



**UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR**  
Covilhã | Portugal

# **Os Opioides Endógenos No Efeito Placebo Analgésico**

**Hélder Carvalho Martins**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Medicina**  
(ciclo de estudos integrado)

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Susana Abreu Macedo

**Covilhã, março de 2014**

(...)

**[Spider:]** *Everything in the universe is... is... is made of one element, which is a note, a single note. Atoms are really vibrations, you know, which are extensions of THE BIG NOTE. Everything's one note. Everything, even the ponies. The note, however, is the ultimate power, but see, the pigs don't know that, the ponies don't know that.*

**[Monica:]** *You mean just we know that?*

**[Spider:]** *Right!*

Excerto de "Very Distraughtening" de Frank Zappa.

# Dedicatória

À minha família, pela incondicionalidade.

## Agradecimentos

Obrigado à minha mãe, pai e irmã, pelo tempo, pelas condições, pelo cuidado.

Obrigado aos meus amigos, que conheci na faculdade, aos mais próximos, Daniela, Diana, Eva, Garrido, Joana, Jordão, Mariana, Marona, Miguel, Nelson, Nathalie e Pires, pela companhia, pela ajuda, pelo riso, pelo equilíbrio.

Obrigado à minha orientadora, Dra. Susana, pelo tempo, pela paciência, pela ajuda.

# Índice

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos .....	iv
Índice .....	v
Lista de tabelas .....	vi
Lista de Abreviaturas e de Acrónimos.....	vii
Resumo .....	viii
Abstract.....	ix
Introdução.....	10
Opioides Endógenos .....	11
Enquadramento Histórico .....	11
Tipos de opioides endógenos e a sua localização.....	12
Recetores dos opioides endógenos .....	13
Interação ligando-recetor.....	14
Funções dos Opioides Endógenos .....	15
O efeito Placebo e seu estudo.....	16
Enquadramento Histórico .....	17
Mecanismos Neuroquímicos.....	18
Mecanismos Psicológicos .....	20
Efeito placebo na prática clínica e algumas particularidades.....	21
Relação entre opioides endógenos e o efeito placebo analgésico .....	23
Anatomia da dor .....	23
Modulação descendente da dor .....	24
Abordagem farmacológica .....	25
Abordagem imagiológica .....	27
Efeitos colaterais do efeito placebo analgésico.....	29
Conclusão .....	30
Referências Bibliográficas.....	33

## Lista de tabelas

Tabela 1-Cronograma adaptado de Snyder and Pasternak 2003 (19).....	12
Tabela 2 – OE e os seus precursores. Adaptada de (9) .....	13
Tabela 3 - Mecanismos para os vários EP. Adaptado de Finniss DG e colegas (3).....	17

## Lista de Abreviaturas e de Acrónimos

**AMPC** - adenosina monofosfato cíclico;  
**CCA** - córtex cingulado anterior;  
**CCAr** - córtex cingulado anterior rostral;  
**CI** - córtex insular;  
**COF** - córtex orbito-frontal;  
**CP** - córtex parietal;  
**CPF** - córtex pré-frontal;  
**CSS** - córtex somatossensorial;  
**CT** - córtex temporal;  
**EP** - efeito placebo;  
**EPA** - efeito placebo analgésico;  
**NA** - núcleo accumbens;  
**OE** - opioides endógenos;  
**RM** - ressonância magnética;  
**RMd** - ressonância magnética de difusão;  
**RmF** - ressonância magnética funcional;  
**RO** - recetores opioides;  
**ROE** - recetores de opioides endógenos;  
**SCP** - substância cinzenta peri-aqueductal;  
**SL** - sistema límbico;  
**SNC** - sistema nervoso central;  
**TA** - tálamo;  
**TC** - tomografia computadorizada;  
**TCe** - tronco cerebral;  
**TEM** - trato espinho mesencefálico;  
**TEP** - tomografia por emissão de positrões;  
**TER** - trato espinho reticular;  
**TET** - trato espinho talâmico.

## Resumo

O placebo é um agente que potencia, no organismo, o benefício dum procedimento, sendo que o efeito placebo decorre da sua atividade. Em Medicina, diz-se que há efeito placebo, quando um sujeito responde com melhoria a uma substância ou ação, que se sabe não ter qualquer efeito terapêutico para a condição específica a ser tratada. Assim, ele poderá ser um aliado do médico e do paciente, para serem atingidas as metas terapêuticas pretendidas.

Dos diferentes tipos de efeito placebo, o analgésico é dos mais extensamente estudado. A compreensão das suas características psicobiológicas poderá, no futuro, ajudar a desenvolver estratégias terapêuticas de combate a um dos maiores flagelos da sociedade: a dor.

Existem muitos processos neuroquímicos envolvidos no desenvolvimento do efeito placebo analgésico. Neste estudo de revisão serão abordados os papéis centrais que têm os opioides endógenos nesse fenómeno.

Posteriormente, iremos discutir a relação existente entre os opioides endógenos e o efeito placebo analgésico. A sua compreensão será apresentada mediante a análise de estudos farmacológicos e imagiológicos, dando especial destaque aos mecanismos neurofisiológicos supra-espinhais.

**Palavras-chave:** opioides endógenos; efeito placebo; analgesia; farmacologia; imagiologia.

## Abstract

In an organism, the placebo is an agent that potentiates a beneficiary activity of a procedure. In Medicine, it is said that there is a placebo effect, when an individual responds to a procedure which is known to have no therapeutic effect for the specific condition to be treated. Considering this, the placebo may help the physician and the patient to achieve the desired therapeutic goals.

Among the different placebo effects, the analgesic is one of the most profoundly studied. The comprehension of its psychobiological characteristics may, in the future, aid in the development of therapeutic strategies to combat one of the biggest scourges in our society: pain.

There are many neurochemical processes involved in the development of the analgesic placebo effect. In this review, the main roles of the endogenous opioids in this phenomenon will be approached.

Forwardly, we will discuss the connection between endogenous opioids and analgesic placebo effect. Its comprehension will be presented by an analysis of pharmacological and imagiologic studies, emphasizing the supraspinal neurophysiological mechanisms.

**Keywords:** endogenous opioids; placebo effect; analgesia; pharmacology; imaging.

## Introdução

O efeito placebo é muitas vezes considerado um artefacto, algo sem uma tradução física prática (1). Existem atualmente muitas evidências, que suportam o facto de o efeito placebo ser um processo biológico real (2). Dentro dos vários tipos de efeitos placebo descritos (3), nesta revisão será abordado o efeito placebo analgésico e o papel que os opioides endógenos têm na sua neurofisiologia.

O efeito placebo analgésico é um processo complexo, que não é ainda totalmente compreendido (3). Para ele contribuem uma grande variedade de fatores, desde individuais (biológicos e psicológicos) até sociais e culturais (2).

Na primeira parte deste trabalho serão abordadas várias características dos opioides endógenos e dos seus recetores. Como eles interagem entre si e de que forma eles podem intervir em vários processos neuronais. A seguir debruça-se sobre o efeito placebo, principalmente no envolvido na analgesia. Serão focados os aspetos neuroquímicos e psicológicos que se pensa estarem relacionados com o seu desenvolvimento.

Por fim, será abordada a relação existente entre os opioides endógenos e o efeito placebo analgésico, através de duas abordagens principais: a farmacológica e a imagiológica.

Um estudo de Levine utilizando a naloxona publicado em 1978 (4), foi uma das primeiras aproximações farmacológicas ao estudo da interação do efeito placebo analgésico e opioides endógenos, constituindo um marco histórico para a sua compreensão. Discutir-se-ão outros trabalhos publicados posteriormente que, corrigindo alguns erros conceptuais daquele, chegaram a conclusões semelhantes.

Os estudos de imagem são, nos mais diversos campos da biologia, uma grande ajuda para a melhor compreensão acerca do funcionamento das estruturas vivas. No caso das neurociências, permitem, não só fornecer pormenores anatómicos do SNC, mas também acerca do funcionamento e interligação de várias estruturas. No estudo do efeito placebo, e em particular no papel que os opioides endógenos têm nele, a tomografia de emissão de positrões e a ressonância magnética funcional e de difusão, representaram um grande avanço (5). Aqui serão discutidos estudos, que usando estas tecnologias, ajudaram a compreender melhor esta interação.

Na modulação descendente da dor, iniciada a nível cerebral, estão implicados o efeito placebo analgésico e os opioides endógenos, que exercem a sua influência na espinhal medula (6). Nesta revisão, será dada uma maior atenção aos processos neurofisiológicos que ocorrem a nível supra espinhal.

Sempre que possível, dar-se-á a esta revisão uma ordem cronológica, tentando, desta forma, ajudar a perceber a evolução dos conceitos, efeito placebo e opioides endógenos, ao longo do tempo.

# Opioides Endógenos

Os opioides podem ser divididos em quatro categorias: alcalóides de ópio, como a morfina, produzidos através da papoila *Papaver somniferum*; opioides semissintéticos, como a heroína; opioides sintéticos, em que a estrutura não está relacionada com a morfina, como a metadona e os OE, como os peptídios opioides.

## Enquadramento Histórico

O sistema dos OE era totalmente desconhecido até aos primeiros anos da década de 1970 (7). A primeira evidência da sua existência surgiu, quando se verificou que se produzia analgesia quando se estimulava eletricamente certas zonas do cérebro (8, 9). Em 1975, foi observado que extratos de cérebro continham um fator que inibia a libertação de acetilcolina pelos neurónios que inervavam o ílion de porcos. Esta inibição era bloqueada pela naloxona. Este fator foi chamado encefalina. A inibição era feita, não apenas por uma molécula, mas sim por dois pentapeptídeos estruturalmente relacionados. Foram chamados de Met-encefalina e Leu-encefalina (7, 10). Descobriu-se que a Met-encefalina estava presente na zona N-terminal da  $\beta$ -endorfina (11), um fragmento da  $\beta$ -lipotropina isolada anos antes. Tal como as encefalinas, a  $\beta$ -endorfina provou ter uma grande afinidade para os RO cerebrais. Em 1981 foi encontrado outro grupo de peptídios estruturalmente semelhantes às encefalinas, sendo o primeiro descrito a dinorfina (12). Foi posteriormente descoberto um quarto grupo a que foi dado o nome de deltorfinas (13).

