamento. Il dispositivo Streitberger, infatti, è stato validato per studi in singolo cieco e non assicura il "blinding" del praticante. Per risolvere questa criticità abbiamo messo in atto una serie di accorgimenti precedentemente discussi, ma esiste comunque una ridotta probabilità che il praticante, a seguito dei trattamenti di agopuntura, possa accorgersi della differenza tra aghi reali e aghi placebo (dispositivo Streitberger). In questo caso verrebbe meno la condizione di doppio cieco che potrebbe influenzare i risultati a causa di pregiudizi. Per valutare questo aspetto, abbiamo sviluppato un report finale dove viene chiesto al praticante se, secondo la sua percezione, l'ago utilizzato nel trattamento è Verum oppure placebo. In questo modo, sarà possibile verificare la validità dello studio in doppio cieco e l'eventuale successo del mascheramento del praticante rispetto all'allocazione del trattamento.

In secondo luogo, la frequenza e la durata del trattamento in questo protocollo di studio non è tipica. Gran parte degli studi che hanno utilizzato la pratica di agopuntura nella riduzione dell'ansia comprendevano sessioni di agopuntura multiple, oppure singole sessioni di agopuntura di una durata maggiore (Arranz et al., 2012; Errington-Evans, 2015; Isoyama et al., 2012; Karst et al., 2007; Michalek-Sauberer et al., 2012). Nel presente studio invece, il trattamento di agopuntura (Verum e fittizio) comprende una singola sessione della durata di 15 minuti a cui segue la somministrazione del compito

Go/no-go. Si è reso necessario attuare una singola sessione di agopuntura per una serie di fattori organizzativi come il contesto all'interno del quale si esegue lo studio e la tipologia di partecipanti (Studenti universitari). È possibile, infatti, che il trattamento di agopuntura produca degli effetti maggiori quando viene somministrato molteplici volte in un lasso di tempo prolungato. Per ottenere comunque un risultato apprezzabile nonostante la durata del trattamento, abbiamo deciso di utilizzare un compito più sensibile per la misurazione dell'ansia (compito Go/no-go), in grado di rilevare anche una variazione leggera dei livelli di ansia dei soggetti.

In terzo luogo, non abbiamo incluso nel protocollo un gruppo di controllo senza trattamento o un gruppo di controllo in lista d'attesa in quanto le risorse temporali non ci permettevano di ampliare il protocollo aggiungendo altri due gruppi di controllo. La condizione senza trattamento avrebbe consentito di separare la variazione spontanea dalle risposte placebo e la condizione in lista d'attesa avrebbe consentito di tenere in considerazione la potenziale influenza del tempo trascorso sull'efficacia del trattamento. In quarto luogo, questo studio valuta l'efficacia del trattamento di agopuntura in soggetti sani, con livelli di ansia non clinica. Nonostante l'ampio corpo di letteratura che suggerisce l'efficacia del trattamento di agopuntura per individui con disturbi d'ansia conclamati, i possibili risultati positivi di questo studio non potranno essere generalizzabili all'interno di una popolazione con ansia clinica. In futuro sarà possibile replicare lo stesso protocollo di studio, reclutando individui con disturbi d'ansia, al fine di valutare l'efficacia clinica dell'agopuntura anche in questa popolazione specifica.

In conclusione, il nostro studio produrrà dei risultati sul trattamento dell'ansia non clinica attraverso la pratica di agopuntura, aiutando a dimostrare la possibile efficacia di questa terapia nella riduzione dei livelli d'ansia in soggetti sani. L'interpretazione dei risultati del presente studio potrebbe guidare un migliore uso selettivo della modalità di agopuntura come trattamento complementare per l'ansia non clinica. Riteniamo sia effettivamente possibile sviluppare una procedura in doppio cieco per l'agopuntura con tre condizioni di controllo e crediamo che questa procedura rappresenti l'unica soluzione affidabile per stabilire in modo efficace se l'agopuntura funzioni oppure no. Formulazioni di altri protocolli lasciano adito a critiche più o meno fondate.