No início do século XX já havia a noção de que diferentes drogas, hormonas e neurotransmissores, tinham lugares de reconhecimento muito específicos. Na década de 60, o conceito de RO estava já enraizado (14, 15). Em 1973 três laboratórios, separadamente, provaram a existência de locais de ligação de opioides no cérebro (16-18).

Considerou-se a existência de vários tipos de ROE devido à sua distinta potência, pela existência de antagonistas seletivos e devido à estereoespecificidade das ações dos opioides (19). Em 1976 apareceu a primeira evidência da existência de diferentes tipos de RO. Martin (20), através da análise neurobiológica e propriedades comportamentais de diversos opioides e da sua tolerância cruzada<sup>1</sup>, sugeriu a existência de três tipos de recetores: mu, kappa e sigma (os seus nomes derivaram das drogas usadas no estudo, morfina, ketociclazocina e SKF 10,047 respetivamente, que se ligavam preferencialmente aos diferentes recetores)(20, 21). Sabe-se hoje, que o recetor sigma liga outras substâncias psicoativas, para além de opioides, não se conhecendo porém os seus ligandos endógenos.

---

<sup>1</sup> Propriedade de uma droga prevenir os sintomas de abstinência de uma segunda droga num animal tolerante a esta.

Num estudo de 1977, notou-se que o canal deferente, ao contrário do ílion do porco, tinha uma maior afinidade para as encefalinas do que para a morfina (22). Esta observação levou a propor-se a existência de um recetor com ligação preferencial à encefalina, ao qual se deu o nome de recetor delta. Posteriormente provou-se também a sua existência no cérebro (23).

Já na década de 1990, foi possível clonar os diferentes tipos de recetores: primeiro o delta e posteriormente o mu e o kappa (19).

Tabela 1-Cronograma adaptado de Snyder and Pasternak 2003 (19).

Ano	Progressos feitos
Anos 50	Estudos clínicos da interação da nalorfina-morfina.
Anos 60	Propostas e modelos de RO.
1973	Demonstração dos RO.
1973	Efeito Na <sup>+</sup> : diferenciação da ligação dos agonistas e antagonistas.
1975	Identificação dos OE.
1976	Recetores mu, kappa e sigma são propostos.
1977	Distinção entre os recetores mu e delta.
1981	Demonstração dos recetores kappa.
1981-1989	Descrição dos diferentes subtipos de recetores mu e kappa.
1993	Clonados os recetores, o peptídeo opioide mu (MOP) <sup>a</sup> e o peptídeo opioide kappa.
Anos 90	Clonadas variantes splice do MOP.
2002	Clonados recetores G-proteínas neurónio específicas.

<sup>a</sup> originalmente chamado de MOR-1 e KOR-1, respetivamente.

## Tipos de opioides endógenos e a sua localização

Os OE são pentapeptídeos produzidos numa grande variedade de neurónios e, notavelmente, em monócitos, linfócitos e granulócitos de tecidos inflamados. Assim como os opioides exógenos, ativam os RO (24). Dividem-se em três classes: encefalinas, dinorfinas e endorfinas. Todas elas são clivadas a partir de precursores (Tabela 2) (25, 26).

A utilização de várias técnicas, imunohistoquímicas, cromatografia líquida de alta eficiência, rádio-imuno-ensaios e espectrometria de massa, permitiram uma melhor compreensão da sua localização no SNC dos mamíferos. Utilizando técnicas de imunolocalização, foram encontrados OE no hipocampo, corpo estriado, córtex e cerebelo (27). Usando técnicas de imunoreatividade, foram detetados também no hipocampo e no cerebelo, mas igualmente no bulbo olfativo, no feixe diagonal de Broca e nos núcleos da base do cérebro. Usando cromatografia líquida de alta eficiência e rádio-imuno-ensaios, foram também detetados no lobo temporal e no hipotálamo (28, 29). Mais recentemente, um mapeamento mais preciso, usando a imunoreatividade e que foi feito no SNC do rato, encontraram-se OE nos astrócitos e nos neurónios GABA. Na medula espinhal, principalmente na substância cinzenta, corno ventral, neurónios GABA e astrócitos. Enquanto estes

compostos então presentes nos terminais pré-sinápticos no cerebelo, no resto do SNC estão presentes nos terminais pós-sinápticos (30, 31). Os astrócitos parecem estar envolvidos na biossíntese e/ou no catabolismo dos OE (32).

Existem vários tipos de células GABAérgicas no SNC: os OE não aparecem em todos os tipos. Não se sabe, porém, as características neuroquímicas das células GABAérgicas que os contêm. Pensa-se que estas células estarão envolvidas na sua síntese (32).

No sistema nervoso periférico, foram encontrados nos neurónios aferentes primários e gânglios da raiz dorsal (33). Foram observados RO nos neurónios sensoriais (34), no sistema neuroendócrino (pituitária e adrenais), no sistema imune e noutros tecidos da ectoderme (35).

Tabela 2 - OE e os seus precursores. Adaptada de (9)

Precursor	Ligando
Não é conhecido	Endorfina-1
Não é conhecido	Endorfina-2
Proopiomelanocortina	$\beta$ -endorfina
Proencefalina	Leu-encefalina
Prodinorfina	Met-encefalina
	Metorfamida
	Dinorfina A
	Dinorfina B
	$\alpha$ -neoendorfina
	$\beta$ -neoendorfina

## Recetores dos opioides endógenos

Existem 3 tipos principais de RO: mu, delta e kappa. Foram detetados vários subtipos destes recetores, apesar de só se conhecerem três genes diferentes que os codificam. O *splicing* alternativo e as modificações pós-translacionais do produto do gene podem explicar esta variedade de subtipos (25, 36).

Estes recetores pertencem à família dos recetores acoplados à proteína G, com 7 domínios transmembranares. São constituídos pelo *loop* extracelular, domínio transmembranar e uma cauda C-terminal (intracelular). Os três tipos de recetores são bastantes semelhantes, no domínio transmembranar 2, 3, 5, 6 e 7, em 3 *loops* intracelulares e numa pequena porção da cauda C-terminal. Quase nenhuma homologia é encontrada, nos *loops* extracelulares ou na cauda N-terminal (extracelular) (25).

Foi sugerido para o recetor C5a, outra proteína G, que os *loops* extracelulares são responsáveis por filtrar e regular a capacidade do ligando interagir com o sítio de ligação do recetor (37). Há evidências que, para além de ajudar a guiar os ligandos para o seu sítio de ligação, os *loops* extracelulares podem regular a transição ligado-desligado, na ausência de ligando (38).

Os resíduos transmembranares no ambiente lipofílico da membrana celular, desempenham um papel essencial no reconhecimento do ligando e/ou na transdução do sinal. Pensa-se que possuem uma cavidade central hidrofílica (39). Atualmente acredita-se que a proteína G, passa de um estado de descanso para um ativado, quando os ligandos se conectam aos resíduos hidrofílicos e aromáticos do núcleo helicoidal. Isto ativa os movimentos de exteriorização das hélices 3, 6 e 7 do domínio transmembranar, promovendo o acoplamento da proteína G e a transdução, tal como foi mostrado para o recetor muscarínico, estruturalmente relacionado (40).

A cauda C-terminal determina o acoplamento com os segundos mensageiros e é importante na mobilidade do recetor dentro da célula (41).

## Interação ligando-recetor

A proteína G acoplada ao RO é uma proteína G heterotrimérica, sendo constituída por 3 subunidades:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ .

No estado não ativado, a subunidade  $G_\alpha$  está ligada ao GDP. Quando o ligando se liga ao recetor, há uma grande alteração da conformação da subunidade  $G_\alpha$ . Esta alteração diminui a sua afinidade ao GDP, separando-se dele. Como o GTP está presente numa concentração celular muito maior que a do GDP, irá unir-se à subunidade  $G_\alpha$ . O complexo  $G_\alpha$ /GTP, irá dissociar-se então da subunidade  $G_{\beta\gamma}$ . Desta forma a proteína G liberta-se do recetor (42).

As subunidades  $G_\alpha$ /GTP e  $G_{\beta\gamma}$  são capazes de influenciar diferentes vias intracelulares, através da ativação ou inibição de enzimas e canais iónicos. A atividade da GTPase da proteína G converte o GTP em GDP, cessando a sinalização e as subunidades  $G_\alpha$  e  $G_{\beta\gamma}$  voltam a juntar-se (26).

A separação em dois das subunidades da proteína G irá regular negativamente os canais de cálcio da sinapse, sensíveis à voltagem, inibindo o influxo de cálcio e diminuindo desta forma a libertação do neurotransmissor na membrana pré-sináptica. Os opioides mostraram inibir vários tipos de canais de cálcio, N-, P/Q-, L- (25). Na membrana pós-sináptica, os RO medeiam a hiperpolarização, através da ativação dos canais  $K^+$  (promovendo o efluxo do ião), inibindo desta forma a propagação do potencial de ação no neurónio(25).

Para além dos canais  $Ca^{2+}$  e  $K^+$ , os RO podem regular outros tipos de canais iónicos. Suprime a tetrodoxina-resistente às correntes de catiões dos canais de sódio seletivos e não seletivos, que é maioritariamente expressa nos nociceptores (43). Podem também regular os recetores N-metil-D-aspartato, pré e pós-sinápticos no SNC (44).

A maior parte dos dados indicam que a ativação dos RO poderá inibir a produção de AMPc, porém a relevância fisiológica deste processo ainda não é bem compreendida (25).

Em suma, a ativação do RO irá diminuir, nesse local, a libertação dos neurotransmissores nos neurónios excitatórios.