BIBLIOGRAFIA

- Amorim, D., Amado, J., Brito, I., Fiuza, S. M., Amorim, N., Costeira, C., & Machado, J. (2018). Acupuncture and electroacupuncture for anxiety disorders: a systematic review of the clinical research. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 31, 31-37.
- Arranz, L., Guayerbas, N., Siboni, L., & de la Fuente, M. (2012). Effect of Acupuncture Treatment on the Immune Function Impairment Found in Anxious Women. *The American Journal of Chinese Medicine*, 35(1), 35–51.
- Avants, S. K., Margolin, A., Holford, T. R., & Kosten, T. R. (2000). A Randomized Controlled Trial of Auricular Acupuncture for Cocaine Dependence. *Arch Intern Med*, 160(15), 2305-2312.
- Bae, H., Bae, H., Min, B. I., & Cho, S. (2014). Efficacy of acupuncture in reducing preoperative anxiety: a meta-analysis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- Beecher, H. K. (1955). the powerful placebo. *Journal of the American Medical Association*, 159(17), 1602–1606.
- Benedetti, F. (2008). Mechanisms of placebo and placebo-related effects across diseases and treatments. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 48, 33–60.
- Benedetti, F. (2013). L'effetto placebo. Breve viaggio tra mente e corpo. Roma: Carocci Editore
- Benedetti, F. (2014). Placebo effects: From the neurobiological paradigm to translational implications. In *Neuron*, 84(3), 623–637.
- Benedetti, F., e Amanzio, M. (1997). The neurobiology of placebo analgesia: from endogenous opioids to cholecystokinin. *Progress in Neurobiology*, 52(2), 109-125.
- Benedetti, F., Mayberg, H. S., Wager, T. D., Stohler, C. S., & Zubieta, J. K. (2005). Neurobiological mechanisms of the placebo effect. *Journal of Neuroscience*, 25(45), 10390–10402.

- Birch, S., Lee, M. S., Kim, T. H., & Alraek, T. (2022a). Historical perspectives on using sham acupuncture in acupuncture clinical trials. *Integrative Medicine Research*, *11*(1), 100725.
- Birch, S., Lee, M. S., Kim, T. H., & Alraek, T. (2022b). On defining acupuncture and its techniques: A commentary on the problem of sham. *Integrative Medicine Research*, *11*(2).
- Black, C. J., Drossman, D. A., Talley, N. J., Ruddy, J., & Ford, A. C. (2020). Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management. *The Lancet*, *396*(10263), 1664–1674.
- Bussell, J. (2013). The Effect of Acupuncture on Working Memory and Anxiety. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, *6*(5), 241–246.
- Chae, Y., Chang, D. S., Lee, S. H., Jung, W. M., Lee, I. S., Jackson, S., Kong, J., Lee, H., Park, H. J., Lee, H., & Wallraven, C. (2013). Inserting Needles Into the Body: A Meta-Analysis of Brain Activity Associated With Acupuncture Needle Stimulation. *The Journal of Pain*, *14*(3), 215–222.
- Chae, Y., Lee, Y. S., & Enck, P. (2018). How placebo needles differ from placebo pills? *Frontiers in Psychiatry*, *9*.
- Chan, Y. Y., Lo, W. Y., Li, T. C., Shen, L. J., Yang, S. N., Chen, Y. H., & Lin, J. G. (2014). Clinical efficacy of acupuncture as an adjunct to methadone treatment services for heroin addicts: a randomized controlled trial. *The American Journal of Chinese Medicine*, *42*(3), 569-86.
- Chand, S. P., & Marwaha, R. (2022). Anxiety. *StatPearls [Internet]*.
- Chavez, L. M., Huang, S. S., MacDonald, I., Lin, J. G., Lee, Y. C., & Chen, Y. H. (2017). Mechanisms of acupuncture therapy in ischemic stroke rehabilitation: A literature review of basic studies. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(11).
- Chen, J. D. Z., Ni, M., & Yin, J. (2018). Electroacupuncture treatments for gut motility disorders. *Neurogastroenterology and Motility*, *30*(7).
- Chen, Z., Wang, Y., Wang, R., Xie, J., & Ren, Y. (2018). Efficacy of acupuncture for treating opioid use disorder in adults: A systematic review and meta-analysis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

- Chen, H., Yang, M., Ning, Z., Lam, W. L., Zhao, Y. K., Yeung, W. F., Fung-Leung B.N., Ziea, E. T., & Lao, L. (2019). A guideline for randomized controlled trials of acupuncture. *The American Journal of Chinese Medicine*, *47*(1), 1-18.
- Chen, Y. J., Bassi, G. S., & Yang, Y. Q. (2019). Classic Chinese Acupuncture versus Different Types of Control Groups for the Treatment of Chronic Pain: Review of Randomized Controlled Trials (2000-2018). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Cheng, K. J. (2014). Neurobiological Mechanisms of Acupuncture for Some Common Illnesses: A Clinician's Perspective. *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, *7*(3), 105-114.
- Clement-Jones, V., Tomlin, S., Rees, L., Mcloughlin, L., Besser, G. M., & Wen, H. L. (1980). Increased β -endorphin but not met-enkephalin levels in human cerebrospinal fluid after acupuncture for recurrent pain. *The Lancet*, *316*(8201), 946-949.
- Colloca, L., Sigaud, M., & Benedetti, F. (2008). The role of learning in nocebo and placebo effects. *PAIN*, *136*(2), 211–218.
- Corbett, M. S., Rice, S. J. C., Madurasinghe, V., Slack, R., Fayter, D. A., Harden, M., Sutton, A. J., MacPherson, H., & Woolacott, N. F. (2013). Acupuncture and other physical treatments for the relief of pain due to osteoarthritis of the knee: Network meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *21*(9), 1290-1298.
- Coutaux, A. (2017). Non-pharmacological treatments for pain relief: TENS and acupuncture. *Joint Bone Spine*, *84*(6), 657-66.
- Cragg, L., & Nation, K. (2008). Go or no-go? Developmental improvements in the efficiency of response inhibition in mid-childhood. *Developmental Science*, *11*(6), 819-827.
- Diamond, A. (2013). Executive functions. *Annual review of psychology*, *64*, 135.
- Eccles, R. (2006). Mechanisms of the placebo effect of sweet cough syrups. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, *152*(3), 340–348.
- Errington-Evans, N. (2015). Randomised controlled trial on the use of acupuncture in adults with chronic, non-responding anxiety symptoms. *Acupuncture in Medicine*, *33*(2), 98-102.

- Finniss, D. G., Kaptchuk, T. J., Miller, F., & Benedetti, F. (2010). Biological, clinical, and ethical advances of placebo effects. *The Lancet*, *375*(9715), 686–695.
- Freedland, K. E., Mohr, D.C., Davidson, K.W., & Schwartz, J.E. (2011). Usual and unusual care: existing practice control groups in randomized controlled trials of behavioral interventions. *Psychosom Med*, *73*(4), 323-35.
- Gan, Y. H., Aye, N., & Sin, Y. S. (2021). Title: The Effectiveness of Participant Blinding of Non-Penetrating Sham/Placebo Acupuncture in Clinical Trials: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Research Square*.
- Grillo, C. M., Zotelli, V. L. R., Lúcia Bressiani Gil, M., & de Sousa, M. da L. R. (2018). Would a Placebo Acupuncture Needle be Able to Induce Deqi? *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, *11*(5), 273–279.
- Grillon, C., Robinson, O., O'Connell, K., Davis, A., Alvarez, G., Pine, D., & Ernst, M. (2017). Clinical anxiety promotes excessive response inhibition. *Psychological Medicine*, *47*(3), 484-494.
- Guo, H.-F., Tian, J., Wang, X., Fang, Y., Hou, Y., & Han, J. (1996). Brain substrates activated by electroacupuncture of different frequencies (I): comparative study on the expression of oncogene c-fos and genes coding for three opioid peptides. *Molecular Brain Research*, *43*(1-2), 157-166.
- Guo, Y., Wei, W., & Chen, J. D. Z. (2020). Effects and mechanisms of acupuncture and electroacupuncture for functional dyspepsia: A systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, *26*(19), 2440-2457.
- Haake, M., Müller, H. H., Schade-Brittinger, C., Basler, H. D., Schäfer, H., Maier, C., Endres, H. G., Trampisch, H. J., & Molsberger, A. (2007). German Acupuncture Trials (Gerac) For Chronic Low Back Pain: Randomized, Multicenter, Blinded, Parallel-Group Trial With 3 Groups. *Archives of Internal Medicine*, *167*(17), 1892–189.
- Han, J. S. (2004). Acupuncture and endorphins. *Neuroscience Letters*, *361*(1), 258-261.
- Ho, T. J., Lee, C. W., Lu, Z. Y., Lane, H. Y., Tsai, M. H., Ho, I. K., Huang, C. L., & Chiang, Y. C. (2017). Effects of Electroacupuncture on Methamphetamine-Induced Behavioral Changes in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