## Funções dos Opioides Endógenos

São diversas as funções desempenhadas pelos OE no SNC. Estão envolvidos nas respostas ao *stress* (libertados na medula adrenal) e imunológicas (encontrados em várias células inflamatórias).

Satisfazem vários critérios para serem considerados neurotransmissores: sintetização neuronal, localização em vesículas pré-sinápticas, libertados pela despolarização provocada pelo potássio ou estimulação da nicotina e são recaptados pelos neurónios. A descoberta da sua localização pós-sináptica na maior parte do SNC põe em causa os OE como neurotransmissores. Porém, pode haver uma ativação retrógrada em que os OE, localizados em vesículas pós-sinápticas, ativam os recetores pré-sinápticos. Isto acontece com outros neurotransmissores como o óxido nítrico e endocanabinóides.

Os OE podem também estar envolvidos na memória. Encontrados no hipocampo, pensa-se que podem estar relacionados com a diminuição da aquisição e consolidação da memória. O seu papel na adição foi também já testado, verificando-se um aumento da libertação de OE em humanos, quando lhes era administrado cocaína, álcool ou nicotina. Podem participar também na neurogénese, plasticidade cerebral e neuroinflamação.

Tendo como base o efeito analgésico da morfina, o papel dos OE no controlo nociceptivo, foi dos primeiros a ser considerado. Estudos imunohistoquímicos mostraram que eles estão presentes em áreas e processos do SNC envolvidos no controlo da dor, incluindo medula rostroventral, SCP, núcleo magnus do rafe e lâmina superficial da espinhal medula. Com a administração de antagonistas de opioides, mostrou-se que há um aumento da perceção da dor (32, 45).<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Para uma revisão mais aprofundada das várias funções que os OE provavelmente desempenham, consultar 32. Laux-Biehlmann A, Mouheiche J, Vérièpe J, Goumon Y. Endogenous Morphine and its Metabolites in Mammals: History, Synthesis, Localization and Perspectives. *Neuroscience*. 2012:95-117, 45. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior: 2011. *Peptides*. 2012.

## O efeito Placebo e seu estudo

Durante muitos anos, os placebos foram considerados substâncias ou procedimentos inertes, que se destinavam a satisfazer o paciente em vez de exercer um efeito específico. Porém criou-se aqui um paradoxo. Se um placebo era realmente inerte, ele não poderia criar qualquer efeito. Atualmente o conceito de placebo mudou. Considera-se que um placebo é um agente que potencia a atividade de um procedimento (uma terapia, por exemplo) num contexto psicobiológico e social (1).

Não se deve confundir placebo, com o efeito decorrente da sua utilização. Considera-se que há EP, quando um sujeito responde a uma substância ou a um procedimento, que se sabe não ter qualquer efeito terapêutico para a condição específica a ser tratada (46).

Para haver um estudo adequado do EP, há critérios que devem ser cumpridos. Em qualquer estudo é obrigatório considerar a história natural. Considera-se a história natural, como a evolução de um sintoma ou condição sem a aplicação de nenhum tratamento (1). É por essa razão que é mais seguro, ao estudar o EP, considerar que é um efeito que acontece num grupo, em vez de num indivíduo isolado (46). Sempre que possível, os relatos dados pelos indivíduos durante o estudo (grau de diminuição da dor, por exemplo) devem ser medidos de forma objetiva. Devem ser feitos estudos duplamente cegos, para evitar vieses (2). A ter também em conta, um fenómeno estatístico chamado “*regression to the mean*”. Este fenómeno refere-se à tendência que um sub-grupo de indivíduos, com valores mais extremos das variáveis, têm de numa avaliação posterior, ter valores mais próximos da média do grupo, podendo simular o EP. Por exemplo, no caso da dor, indivíduos que experimentam um nível mais elevado de dor nas avaliações iniciais, tendem a ter um nível de dor menor nas avaliações seguintes (1). É importante distinguir este fenómeno do EP, pois ele é apenas um artefacto estatístico, não refletindo qualquer efeito biológico (47).

Uma intervenção com placebo é desenhada para simular um contexto terapêutico, de modo a que o efeito causado venha no seguimento e se relacione com a intervenção. O EP é atribuído à forma como este contexto afeta o corpo (particularmente o cérebro) e crenças do paciente (48).

Várias evidências mostram, que o EP é um fenómeno psicobiológico autêntico, que pode ser atribuído a um contexto terapêutico (2). Este contexto psicobiológico, inerente ao paciente, é composto por fatores tanto individuais como os relacionados com os procedimentos clínicos, e a interação entre paciente, profissional de saúde/investigador e tratamento (3).

Na realidade, existem vários EP, com diferentes mecanismos (Tabela 3) (3). Neste trabalho será focado o EP na analgesia.

Tabela 3 - Mecanismos para os vários EP. Adaptado de Finniss DG e colegas (3).

	Mecanismos
Dor	Ativação dos OE, canabinóides endógenos e dopamina (placebo). Ativação da colecistocinina e desativação da dopamina (nocebo).
D. Parkinson	Ativação da dopamina no corpo estriado e alteração da atividade neuronal nos gânglios da base e do TA.
Depressão	Alterações na atividade elétrica e metabólica em diferentes regiões cerebrais, como no corpo estriado ventral.
Ansiedade	Alterações na atividade do CCA e COF.
Adição	Alteração da atividade metabólica em diferentes zonas cerebrais.
Respostas autonómicas à estimulação cerebral profunda	Mudança na excitabilidade nas regiões límbicas profundas.
Sistema Cardiovascular	Redução da atividade $\beta$ -adrenérgica.
Sistema Respiratório	Condicionamento dos RO nos centros respiratórios.
Sistema Imune	Condicionamento de mediadores imunológicos.
Sistema endócrino	Condicionamento de algumas hormonas, como a hormona de crescimento e o cortisol.
Performance física	Ativação dos OE e aumento do trabalho muscular.

## Enquadramento Histórico

A história do termo placebo começa na Bíblia Hebraica. No Livro dos Salmos 116:9, é utilizado o termo *Ethalekh*, que é a primeira pessoa singular, do futuro indicativo ativo do verbo latim “*placere*” que significa “agradar, dar prazer, ser aprovado, ser agradado, ser agradável, aceitável, adequar, satisfazer”. Está presente na frase, “*Placebo Domino in regione vivorum*”, que se pode traduzir como “Agradarei ao Senhor no mundo dos vivos” (49).

Na língua inglesa, durante o século XIII, o termo adquiriu outro significado. Foi associado a um ritual usado pelos Católicos durante os funerais. No século XV, foi dado ao termo placebo um significado secular, com uma conotação progressivamente mais trocista e depreciativa. Sendo associado a “bajulador”, “adulador”, “servil” (termos originais no *A New English Dictionary*, 1933). Esta conotação depreciativa deriva das carpideiras profissionais, que “cantavam placebos” nos funerais. Elas tinham baixo estatuto social, ganhavam a vida através da morte e eram objetos, através dos quais, os vivos projetavam a sua culpa (49).

O termo placebo apareceu pela primeira vez num dicionário médico Inglês, no *New Medical Dictionary* em 1785, definido como “*commonplace method or medicine*”, podendo ser traduzido para português como “método comum ou medicina”. Nenhuma definição anterior foi encontrada nas línguas inglesa, francesa, italiana, alemã ou portuguesa (49). Nas línguas, francesa e italiana, a história do uso não médico do termo é paralela à inglesa. Já o uso médico apareceu muito mais tarde nestas duas línguas, já no século XIX. Não há referências a definições não médicas deste termo nos dicionários das línguas alemã, espanhola e portuguesa e nos dicionários médicos apareceram apenas recentemente (49).<sup>3</sup>

## Mecanismos Neuroquímicos

A maior porção do EPA será mediada a nível do SNC, em regiões relacionadas com a dor (50).

Desde a década de 60 de século XX, através de estudos farmacológicos e imagiológicos, foram-se acumulando evidências acerca das moléculas envolvidas no EPA. Foram encontrados diversos neuromoduladores envolvidos no processo: OE, colecistocinina, canabinóides endógenos e dopamina (51).

A analgesia por placebo foi recentemente ligada aos canabinóides endógenos (52). Eles estarão por detrás do EP que aparece após o condicionamento com anti-inflamatórios não esteróides.

O EPA pode ser diminuído pela colecistocinina (53). Ela irá mobilizar o  $Ca^{2+}$  armazenado intracelularmente, revertendo a diminuição interna de  $Ca^{2+}$  promovida pelos OE. Os estímulos sensoriais podem ativar ambos, colecistocinina e OE, que convergem para neurónios pós-sinápticos. O primeiro terá um efeito excitatório e o segundo, um efeito inibitório (54).

As mudanças da neurotransmissão dos OE foram relacionadas com a modulação do sistema dopaminérgico, sugerindo que ambos contribuem para o EPA (55).

Os OE diminuiram a atividade de áreas cerebrais sensíveis à dor (50, 56). O papel dos OE no EPA será discutido mais à frente, com mais pormenor.

Amanzio e Benedetti (57), utilizaram a dor induzida pela técnica do torniquete (modelo de dor isquémica), para testar os aspetos biológicos da expectativa e do condicionamento clássico na produção do EP.