- Ho, L., Ke, F. Y. T., Wong, C. H. L., Wu, I. X. Y., Cheung, A. K. L., Mao, C., & Chung, V. C. H. (2021a). Low methodological quality of systematic reviews on acupuncture: a cross-sectional study. *BMC Medical Research Methodology*, *21*(1), 1–11.
- Ho, R. S. T., Wong, C. H. L., Wu, J. C. Y., Wong, S. Y. S., & Chung, V. C. H. (2021b). Non-specific effects of acupuncture and sham acupuncture in clinical trials from the patient's perspective: a systematic review of qualitative evidence. *Acupuncture in Medicine*, *39*(1), 3–19.
- Hsieh, J.-C., Tu, C.-H., Chen, F.-P., Chen, M.-C., Yeh, T.-C., Cheng, H.-C., Wu, Y.-T., Liu, R.-S., & Ho, L.-T. (2001). Activation of the hypothalamus characterizes the acupuncture stimulation at the analgesic point in human: a positron emission tomography study. *Neuroscience Letters*, *307*(2), 105-108.
- Isoyama, D., Cordts, E. B., de Souza Van Niewegen, A. M. B., de Almeida Pereira De Carvalho, W., Matsumura, S. T., & Barbosa, C. P. (2012). Effect of Acupuncture on Symptoms of Anxiety in Women Undergoing in Vitro Fertilisation: A Prospective Randomised Controlled Study. *Acupuncture in Medicine*, *30*(2), 85–88.
- Jin, W., Kim, M. S., Jang, E. Y., Lee, J. Y., Lee, J. G., Kim, H. Y., Yoon, S. S., Lee, B. H., Chang, S., Kim, J. H., Choi, K. H., Koo, H., Gwak, Y. S., Steffensen, S. C., Ryu, Y. H., Kim, H. Y., & Yang, C. H. (2018). Acupuncture reduces relapse to cocaine-seeking behavior via activation of GABA neurons in the ventral tegmental area. *Addiction Biology*, *23*(1), 165-181.
- Kaptchuk, T. J. (1998). Intentional Ignorance: A History of Blind Assessment and Placebo Controls in Medicine. *Fall*, *72*(3).
- Kaptchuk, T. J. (2002). Acupuncture: Theory, Efficacy, and Practice. *Annals of Internal Medicine*, *136*, 374-83.
- Kaptchuk, T. J. (2020). Placebo Effects in Acupuncture. *Medical Acupuncture*, *32*(6), 352–356.
- Kaptchuk, T. J., Kelley, J. M., Conboy, L. A., Davis, R. B., Kerr, C. E., Jacobson, E. E., Kirsch, I., Schyner, R. N., Bong, H. N., Nguyen, L. T., Park, M., Rivers, A. L., McManus, C., Kokkotou, E., Drossman, D. A., Goldman, P., & Lembo, A. J. (2008).

- Components of placebo effect: randomised controlled trial in patients with irritable bowel syndrome. *BMJ*, 336(7651), 999–1003.
- Karst, M., Winterhalter, M., Münte, S., Francki, B., Hondronikos, A., Eckardt, A., ... & Fink, M. (2007). Auricular acupuncture for dental anxiety: a randomized controlled trial. *Anesthesia & Analgesia*, 104(2), 295-300.
- Kelly, R.B., & Willis, J. (2019). Acupuncture for Pain. *American Family Physician*, 100(2), 89-96.
- Kim, M. R., Soo, J. K., Yeoung, S. L., Sang, H. K., Yong, K. L., Tae, H. K., Shim, I., Zhao, R., Golden, G. T., & Yang, C. H. (2005). Effect of acupuncture on behavioral hyperactivity and dopamine release in the nucleus accumbens in rats sensitized to morphine. *Neuroscience Letters*, 387(1), 17-21.
- Kim, N. J., Ryu, Y., Lee, B. H., Chang, S., Fan, Y., Gwak, Y. S., Yang, C. H., Bills, K. B., Steffensen, S. C., Koo, J. S., Jang, E. Y., & Kim, H. Y. (2019). Acupuncture inhibition of methamphetamine-induced behaviors, dopamine release and hyperthermia in the nucleus accumbens: mediation of group II mGluR. *Addiction Biology*, 24(2), 206-217.
- Kim, T. H., Lee, M. S., Birch, S., & Alraek, T. (2022). Plausible Mechanism of Sham Acupuncture Based on Biomarkers: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Neuroscience*, 8.
- Klausenitz, C., Hacker, H., Hesse, T., Kohlmann, T., Endlich, K., Hahnenkamp, K., & Usichenko, T. (2016). Auricular acupuncture for exam anxiety in medical students—a randomized crossover investigation. *PloS one*, 11(12).
- Lai, H. C., Lin, Y. W., & Hsieh, C. L. (2019). Acupuncture-Analgesia-Mediated Alleviation of Central Sensitization. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Lam, M., Galvin, R., & Curry, P. (2013). Effectiveness of acupuncture for nonspecific chronic low back pain: A systematic review and meta-analysis. *Spine*, 38(24), 2124-2138.
- Langevin, H. M., Wayne, P. M., MacPherson, H., Schnyer, R., Milley, R. M., Napadow, V., Lao, L., Park, J., Harris, R. E., Cohen, M., Sherman, K. J., Haramati, A., &

- Hammerschlag, R. (2011). Paradoxes in acupuncture research: Strategies for moving forward. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Lau, C. H. Y., Wu, X., Chung, V. C. H., Liu, X., Hui, E. P., Cramer, H., Lauche, R., Wong, S. Y. S., Lau, A. Y. L., Sit, R. S. T., Ziea, E. T. C., Ng, B. F. L., & Wu, J. C. Y. (2016). Acupuncture and related therapies for symptom management in palliative cancer care: Systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 95(9).
- Lee, J.-H., Choi, T.-Y., Lee, M. S., Lee, H., Shin, B.-C., & Lee, H. (2013). Acupuncture for Acute Low Back Pain A Systematic Review. *The Clinical Journal of Pain*, 29(2), 172-185.
- Lee, M. Y., Lee, B. H., Kim, H. Y., & Yang, C. H. (2021). Bidirectional role of acupuncture in the treatment of drug addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 126, 382-397.
- Lewis, F. C., Reeve, R. A., Kelly, S. P., & Johnson, K. A. (2017). Sustained attention to a predictable, unengaging Go/No-Go task shows ongoing development between 6 and 11 years. *Attention, Perception, & Psychophysics*, 79(6), 1726-1741.
- Li, L. Xin, Deng, K., & Qu, Y. (2018). Acupuncture Treatment for Post-Stroke Dysphagia: An Update Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 24(9), 686-695.
- Li, M., Xing, X., Yao, L., Li, X., He, W., Wang, M., ... & Yang, K. (2019). Acupuncture for treatment of anxiety, an overview of systematic reviews. *Complementary therapies in medicine*, 43, 247-252.
- Liang, Z. H., Xie, C. C., Li, Z. P., Zhu, X. P., Lu, A. P., & Fu, W. bin. (2013). Deqi sensation in placebo acupuncture: A crossover study on chinese medicine students. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Liang, Y. D., Li, Y., Zhao, J., Wang, X. Y., Zhu, H. Z., & Chen, X. H. (2017). Study of acupuncture for low back pain in recent 20 years: A bibliometric analysis via CiteSpace. *Journal of Pain Research*, 10, 951-964.
- Linde, K., Allais, G., Brinkhaus, B., Fei, Y., Mehring, M., Shin, B. C., Vickers, A., & White, A. R. (2016). Acupuncture for the prevention of tension-type headache. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4).