Neste estudo foram utilizados 12 grupos de indivíduos, estudados durante 5 dias. O grupo 1 (história natural) não recebeu qualquer tratamento; o grupo 2 recebeu uma injeção escondida de naloxona (este grupo não sabia que iria ser feita qualquer injeção); o grupo 3 recebeu uma injeção, à vista do sujeito, de solução salina, tendo-lhe sido dito que era um

---

<sup>3</sup> Para uma revisão mais aprofundada da evolução do termo placebo ao longo da história, consultar “Semantics of The Placebo” de Arthur K. Shapiro 49. Shapiro A. Semantics of the placebo. *Psych Quar.* 1968;42(4):653-95.

poderoso analgésico; o grupo 4 recebeu uma injeção não escondida de naloxona e foi-lhe dito que era um poderoso analgésico (placebo mais expectativa de alívio da dor); o grupo 5, tratado com morfina, uma injeção não escondida nos dias 2 e 3 e no dia 4 uma injeção não escondida de solução salina (condicionamento); o grupo 6, injeção não escondida de morfina nos dias 2 e 3, dia 4 uma injeção não escondida de naloxona (condicionamento); os grupos 7 e 8, o mesmo tratamento dos grupos 5 e 6, porém foi-lhes dito que a injeção recebida no dia 4 era uma solução neutra não analgésica - um antibiótico para esterilização (placebo sem expectativa mas com condicionamento prévio); os grupos 9 a 12, tratados como os grupos 5 a 8, com a exceção de que o condicionamento nos dias 2 e 3 foi feito com uma substância não opioide (cetorolac).

As instruções verbais dadas nas diferentes condições foram distintas. No caso do grupo de condicionamento com morfina ou cetorolac, dados nos dias 2 e 3, foi dito que as drogas eram potentes analgésicos e que produziram um efeito rápido. No dia 4, nos grupos onde foi usada a expectativa (grupos 5, 6, 9 e 10), foi dito que a droga tinha o mesmo poder analgésico que a aplicada nos dias 2 e 3. Já nos grupos onde não foi usada a expectativa (grupos 7, 8, 11 e 12) foi dito que a droga era um antibiótico sem efeito analgésico.

No condicionamento com morfina (dias 2 e 3) os investigadores observaram que, quando administravam a solução salina no dia 4 (grupo 5), ela mimetizou a atividade da morfina no dia anterior. Se o mesmo procedimento fosse aplicado, mas com naloxona em vez de solução salina (grupo 6), não havia reação semelhante à da morfina. No grupo 7, no dia 4 em que foi dito que seria administrado um antibiótico, houve uma resposta que se assemelhou à morfina, mesmo sem ter sido dada expectativa nos sujeitos, revelando que o condicionamento por si pode criar um EP. Porém o EP no grupo 5 foi maior que no grupo 7, mostrando que o condicionamento mais a expectativa produzem uma resposta ao placebo maior que o condicionamento isoladamente. O EP induzido pelo condicionamento (Grupo 8), foi completamente bloqueado pela naloxona.

O mesmo procedimento usado com a morfina foi usado com o cetorolac (Grupo 9, 10, 11, 12). Verificou-se que a resposta ao placebo induzida pelo cetorolac, através do condicionamento mais a expectativa, foi parcialmente bloqueada pela naloxona, enquanto a induzida apenas pelo condicionamento com cetorolac, foi totalmente insensível à naloxona.

Resumindo, a resposta ao placebo produzida pela expectativa isoladamente (grupo 3), foi completamente bloqueada pela naloxona (grupo 4). Quando produzida pelo condicionamento mais a expectativa (grupo 5), foi maior que a produzida pelo condicionamento sozinho e com morfina (grupo 7) e ambas podem ser completamente bloqueadas pela naloxona (grupos 6 e 8). No condicionamento com cetorolac mais expectativa (grupo 9), produziu um EP tendencialmente maior do que o provocado pelo condicionamento com cetorolac sozinho (grupo 11). O primeiro pode ser bloqueado parcialmente (grupo 10), mas o último é completamente insensível à naloxona.

Estes resultados mostram que a resposta ao placebo pode ser criada sem a expectativa, apenas com o condicionamento, porém ela será maior quando os dois estão

presentes. Revela também que a analgesia por placebo pode ter um componente opioide e outro não opioide, dependendo do procedimento de indução utilizado, se a expectativa se o condicionamento clássico. Quando a resposta ao placebo é criada pela expectativa, é bloqueada pela naloxona, indicando que ela depende da ação dos OE. Quando a resposta ao placebo é criada pelo condicionamento clássico (exceto o provocado por opioides) não se verifica qualquer bloqueio pela naloxona, indicando que ela não é mediada por opioides.

Este estudo demonstrou que existe uma interação complexa entre a cognição e o condicionamento. Funções cognitivas complexas, como a expectativa do alívio da dor, são capazes de interagir com sistemas neuroquímicos complexos e produzir um efeito analgésico específico.

## Mecanismos Psicológicos

Sob o ponto de vista psicológico, há uma variedade de mecanismos que influenciam o EP. Incluem-se a expectativa, o condicionamento, a aprendizagem, a memória, a motivação, o foco somático, a recompensa e a ansiedade (3).

Dois abordagens principais foram propostas para ajudar a compreender o EP, a teoria da expectativa e a teoria do condicionamento clássico (2).

No condicionamento clássico verifica-se que a associação repetida de um estímulo neutro com uma droga ativa pode resultar na capacidade do estímulo neutro produzir por si só o efeito da droga ativa (3). A existência de mecanismos condicionados no ser humano é suportada pelo facto do EP ter uma magnitude maior após um protocolo de condicionamento (57).

A teoria da expectativa tornou-se uma das teorias mais populares do EP. Nela, uma expectativa hipotética (“se eu tomar o medicamento X, ele produzirá em mim o efeito Y”) cria um EP. As pessoas podem adquirir expectativas através de vários processos. Um é adquirido diretamente através da experiência pessoal, outros podem incluir informação verbal (sugestão), aprendizagem observacional e fatores relacionados com a terapia (qualidade da relação terapêutica, fornecimento de atenção e cuidado, receber um diagnóstico) (2).

As experiências pessoais parecem ser mais efetivas para moldar as expectativas do que as manipulações, como as verbais, por exemplo (58). Price e colegas testaram EP baseando-se na medida da intensidade da dor durante a aplicação dum placebo. Posteriormente mediram-nas de uma forma retrospectiva, cerca de dois minutos depois do estímulo doloroso ter sido aplicado. A magnitude da analgesia proporcionada pelo EP, verificada retrospectivamente, foi três a quatro vezes superior à verificada nas medidas correntes. A principal razão para esta diferença foi que os sujeitos recordavam a dor sofrida como muito mais intensa do que tinha sido na realidade. Há então evidências que o EP está fortemente relacionado com a intensidade esperada de dor (59). Estes dados foram posteriormente replicados por De Pascalis e colegas (60).

As experiências anteriores, vividas pelo indivíduo, podem também influenciar o EP. Colloca e Benedetti mostraram que as experiências anteriores de analgesia, podem manter o EP durante vários dias, apesar de diminuir progressivamente, mostrando que o EP pode ser um fenômeno de aprendizagem (61). Por exemplo, foi demonstrado que a aprendizagem através da observação social pode criar um EPA. Testaram esta hipótese comparando três grupos. Grupo 1: EPA provocado pela observação social, em que eles viam um demonstrador (um simulador); grupo 2: condicionamento clássico típico; grupo 3: sugestão verbal. Descobriram que os efeitos benéficos observados no demonstrador pelo grupo 1 induziram um EP positivamente relacionado com o nível de empatia. Para além disso, a observação social produziu uma resposta ao placebo semelhante àquela observada no grupo que experimentou diretamente o benefício no grupo 2. A sugestão verbal isoladamente produziu um efeito significativamente menor (62).

O desejo pode também desempenhar um papel como mediador do EP. O desejo é a dimensão experimental de esperar que algo aconteça ou não. Ele e a expectativa interagem e estão subjacentes a emoções humanas comuns como tristeza, ansiedade e alívio. No contexto de estudos sobre analgesia, é normal os sujeitos estudados terem algum grau de desejo para evitar, terminar ou reduzir a dor evocada ou em curso (1).

A interação entre a expectativa e o condicionamento clássico precisa de mais estudos para ser melhor entendida. É uma área interessante pelas implicações que pode ter nas intervenções clínicas. É aceite atualmente que ambas atuam no desenvolvimento dum EP. Pensa-se que a expectativa aparece antes, sendo seguida pelo condicionamento clássico, que depende do sucesso da primeira. Isto abre a possibilidade de que a expectativa possa ser essencial para criar um EP robusto: quanto maior a expectativa, maior será o EP e, potencialmente, maior será o condicionamento futuro associado a uma futura toma duma intervenção terapêutica (3).

## **Efeito placebo na prática clínica e algumas particularidades**

Uma das maiores evidências da existência de EP na prática clínica vem do paradigma criado quando se esconde ou não o tratamento dado, permitindo que o paciente o veja ou não a ser administrado. Este é um dos vários fatores, do contexto terapêutico, que influenciam o EP. Quando o indivíduo vê o tratamento ser aplicado, por um médico por exemplo, ele irá mimetizar o tratamento clínico normal. Quando o tratamento é administrado na ausência de um clínico ou de qualquer contexto terapêutico, através de um computador por exemplo, o resultado será muito menos efetivo do que quando o sujeito vê o tratamento a ser administrado (63, 64).

As expectativas podem ser moduladas para melhorar os resultados da terapia. Um estudo de Amanzio e Benedetti (65) mostrou uma analgesia 33% menor no grupo da história natural, do que naquele que acreditava estar a receber um poderoso analgésico. A sugestão

verbal de quem aplica o procedimento é muito importante, sendo que uma expectativa de analgesia mais concreta aumenta o EP (1, 65).

As expectativas do médico podem também influenciar o EP. Num estudo duplamente cego, foram criados dois grupos de pacientes, que tinham feito uma cirurgia dentária. Foi-lhes dito que iam receber uma droga, que lhes poderia aumentar a dor (naloxona), diminuir a dor (fentanil) ou que não teria qualquer efeito (placebo). Aos médicos foi-lhes dito, que num dos grupos não tinha sido administrado qualquer analgésico. Desta forma o médico foi manipulado e o paciente não. O EP foi muito menor no grupo em que os médicos acreditavam que não tinha sido administrado qualquer analgésico. Mostrou-se assim que as crenças do clínico também podem influenciar o tratamento (66).