- Liu, W.-C., Feldman, S. C., Cook, D. B., Hung, D.-L., Xu, T., Kalnin, A. J., & Komisaruk, B. R. (2003). fMRI study of acupuncture-induced periaqueductal gray activity in humans. *NeuroReport*, *15*(12), 1937-1940.
- Liu, L., Skinner, M., McDonough, S., Mabire, L., & Baxter, G. D. (2015). Acupuncture for low back pain: An overview of systematic reviews. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, *2015*.
- Liu, Z., Yan, S., Wu, J., He, L., Li, N., Dong, G., Fang, J., Fu, W., Fu, L., Sun, J., Wang, L., Wang, S., Yang, J., Zhang, H., Zhang, J., Zhao, J., Zhou, W., Zhou, Z., Ai, Y., ... & Liu, B. (2016). Acupuncture for chronic severe functional constipation: A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, *165*(11), 761-769.
- Lowe, C., Aiken, A., Day, A. G., Depew, W., & Vanner, S. J. (2017). Sham acupuncture is as efficacious as true acupuncture for the treatment of IBS: A randomized placebo-controlled trial. *Neurogastroenterology and Motility*, *29*(7).
- Lu, L., Liu, Y., Zhu, W., Shi, J., Liu, Y., Ling, W., & Kosten, T. R. (2009). Traditional medicine in the treatment of drug addiction. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, *35*(1), 1-11.
- MacPherson, H., Vertosick, E., Lewith, G., Linde, K., Sherman, K. J., Witt, C. M., & Vickers, A. J. (2014). Influence of Control Group on Effect Size in Trials of Acupuncture for Chronic Pain: A Secondary Analysis of an Individual Patient Data Meta-Analysis. *PLOS ONE*, *9*(4).
- Manheimer, E., Cheng, K., Linde, K., Lao, L., Yoo, J., Wieland, S., Windt, D., Berman, B. M., Bouter, L. M. (2010). Acupuncture for peripheral joint osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1).
- Margolin, A., Avants, A. S., & Holford, T. R. (2002). Interpreting Conflicting Findings from Clinical Trials of Auricular Acupuncture for Cocaine Addiction: Does Treatment Context Influence Outcome? *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, *8*(2), 111-121.
- Mayer, D. J., Price, D. D., & Rafii, A. (1977). Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Research*, *121*(2), 368-372.