A perda do EP diminui a eficácia da terapêutica. Num estudo feito em doentes com demência de Alzheimer, testou-se a relação da perda da expectativa com a dose de analgesia requerida. Demonstrou-se que as reduções nas capacidades cognitivas e na relação funcional entre regiões cerebrais, estavam relacionadas com a redução do EP. Isto levou a uma redução da analgesia, pelo que a dose terapêutica requerida, para ter os mesmos níveis de analgesia, teve que ser aumentada (67).

Sabe-se que outros fatores influenciam a eficácia terapêutica. As terapêuticas feitas no hospital, têm maior eficácia do que as feitas em casa. Drogas dadas em cápsulas em forma de feijão e de cor, são mais eficazes que retângulos de cor, que por sua vez são superiores a retângulos brancos, sendo estes superiores a formas arredondadas. Injeções intravenosas são mais eficazes que as intramusculares.<sup>4</sup>

---

<sup>4</sup> . Para uma revisão na influência que estes aspetos têm na terapêutica consultar Amanzio e Benedetti 46. Benedetti F, Amanzio M. The neurobiology of placebo analgesia: from endogenous opioids to cholecystokinin. *Progress in Neurobiology*. 1997;52(2):109-25.

# Relação entre opioides endógenos e o efeito placebo analgésico

A dor é definida pela *International Association for the Study of Pain* como “uma experiência multidimensional desagradável, envolvendo não só um componente sensorial mas também um componente emocional, e que se associa a uma lesão tecidual concreta ou potencial, ou é descrita em função dessa lesão” (tradução feita pela Associação Portuguesa para o Estudo da Dor). Percebemos, por esta definição, que a dor tem uma grande componente subjetiva.

A dor é a interpretação de estímulos nociceptivos, influenciada pelas memórias, fatores genéticos e cognitivos, emoções e patologias. O indivíduo está ciente da dor que sente, logo é uma experiência consciente. Por isso a dor sentida não estará, necessariamente, linearmente relacionada com a magnitude do estímulo nociceptivo (68).

Pelo facto de a dor ser uma experiência complexa, subjetiva e multifatorial, as redes neuronais envolvidas no processo estão largamente distribuídas pelo cérebro. Melzack foi o primeiro a descrever isto como “*pain neuromatrix*”, a neuromatriz da dor (69). Atualmente é mais conhecida por “*pain matrix*”, matriz da dor. Ele considera que esta grande diversidade de redes neuronais, somatossensoriais, límbicas e talamicocorticais, resultarão nas várias dimensões da dor, discriminação sensorial, afetivo-motivacional e avaliativo-cognitiva (69).

## Anatomia da dor

O processo que normalmente inicia a percepção da dor, é a ativação do recetor nociceptivo periférico, que deteta estímulos potencialmente causadores de dano tecidual. A ativação do recetor nociceptivo aferente primário irá fazer com que este transmita a informação do estímulo, para o corno dorsal da medula espinhal. Aqui faz sinapse com o segundo neurónio aferente. Através deste a informação ascende para diversas regiões superiores, como o TA - pelo TET ascendente contralateral - e para o TCe, através dos TER e TEM (68).

As projeções espinhais para o TCe permitem a integração da informação nociceptiva com a actividade homeostática, de excitação, processos autonómicos, projeta indiretamente a informação nociceptiva para o prosencéfalo (68).

Os neurónios do TET dividem-se em dois grupos principais. Um no trato anterolateral, que juntamente com as projeções da medula, ponte e mesencéfalo, termina nos núcleos ventroposterior e posterior do TA. Pensa-se que estes neurónios estão envolvidos na componente discriminativa da dor. A outra via, termina mais medialmente no núcleo intralaminar, incluindo os núcleos centrolateral, ventroposterolateral e submediano, que

projetam para o CSS. O núcleo centromediano vai projetar para o SL e pensa-se que está envolvido nas componentes afetivas e motivacionais da dor (70).

Foi descoberto que várias áreas subcorticais também se ativam quando há um estímulo doloroso: como o putamen, o núcleo caudado, o hipotálamo, a amígdala, a SCP, o hipocampo e o cerebelo (70).

A nível cortical, as áreas que respondem aos estímulos dolorosos são: CSS primário e secundário, CI, CCA, CPF, CP e CT (50, 68).

## Modulação descendente da dor

Henry Beecher, um anestesologista, que serviu durante a Segunda Guerra Mundial, relatou que homens gravemente feridos no campo de batalha, não se queixavam de qualquer dor. Este fenómeno pode ser explicado pela modulação da excitabilidade neural da medula espinhal por centros supra espinhais, que foi inicialmente notada em 1906 por Sherrington, ao fazer estudos de reflexos com animais. A modulação central da ativação aferente da medula espinhal foi postulada em 1926 por Fulton (71).<sup>5</sup>

Nas últimas décadas houve um acumular de evidências de que várias regiões cerebrais estão envolvidas na modulação descendente. Esta modulação pode ser excitatória ou inibitória, com o consequente nocebo ou placebo respetivamente (68).

A modulação descendente da dor, mediada por placebo, tem vindo a ser estudada ao longo dos anos. Muitos dos estudos iniciais foram feitos em animais usando reflexos pavlovianos e a expectativa. Mais recentemente começaram a ser feitos estudos em humanos, que ajudaram a descobrir as vias neuronais, pelas quais a modulação da dor pelo placebo, e a sua consequente analgesia, são veiculados (71).

Vários estudos de neuro imagem concluíram que a atividade de diversas áreas corticais está associada a estímulos que provocam dor aguda. (6).

Investigações com RMf, em que se usou a manipulação, por distração do indivíduo, para diminuir a dor aguda, mostraram uma maior ativação do CCA, do COF e SCP. Outros estudos, usando a RMd, mostraram que o CPF (no qual se inclui o COF) e a amígdala, participam na modulação descendente da dor, através de conexões com a SCP (6).

Noutros estudos, usando a TEP, suportam a ideia de que o CCA participa na modulação descendente da dor através das suas conexões com a SCP. Estes achados são consistentes com pesquisas anteriores, feitas em macacos, que indicavam que CCA, CPF e CI, projetam para a SCP.

O CCA está subdividido nas divisões “afetivas” e “cognitivas”. A dor aguda ativa primariamente a divisão afetiva. Quando a zona rostral desta área cortical é ativada, outras áreas específicas ativam-se com frequência, tais como áreas 24, 25 e 32 de Broadmann.

---

<sup>5</sup> Uma consulta mais pormenorizada, sobre a evolução do conhecimento acerca da modulação da descendente da dor, poderá ser feita na revisão seguinte: 71. Perl ER. Pain mechanisms: a commentary on concepts and issues. Progress in neurobiology. 2011;94(1):20-38.

Ensaio experimentais sugerem que o CCA estará mais envolvido na modulação afetiva da dor que na modulação sensorial (6).

De notar que a SCP é a fonte primária de analgesia dos OE no neuroeixo (72). Isto sugere que a ativação pela dor dos CCA, COF e CI, pode estar envolvida com a analgesia mediada por opioides<sup>6</sup>.

## Abordagem farmacológica

A naloxona é um N-alilo derivado da oximorfona. É um antagonista competitivo dos RO mu, delta e kappa. A sua afinidade para o recetor mu é 10 a 20 vezes superior do que para os outros dois (46). Foi notado que tinha uma ação hiperálgica em diferentes condições dolorosas, tanto em animais como em seres humanos. Aumentava, por exemplo, as dores pós-cirúrgicas. No entanto, quando administrada em doses mais baixas, a naloxona podia ter efeitos analgésicos (46).

A neurobiologia do EP, nasceu com a descoberta de que a analgesia podia ser revertida pela naloxona. Em 1978 Levine e colegas (4) estudaram o EP em sujeitos que tinham feito uma cirurgia para retirar o terceiro molar. Este tipo de dor vai aumentando durante várias horas, antes de começar a diminuir progressivamente.

O desenho experimental consistia na administração de uma primeira droga (Droga 1) 2 horas após a anestesia. Posteriormente era aplicada uma segunda droga (Droga 2) 1 hora após a administração da Droga 1. Os pacientes foram distribuídos de forma aleatória para um dos 3 grupos: placebo (Droga 1) - naloxona (Droga 2); naloxona (Droga 1) - placebo (Droga 2); placebo (Droga 1) - placebo (Droga 2). Os pacientes que receberam o placebo na Droga 1 foram divididos em “respondedores” e “não respondedores”. Considerou-se, que um respondedor seria aquele em que, após 1 hora da toma do placebo, a dor permaneceria constante, ou tivesse diminuído 5 minutos após o ter tomado. Eles descobriram que, quando era dado aos respondedores 10 mg de naloxona como Droga 2, os seus níveis de dor eram significativamente maiores do que nos não respondedores. Havia então uma evidência de que os OE mediavam a analgesia por placebo na dor. Porém este estudo foi criticado, pois não recorreu a um grupo controlo de história natural. Para além disso, para determinar que a naloxona por si só não afetava diretamente a dor em estudo, ela deveria ter sido administrada fora da vista do paciente.

Em 1983, e corrigindo os erros feitos por Levine e colegas em 1978, Gracely e colegas (73) descobriram que a naloxona e os efeitos provocados pelo placebo eram independentes e separados. Um grupo de pacientes, também submetidos a uma cirurgia dentária, recebeu 10 mg de naloxona, através de uma injeção escondida aplicada numa linha intravenosa. Logo

---

<sup>6</sup> Para uma revisão mais aprofundada da participação dos estudos de neuroimagem na compreensão da modulação descendente da dor, consultar 6. Bruehl S, Burns JW, Chung OY, Chont M. Pain-related effects of trait anger expression: neural substrates and the role of endogenous opioid mechanisms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2009;33(3):475-91.

depois, foi-lhes dado um agonista opioide (fentanil) ou um placebo (solução salina), estes à vista do paciente. A analgesia proporcionada pelo fentanil foi bloqueada pela naloxona, não se encontrou porém uma interação significativa entre a naloxona e o placebo. Indicando que o EP poderia ocorrer mesmo com o bloqueio dos OE.

Neste ponto, não se sabia se os OE tinham realmente algum papel no EPA. Dois estudos vieram clarificar esta situação, dando evidências que, pelo menos parcialmente, a analgesia por placebo era revertida pela naloxona. No primeiro estudo Grevert e colegas (74), usaram o modelo experimental de dor isquêmica do braço, chamada técnica do torniquete com esforço submáximo (75). Sabe-se que este tipo de dor não é influenciado pela naloxona (76). A dor isquêmica foi provocada antes da administração do placebo e 1 hora depois da aplicação deste. Foi dado aos sujeitos uma injeção de solução salina (não escondida) e foi-lhes dito que era um analgésico (placebo). Quarenta minutos depois, num procedimento duplo cego, foi-lhes dado uma injeção escondida de naloxona ou solução salina. Este procedimento foi feito uma vez por semana, em três semanas consecutivas. Demonstraram, que os sujeitos que receberam naloxona apresentavam uma menor analgesia do que aqueles que receberam o placebo. Apesar de pequeno, este efeito da naloxona na analgesia foi significativo. O facto de a naloxona não reverter completamente o EP, poder-se-á explicar pelo envolvimento de componentes não opioides no EPA (51). No segundo estudo, Levine e Gordon (77), corrigindo os erros feitos em 1978, demonstraram também a diminuição da analgesia por placebo pela naloxona, confirmando os achados de Grevert e colegas.

Para determinar a influência de uma droga no EP, é necessário um desenho experimental complexo. Existem por isso critérios que devem ser cumpridos. Primeiro: existência de um grupo não tratado, de história natural; segundo: deve ser usada uma injeção escondida, para assegurar que ela, por si só, não influencie a dor; terceiro: deve ser usada a dose apropriada de droga (temos o exemplo da dualidade analgesia/hiperalgesia da naloxona); quarto: a experiência deve ser feita em grupos diferentes de sujeitos, para evitar, por exemplo, a ideia de que o placebo não funciona quando a naloxona é administrada (46).

Em 1996, usando todos estes critérios, Benedetti (78) analisou o efeito da naloxona e da proglumida (um antagonista da colecistocinina) no EPA. Utilizou, também, o modelo experimental da técnica do torniquete. Os indivíduos receberam uma injeção não escondida de solução salina, tendo-lhes sido dito que era um poderoso analgésico que atuaria em 20 minutos. Quinze minutos depois desta injeção, ou seja, 5 minutos antes de começar a analgesia esperada, foi administrada uma injeção escondida de solução salina ou naloxona. Os indivíduos a ser estudados sabiam então apenas da primeira das injeções. A primeira injeção, de solução salina, provocou uma diminuição da intensidade da dor (EP), que foi mantida durante 45 minutos. Por outro lado, a injeção escondida de naloxona reverteu a resposta analgésica do placebo pois, neste caso, a intensidade da dor reportada pelos indivíduos foi maior. Medindo aos 45 minutos a intensidade de dor, no grupo com administração da naloxona foi de 7, numa escala numérica da dor de 0 a 10, contra 5 quando era administrada solução salina (o grupo da história natural apresentou uma intensidade de dor sempre superior a 7).

Conseguiram assim, demonstrar de forma inequívoca, que o efeito analgésico pode ser revertido pela administração de 10 mg de naloxona. Confirmando desta forma os resultados obtidos por Grevert e colegas em 1983 e por Levine e Gordon em 1984, que mostraram que os OE estão envolvidos no EPA (46).

## Abordagem imagiológica

Os exames de imagem, tais como a TC, a RM e a TEP, deram-nos uma visão mais direta e pormenorizada, não só da estrutura do cérebro, mas também da forma como ele funciona.

No estudo do sistema dos OE e, particularmente, na influencia que este sistema tem no EPA, representaram um enorme avanço.

Petrovic e colegas (2002) (79) estudaram o efeito dum agonista opioide, remifentanil, no fluxo sanguíneo de diferentes zonas cerebrais, medidos por TEP. Um aumento de fluxo sanguíneo traduzia uma maior taxa metabólica, logo uma maior atividade dessa região cerebral. Detetaram um aumento da atividade no CCA. Esta ativação sobrepôs-se à observada em condições de placebo provocadas pela expectativa. A administração de um placebo aumenta a correlação entre a atividade desta zona cortical com a SCP. Sujeitos que apresentavam um maior fluxo sanguíneo com a administração do remifentanil, mostraram uma maior resposta analgésica ao placebo, sugerindo que as diferenças analgésicas individuais na resposta ao placebo, poderão envolver diferenças na concentração ou funcionamento dos RO.

Wager e colegas (2004) (50), usando a RMf, mostraram a existência de uma diminuição da atividade de zonas cerebrais sensíveis à dor - TA, CCA e CI - relacionada com a analgesia por placebo. Encontraram também, aumento da atividade, relacionada com a antecipação da dor, no CPF.

Bingel e colegas (80) usando uma abordagem similar, detetaram o efeito oposto no CCA, verificando que este se ativava. Verificaram também, um aumento da conectividade entre esta região, a amígdala e a SCP. Outro trabalho, usando a acupuntura falsa como placebo, demonstrou um aumento na atividade do CCA, CPF, CI, giro supramarginal e CP inferior (81).

Estas diferenças parecem ser difíceis de conciliar, porém várias diferenças metodológicas entre os estudos foram identificadas (81). Entre elas, o critério de escolha dos sujeitos em estudo. No estudo de Wager e colegas (50), apenas os indivíduos que tinham apresentado anteriormente analgesia substancial provocada pelo placebo eram incluídos no estudo. Por outro lado, nos outros dois estudos, não foram eliminados os sujeitos que não responderam à analgesia proporcionada pelo placebo (80, 81). Em 2005 Raz e colegas (82) concluíram que apenas os indivíduos facilmente hipnotizáveis apresentavam redução do fluxo sanguíneo no CCAr, contrastando com o aumento verificado nos que respondiam pouco à

hipnose. Isto sugere que as diferenças observadas entre estes três estudos (50) (80) (81) se deveram às diferenças de pré-seleção dos indivíduos a ser estudados.

Zubieta e colegas (56) em 2005, estudaram a ativação regional dos recetores mu, utilizando a TEP e um radiomarcador seletivo destes RO ( $[^{11}\text{C}]$ carfentanil). Foi observado que a administração do placebo, com a expectativa de analgesia, estava associada a uma ativação significativa dos recetores mu, tanto nas regiões sub como nas supra-espinhais. Esta ativação foi verificada no CCA pré e pós genual, CPF dorso lateral, CI anterior e NA. Essas regiões foram relacionadas com menores intensidades de dor (CCAr, CI e NA), menor desconforto (CCA), redução nas pontuações do McGill Pain Questionnaire sensorial (CCAr, CI), afetivo (NA) e total (CCAr, CI). A magnitude de ativação do CCAr foi positivamente correlacionado com o aumento da tolerância à dor. Este foi o primeiro estudo que deu evidências diretas de que a utilização dum placebo analgésico ativa o sistema dos OE e os recetores mu num grande número de zonas cerebrais.

O CPF dorso lateral parecia estar envolvido com a expectativa da analgesia proporcionada pelo placebo. Estes resultados vão de encontro à hipótese lançada por Fuster, em que ele está envolvido nos ajustamentos cognitivos às informações ambientais, para o controlo do comportamento (83).

Num estudo posterior de Wager e Zubieta (84), foi utilizada a RMf para detetar o mesmo radiomarcador, de forma a medir a quantidade regional de recetores mu. Foi aplicado um estímulo térmico doloroso. Este estímulo tinha a mesma temperatura, tanto no grupo placebo, como no grupo controlo, diferindo apenas nas instruções dadas aos indivíduos. O desenho do estudo permitiu criar quatro grupos: grupo placebo com calor doloroso; grupo controlo com calor doloroso; grupo placebo com calor não doloroso; grupo controlo com calor não doloroso.

Concluiu-se que o tratamento com placebo potencia a libertação de OE associados à antecipação da dor ou à libertação, por si só, de OE. Foi verificado um aumento na neurotransmissão de OE em zonas, que através de estudos anteriores de regulação cognitiva e por placebo, se sabia serem ricas em OE, tais como SCP, amígdala, COF, CCAr, CPF lateral e CI (84).

Foram detetadas dois padrões diferentes: o primeiro, o placebo induzia um aumento da atividade opioide, específica para o calor, no COF, amígdala e CCAr. A atividade opioide, em muitas destas regiões, foi correlacionada com a analgesia por placebo. Um segundo padrão foi verificado, na redução da atividade opioide, induzida por placebo, na antecipação da dor, no CCA pré-genual, CI e CPF. Este segundo padrão foi interpretado como uma possível resposta dos OE à ansiedade. A ansiedade antecipatória poderia resultar na libertação de opioides, bloqueável pelo placebo. Porém os autores do estudo consideraram que esta interpretação é ainda especulativa. Esta resposta antecipatória dos OE não foi correlacionada com a analgesia por placebo (84).

Verificaram também que o tratamento com placebo aumentava a conectividade entre o CCAr com a SCP, aumentando também a integração funcional entre regiões límbicas e entre

estas e regiões do CPF. A libertação de OE, verificada também em regiões cerebrais afetivas, mostra que a expectativa de alívio da dor regula tanto circuitos nociceptivos como afetivos (84).

## **Efeitos colaterais do efeito placebo analgésico**

A ativação dos OE mostrou ter efeitos secundários normalmente associados a opioides exógenos como a morfina.

Num estudo, feito a pacientes pós-cirúrgicos, comparou-se a depressão respiratória provocada pela buprenorfina e pelo EP. Eles receberam doses analgésicas de buprenorfina, tendo esta deprimido a função respiratória, como seria de esperar. O placebo mimetizou a mesma depressão respiratória. Esta diminuição da função respiratória foi invertida pela naloxona, indicando o envolvimento dos OE (85).