- Michalek-Sauberer, A., Gusenleitner, E., Gleiss, A., Tepper, G., & Deusch, E. (2012). Auricular acupuncture effectively reduces state anxiety before dental treatment—a randomised controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, *16*(6), 1517–1522.
- Moroz, A., Freed, B., Tiedemann, L., Bang, H., Howell, M., & Park, J. J. (2013). Blinding measured: A systematic review of randomized controlled trials of acupuncture. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2013*.
- Motlagh, F. E., Ibrahim, F., Rashid, R. A., Seghatoleslam, T., & Habil, H. (2016). Acupuncture therapy for drug addiction. *Chinese Medicine*, *11*(1), 1-20.
- Napadow, V., Makris, N., Liu, J., Kettner, N. W., Kwong, K. K., & Hui, K. K. S. (2005). Effects of electroacupuncture versus manual acupuncture on the human brain as measured by fMRI. *Human Brain Mapping*, *24*(3), 193-205.
- Napadow, V., Dhond, R., Kim, J., LaCount, L., Vangel, M., Harris, E. R., Kettner, N., & Kyungmo, P. (2009). Brain encoding of acupuncture sensation—coupling on-line rating with fMRI. *NeuroImage*, *47*(3), 1055-1065.
- Pan, B., Castro-Lopez, J. M., & Coimbra, A. (1994). C-fos expression in the hypothalamo-pituitary system induced by electro-acupuncture or noxious stimulation. *Neuroreport*, *5*(13), 1649-1652.
- Park, J., White, A., Lee, H., & Ernst, E. (1999). Development of a New Sham Needle. *Acupuncture in Medicine*, *17*(2), 110-112.
- Quattrone, A., Barbagallo, G., Cerasa, A., & Stoessl, A. J. (2018). Neurobiology of placebo effect in Parkinson's disease: What we have learned and where we are going. *Movement Disorders*, *33*(8), 1213–1227.
- Robinson, O. J., Krimsky, M., & Grillon, C. (2013). The impact of induced anxiety on response inhibition. *Frontiers in Human Neuroscience*, *7*, 69.
- Sarter, M., Givens, B., & Bruno, J. P. (2001). The cognitive neuroscience of sustained attention: where top-down meets bottom-up. *Brain research reviews*, *35*(2), 146-160.
- Shen, Y. F., Fellow, P., Younger, J., Goddard, G., & Mackey, S. (2009). Randomized Clinical Trial of Acupuncture for Myofascial Pain of the Jaw Muscles. *Journal of Orofacial Pain*, *23*(4), 353.

- Shengxi Zhang, G., Shuiqing Zhang, C., Ying Tan, H., Wang, Y., DaCosta, C., Lin Zhang, A., Changli Xue, C., & Min Xie, Y. (2018). Systematic review of acupuncture placebo devices with a focus on the credibility of blinding of healthy participants and/or acupuncturists. *Acupunct Med*, 36, 204–214.
- Spielberger, C. D. (1989). *State-Trait Anxiety Inventory: Bibliography* 2nd Edn. Palo Alto, CA.
- Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L., Lushene, R., Vagg, P. R., & Jacobs, G. A. (1983). *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory*. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press
- Streitberger, K., & Kleinhenz, J. (1998). Introducing a placebo needle into acupuncture research. *The Lancet*, 352(9125), 364–365.
- Suzuki, M., Muro, S., Ando, Y., Omori, T., Shiota, T., Endo, K., Sato, S., Aihara, K., Matsumoto, M., Suzuki, S., Itotani, R., Ishitoko, M., Hara, Y., Takemura, M., Ueda, T., Kagioka, H., Hirabayashi, M., Fukui, M., & Mishima, M. (2012). A randomized, placebo-controlled trial of acupuncture in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Archives of Internal Medicine*, 172(11), 878-886.
- Takakura, N., & Yajima, H. (2007). A double-blind placebo needle for acupuncture research. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 7(1), 1–5.
- Ulett, G. A., Han, S., & Han, J.-S. (1998). Electroacupuncture: Mechanisms and Clinical Application. *Biological Psychiatry*, 44(2), 129-138.
- Vanderploeg, K., & Yi, X. (2009). Acupuncture in modern society. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2(1), 26-33.
- Vickers, A., & Zollman, C. (1999). Acupuncture. *BMJ*, 319(7215), 973–976.
- Wang, S. M., Kain, Z. N., & White, P. (2008). Acupuncture Analgesia: I. The Scientific Basis. *Anesthesia & Analgesia*, 106(2), 602-610.
- Wang, H., Liu, W. J., Hu, M. J., Zhang, M. T., & Shen, G. M. (2020). Acupuncture at Gastric Back-Shu and Front-Mu Acupoints Enhances Gastric Motility via the Inhibition of the Glutamatergic System in the Hippocampus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020.