Verificou-se também que havia uma redução da frequência cardíaca durante a analgesia provocada por placebo. A redução da frequência cardíaca foi antagonizada pela naloxona (86).

Estas evidências, juntamente com farmacológicas e imagiológicas já referidas, suportam a ideia de que os OE desempenham um papel no desenvolvimento do EPA.

## Conclusão

A palavra placebo está nos dicionários médicos desde o século XIX. Apesar da presença na literatura médica há várias décadas, o efeito provocado por ele ainda não é totalmente compreendido, tanto a nível da investigação básica, como nas intervenções clínicas. Apenas na segunda metade do século XX foi criada uma abordagem neurobiológica, que evidenciou a tradução fisiológica do efeito placebo analgésico.

Uma das maiores dificuldades no estudo do efeito placebo é a sua grande heterogeneidade. Em primeiro lugar, existem vários tipos de efeito placebo, com apresentação e fisiologia muito diversificadas, desde aquele envolvido na doença de Parkinson até ao discutido nesta revisão, por exemplo. Em segundo lugar, existem grandes variedades interindividuais. Estas resultam das influências que diversos fatores têm no efeito placebo, como biológicos, sociais, culturais e clínicos. Todos estes fatores contribuem para que haja diferentes respostas ao placebo em consequência de estímulos semelhantes. Estas diferenças evidenciam-se, não apenas interindividualmente, mas também no mesmo indivíduo, dependendo do momento da observação. Isto mostra que o processo de desenvolvimento do efeito placebo não é temporalmente estático, alterando-se de acordo com as diferentes variáveis que o influenciam.

Percebe-se também a dificuldade em investigar este fenómeno e dos processos biológicos subjacentes, quando verificamos que os resultados de estudos com desenhos semelhantes e em que apenas o critério de seleção dos sujeitos foi diferente, provocou respostas opostas nas mesmas regiões cerebrais.

Outra dificuldade, para melhor o compreender, são os problemas éticos que se põe quando se tenta estudá-lo. Por exemplo, e tendo em conta os estudos para avaliar o efeito placebo analgésico, por um lado o indivíduo, que é sujeito ao estudo, não pode saber que lhe está a ser administrado um placebo, por outro, é difícil saber até que ponto é eticamente aceitável submeter um indivíduo a um placebo, que por definição não tem efeito analgésico conhecido.

Conhecem-se diversas substâncias químicas envolvidas no efeito placebo analgésico. Todas elas terão um papel no seu desenvolvimento, sendo ativadas em conjunto e influenciando-se mutuamente. Não restam atualmente dúvidas quanto ao envolvimento dos opioides endógenos no EP e que têm um papel importante no seu desenvolvimento. Conhecem-se várias funções que desempenhadas pelos OE no nosso organismo, que vão desde as respostas ao *stress*, até ao envolvimento em respostas imunológicas. Na analgesia, acredita-se que estejam envolvidos no efeito placebo provocado pela expectativa. De notar, que os opioides endógenos estão envolvidos em processos de aquisição de memória, podendo assim participar em processos como a experiência pessoal, que influenciam a expectativa.

Apesar de se pensar que este efeito se possa desenvolver sem o recurso à expectativa, com o condicionamento clássico apenas, há evidências que ele será muito mais poderoso quando aquela está presente. Acredita-se que a presença da expectativa de analgesia funcionará como um catalisador, facilitando um processo de condicionamento futuro.

Os primeiros estudos farmacológicos, feitos nas décadas de 70 e 80, forneceram as primeiras evidências práticas do envolvimento dos opioides endógenos no efeito placebo analgésico, fornecendo igualmente dados que ajudaram a sustentar a existência de uma tradução fisiológica do efeito placebo analgésico. Pela primeira vez houve uma evidência de que o efeito placebo se desenvolvia a partir de substâncias conhecidas do nosso organismo. E assim se perdeu parte da incerteza que o envolvia.

Mas foram os estudos de imagem que permitiram o grande salto na compreensão deste efeito e do papel que os opioides endógenos têm nele. Permitiram visualizar a rede neuronal por onde viajam os opioides endógenos quando se desenvolve o efeito placebo analgésico. Não sendo este efeito completamente compreendido, este tipo de estudos representam uma das maiores esperanças para descobrir os seus mecanismos. Mostraram que o córtex cingulado anterior poderá funcionar como um ativador dos opioides endógenos na analgesia por placebo, desempenhando um papel central no processo. Outras zonas cerebrais mostram também estar envolvidas. Esta grande diversidade de ativação cerebral traduzirá, muito provavelmente, a grande quantidade de fatores que influenciam o desenvolvimento do efeito placebo analgésico. Por exemplo, constatou-se a ativação de zonas relacionadas com a antecipação da dor, como o córtex pré-frontal, ou zonas afetivas como as regiões límbicas. A libertação de opioides endógenos na antecipação da dor pode funcionar como mecanismo de defesa, em que o corpo, antecipando a agressão, se prepara para a sensação nociva, tentando diminuir a sua percepção.

O facto de estes estudos serem muito caros e, por consequência, apenas poderem ser feitos a um número muito reduzido de sujeitos (normalmente uma ou duas dezenas), pode constituir um fator limitante, criando mais dificuldade na identificação de padrões neurais que estejam presentes na população em geral. O já referido problema da seleção dos indivíduos a serem estudados, dada a diversidade de padrões de ativação neural, reforça a importância da realização de mais estudos de imagem e que estes tenham muito mais participantes.

Nestes estudos foram tidos em conta principalmente os recetores mu. Os outros recetores opioides são menos conhecidos que estes, ficando sem se saber se desempenharão algum papel no desenvolvimento do efeito placebo.

Como vimos, o efeito placebo resulta da interação de diferentes substâncias químicas, não só opioides endógenos. Futuros estudos de imagem, que consigam captar a interação destas diferentes substâncias, poderão ser mais clarificadores.

Percebe-se assim, a importância das estruturas supra-espinhais no desenvolvimento do efeito placebo analgésico. São elas o ponto de origem e as que mais o influenciam, em

detrimento da noção, que por vezes existe, de uma maior importância da interação dos opioides endógenos com a medula espinhal.

A melhor compreensão, da interação dos opioides endógenos com o efeito placebo analgésico, pode representar uma grande oportunidade para a melhoria terapêutica dos pacientes com dor aguda ou crónica. Por um lado, ao compreender-se melhor os fenómenos psicológicos que estão por trás do efeito placebo, poder-se-ão criar contextos mais propícios para a potenciação terapêutica. Por outro, ao compreender-se melhor as vias neuronais em que os opioides endógenos atuam, e sabendo-se que eles se ligam aos mesmos recetores dos opioides exógenos, poder-se-ão criar drogas mais eficazes no alívio da dor.

## Referências Bibliográficas

1. Price DD, Finniss DG, Benedetti F. A comprehensive review of the placebo effect: recent advances and current thought. *Annu Rev Psychol.* 2008;59:565-90.
2. Stewart-Williams S. The placebo puzzle: putting together the pieces. *Health psychology : official journal of the Division of Health Psychology, American Psychological Association.* 2004;23(2):198-206.
3. Finniss DG, Kaptchuk TJ, Miller F, Benedetti F. Biological, clinical, and ethical advances of placebo effects. *The Lancet.* 2010;375(9715):686-95.
4. Levine JD, Gordon NC, Fields HL. The mechanism of placebo analgesia. *Lancet.* 1978;2(8091):654-7.
5. Zubieta JK, Stohler CS. Neurobiological mechanisms of placebo responses. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2009;1156(1):198-210.
6. Bruehl S, Burns JW, Chung OY, Chont M. Pain-related effects of trait anger expression: neural substrates and the role of endogenous opioid mechanisms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2009;33(3):475-91.
7. Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, Watson S. Endogenous opioids: overview and current issues. *Drug and alcohol dependence.* 1998;51(1-2):127-40.
8. Akil H, Mayer DJ, Liebeskind JC. Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. *Science.* 1976;191(4230):961-2.
9. Akil H, Mayer DJ, Liebeskind JC. [Comparison in the rat between analgesia induced by stimulation of periaqueducal gray matter and morphine analgesia]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences Serie D: Sciences naturelles.* 1972;274(26):3603-5.
10. Hutchinson M, Kosterlitz HW, Leslie FM, Waterfield AA. Assessment in the guinea-pig ileum and mouse vas deferens of benzomorphans which have strong antinociceptive activity but do not substitute for morphine in the dependent monkey. *British journal of pharmacology.* 1975;55(4):541-6.
11. Birdsall NJ, Hulme EC. C fragment of lipotropin has a high affinity for brain opiate receptors. *Nature.* 1976;260(5554):793-5.
12. Goldstein A, Fischli W, Lowney LI, Hunkapiller M, Hood L. Porcine pituitary dynorphin: complete amino acid sequence of the biologically active heptadecapeptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1981;78(11):7219-23.
13. Erspamer V, Melchiorri P, Falconieri-Erspamer G, Negri L, Corsi R, Severini C, et al. Deltorphins: a family of naturally occurring peptides with high affinity and selectivity for delta opioid binding sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1989;86(13):5188-92.
14. Beckett A, Casy A. Synthetic analgesics: stereochemical considerations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 1954;6(1):986-1001.