- Watson, T. D., & Garvey, K. T. (2013). Neurocognitive correlates of processing food-related stimuli in a Go/No-go paradigm. *Appetite, 71*, 40-47.
- White, A., & Ernst, E. (2004). A brief history of acupuncture. *Rheumatology, 43*(5), 662-663.
- Woolf, C. J. (2011). Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain, 152*(3).
- World Medical Association. (2013). World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *Jama, 310*(20), 2191-2194.
- Wu, P., Mills, E., Moher, D., & Seely, D. (2010). Acupuncture in poststroke rehabilitation: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Stroke, 41*(4).
- Yang, C. H., Lee, B. H., & Sohn, S. H. (2008). A possible mechanism underlying the effectiveness of acupuncture in the treatment of drug addiction. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 5*(3), 257-266
- Yang, A., Wu, H. M., Tang, J. L., Xu, L., Yang, M., & Liu, G. J. (2016). Acupuncture for stroke rehabilitation. *Cochrane Database of Systematic Reviews, 8*.
- Yang, X. Y., Yang, N. B., Huang, F. F., Ren, S., & Li, Z. J. (2021). Effectiveness of acupuncture on anxiety disorder: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Annals of general psychiatry, 20*(1), 1-14.
- Yang, Z., Li, Y., Zou, Z., Zhao, Y., Zhang, W., Jiang, H., Hou, Y., Li, Y., & Zheng, Q. (2021). Does patient's expectation benefit acupuncture treatment?: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine, 100*(1).
- Yu, S., Ortiz, A., Gollub, R. L., Wilson, G., Gerber, J., Park, J., Huang, Y., Shen, W., Chan, S. T., Wasan, A. D., Edwards, R. R., Napadow, V., Kaptchuk, T. J., Rosen, B., & Kong, J. (2020). Acupuncture treatment modulates the connectivity of key regions of the descending pain modulation and reward systems in patients with chronic low back pain. *Journal of Clinical Medicine, 9*(6), 1-16.
- Yu, Z. (2020). Neuromechanism of acupuncture regulating gastrointestinal motility. *World Journal of Gastroenterology, 26*(23), 3182-3200.

- Zeng, L., Tao, Y., Hou, W., Zong, L., & Yu, L. (2018). Electro-acupuncture improves psychiatric symptoms, anxiety and depression in methamphetamine addicts during abstinence: A randomized controlled trial. *Medicine*, *97*(34).
- Zhang, C. S., Tan, H. Y., Zhang, G. S., Zhang, A. L., Xue, C. C., & Xie, Y. M. (2015). Placebo devices as effective control methods in acupuncture clinical trials: A systematic review. *PLoS ONE*, *10*(11).
- Zhang, G. S., Zhang, C. S., Tan, H. Y., Wang, Y., DaCosta, C., Zhang, A. L., Xue, C. C., & Xie, Y. M. (2018). Systematic review of acupuncture placebo devices with a focus on the credibility of blinding of healthy participants and/or acupuncturists. *Acupuncture in Medicine: Journal of the British Medical Acupuncture Society*, *36*(4), 204–214.
- Zhang, L., Tang, Y., Hui, R., Zheng, H., Deng, Y., Shi, Y., Xiao, X., Zheng, Q., Zhou, S., Yu, S., Cao, W., Liu, Y., Hu, Y., & Li, Y. (2020). The effects of active acupuncture and placebo acupuncture on insomnia patients: a randomized controlled trial. *Psychology, Health and Medicine*, *25*(10), 1201-1215.
- Zhang, J., Lu, C., Wu, X., Nie, D., & Yu, H. (2021). Neuroplasticity of Acupuncture for Stroke: An Evidence-Based Review of MRI. *Neural Plasticity*, 2021.
- Zhu, D., Gao, Y., Chang, J., & Kong, J. (2013). Placebo acupuncture devices: Considerations for acupuncture research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Zhou, W., & Benharash, P. (2014). Significance of “Deqi” response in acupuncture treatment: Myth or reality. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, *7*(4), 186-189.
- Zhou, L., Wang, Y., Qiao, J., Wang, Q. M., & Luo, X. (2020). Acupuncture for Improving Cognitive Impairment After Stroke: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Psychology*, *11*, 549265.
- Zhu, J., Arsovska, B., & Kozovska, K. (2020). Acupuncture treatment in anxiety. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research (EJPMR)*, *7*(1), 120-122.
- Zhu, J., Li, J., Yang, L., & Liu, S. (2021). Acupuncture, from the ancient to the current. *Anatomical Record*, *304*(11), 2365-2371.