15. Portoghese PS. Stereochemical factors and receptor interactions associated with narcotic analgesics. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1966;55(9):865-87.
16. Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*. 1973;179(77):1011-4.
17. Simon EJ, Hiller JM, Edelman I. Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic [3H] etorphine to rat-brain homogenate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1973;70(7):1947-9.
18. Terenius L. Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta pharmacologica et toxicologica*. 1973;32(3-4):317-20.
19. Snyder SH, Pasternak GW. Historical review: opioid receptors. *Trends in pharmacological sciences*. 2003;24(4):198-205.
20. Martin WR, Eades CG, Thompson JA, Huppler RE, Gilbert PE. The effects of morphine- and nalorphine- like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1976;197(3):517-32.
21. Brownstein MJ. A brief history of opiates, opioid peptides, and opioid receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(12):5391.
22. Lord JA, Waterfield AA, Hughes J, Kosterlitz HW. Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. *Nature*. 1977;267(5611):495-9.
23. Chang KJ, Cuatrecasas P. Multiple opiate receptors. Enkephalins and morphine bind to receptors of different specificity. *The Journal of biological chemistry*. 1979;254(8):2610-8.
24. Rittner HL, Brack A, Machelska H, Mousa SA, Bauer M, Schafer M, et al. Opioid peptide-expressing leukocytes: identification, recruitment, and simultaneously increasing inhibition of inflammatory pain. *Anesthesiology*. 2001;95(2):500-8.
25. C. Zöllner CS. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2007;177:32 - 45.
26. McDonald J, Lambert DG. Opioid mechanisms and opioid drugs. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 2011;12(1):31-5.
27. Bianchi E, Guarna M, Tagliamonte A. Immunocytochemical localization of endogenous codeine and morphine. *Advances in neuroimmunology*. 1994;4(2):83-92.
28. Fricchione G, Zhu W, Cadet P, Mantione KJ, Bromfield E, Madsen J, et al. Identification of endogenous morphine and a mu3-like opiate alkaloid receptor in human brain tissue taken from a patient with intractable complex partial epilepsy. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2008;14(6):Cs45-9.
29. Meijerink WJ, Molina PE, Abumrad NN. Mammalian opiate alkaloid synthesis: lessons derived from plant biochemistry. *Shock (Augusta, Ga)*. 1999;12(3):165-73.
30. Laux A, Delalande F, Mouheiche J, Stuber D, Van Dorsselaer A, Bianchi E, et al. Localization of endogenous morphine-like compounds in the mouse spinal cord. *The Journal of comparative neurology*. 2012;520(7):1547-61.

31. Laux A, Muller AH, Miehe M, Dirrig-Grosch S, Deloulme JC, Delalande F, et al. Mapping of endogenous morphine-like compounds in the adult mouse brain: Evidence of their localization in astrocytes and GABAergic cells. *The Journal of comparative neurology*. 2011;519(12):2390-416.
32. Laux-Biehlmann A, Mouheiche J, Vérièpe J, Goumon Y. Endogenous Morphine and its Metabolites in Mammals: History, Synthesis, Localization and Perspectives. *Neuroscience*. 2012;95-117.
33. Stein C, Schafer M, Machelska H. Attacking pain at its source: new perspectives on opioids. *Nature medicine*. 2003;9(8):1003-8.
34. Mousa SA, Machelska H, Schafer M, Stein C. Co-expression of beta-endorphin with adhesion molecules in a model of inflammatory pain. *Journal of neuroimmunology*. 2000;108(1-2):160-70.
35. Slominski A, Wortsman J, Luger T, Paus R, Solomon S. Corticotropin releasing hormone and proopiomelanocortin involvement in the cutaneous response to stress. *Physiological reviews*. 2000;80(3):979-1020.
36. Gavériaux-Ruff C, Kieffer B. Opioid receptors: gene structure and function. *Opioids in pain control: basic and clinical aspects*. 1999:1-20.
37. Massotte D, Kieffer BL. The second extracellular loop: a damper for G protein-coupled receptors? *Nature structural & molecular biology*. 2005;12(4):287-8.
38. Klco JM, Wiegand CB, Narzinski K, Baranski TJ. Essential role for the second extracellular loop in C5a receptor activation. *Nature structural & molecular biology*. 2005;12(4):320-6.
39. Surratt CK, Johnson PS, Moriwaki A, Seidleck BK, Blaschak CJ, Wang JB, et al.  $\mu$ -opioid receptor. Charged transmembrane domain amino acids are critical for agonist recognition and intrinsic activity. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269(32):20548-53.
40. Hulme EC, Lu ZL, Ward SD, Allman K, Curtis CA. The conformational switch in 7-transmembrane receptors: the muscarinic receptor paradigm. *European journal of pharmacology*. 1999;375(1-3):247-60.
41. Koch T, Schulz S, Pfeiffer M, Klutzny M, Schroder H, Kahl E, et al. C-terminal splice variants of the mouse  $\mu$ -opioid receptor differ in morphine-induced internalization and receptor resensitization. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(33):31408-14.
42. Nestler EJ, Duman RS. Heterotrimeric G Proteins. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 7 ed2005. p. 335-42.
43. Gold MS, Levine JD. DAMGO inhibits prostaglandin E<sub>2</sub>-induced potentiation of a TTX-resistant Na<sup>+</sup> current in rat sensory neurons in vitro. *Neuroscience Letters*. 1996;212(2):83-6.
44. Mao J. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain research reviews*. 1999;30(3):289-304.
45. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior: 2011. *Peptides*. 2012.
46. Benedetti F, Amanzio M. The neurobiology of placebo analgesia: from endogenous opioids to cholecystokinin. *Progress in Neurobiology*. 1997;52(2):109-25.

47. Siegel S. Explanatory mechanisms for placebo effects: Pavlovian conditioning. *The science of the placebo: toward an interdisciplinary research agenda* London: BMJ Books. 2002:133-57.
48. Price DD, Finniss DG, Benedetti F. A comprehensive review of the placebo effect: recent advances and current thought. *Annual review of psychology*. 2008;59:565-90.
49. Shapiro A. Semantics of the placebo. *Psych Quar*. 1968;42(4):653-95.
50. Wager TD, Rilling JK, Smith EE, Sokolik A, Casey KL, Davidson RJ, et al. Placebo-induced changes in FMRI in the anticipation and experience of pain. *Science*. 2004;303(5661):1162-7.
51. Colloca L, Klinger R, Flor H, Bingel U. Placebo analgesia: Psychological and neurobiological mechanisms. *Pain*. 2013;154(4):511.
52. Benedetti F, Amanzio M, Rosato R, Blanchard C. Nonopioid placebo analgesia is mediated by CB1 cannabinoid receptors. *Nature medicine*. 2011;17(10):1228-30.
53. Benedetti F, Amanzio M, Vighetti S, Asteggiano G. The biochemical and neuroendocrine bases of the hyperalgesic nocebo effect. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006;26(46):12014-22.
54. Benedetti F, Amanzio M. The neurobiology of placebo analgesia: from endogenous opioids to cholecystokinin. *Prog Neurobiol*. 1997;52(2):109-25.
55. Scott DJ, Stohler CS, Egnatuk CM, Wang H, Koeppe RA, Zubieta J-K. Placebo and nocebo effects are defined by opposite opioid and dopaminergic responses. *Archives of general psychiatry*. 2008;65(2):220.
56. Zubieta J-K, Bueller JA, Jackson LR, Scott DJ, Xu Y, Koeppe RA, et al. Placebo effects mediated by endogenous opioid activity on  $\mu$ -opioid receptors. *The Journal of neuroscience*. 2005;25(34):7754-62.
57. Amanzio M, Benedetti F. Neuropharmacological dissection of placebo analgesia: expectation-activated opioid systems versus conditioning-activated specific subsystems. *The Journal of Neuroscience*. 1999;19(1):484-94.
58. Montgomery GH, Kirsch I. Classical conditioning and the placebo effect. *Pain*. 1997;72(1):107-13.
59. Price DD, Milling LS, Kirsch I, Duff A, Montgomery GH, Nicholls SS. An analysis of factors that contribute to the magnitude of placebo analgesia in an experimental paradigm. *Pain*. 1999;83(2):147-56.
60. De Pascalis V, Chiaradia C, Carotenuto E. The contribution of suggestibility and expectation to placebo analgesia phenomenon in an experimental setting. *Pain*. 2002;96(3):393-402.
61. Colloca L, Benedetti F. How prior experience shapes placebo analgesia. *Pain*. 2006;124(1):126-33.
62. Colloca L, Benedetti F. Placebo analgesia induced by social observational learning. *Pain*. 2009;144(1):28-34.

63. Colloca L, Lopiano L, Lanotte M, Benedetti F. Overt versus covert treatment for pain, anxiety, and Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2004;3(11):679-84.
64. Price DD. Assessing placebo effects without placebo groups: an untapped possibility? *Pain*. 2001;90(3):201-3.
65. Pollo A, Amanzio M, Arslanian A, Casadio C, Maggi G, Benedetti F. Response expectancies in placebo analgesia and their clinical relevance. *Pain*. 2001;93(1):77-84.
66. Gracely RH, Dubner R, Deeter WR, Wolskee PJ. Clinicians' expectations influence placebo analgesia. *Lancet*. 1985;1(8419):43.
67. Benedetti F, Arduino C, Costa S, Vighetti S, Tarenzi L, Rainero I, et al. Loss of expectation-related mechanisms in Alzheimer's disease makes analgesic therapies less effective. *Pain*. 2006;121(1):133-44.
68. Tracey I, Mantyh PW. The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*. 2007;55(3):377-91.
69. Melzack R. From the gate to the neuromatrix. *Pain*. 1999;82:S121-S6.
70. Hudspith MJ, Siddall PJ, Munglani R. Chapter 23 - Physiology of pain. *Foundations of Anesthesia (Second Edition)*. Edinburgh: Mosby; 2006. p. 267-85.
71. Perl ER. Pain mechanisms: a commentary on concepts and issues. *Progress in neurobiology*. 2011;94(1):20-38.
72. Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain*. 1995;118(1):279-306.
73. Gracely RH, Dubner R, Wolskee PJ, Deeter WR. Placebo and naloxone can alter post-surgical pain by separate mechanisms. 1983:264-5.
74. Grevert P, Albert LH, Goldstein A. Partial antagonism of placebo analgesia by naloxone. *Pain*. 1983;16(2):129-43.
75. Smith GM, Lowenstein E, Hubbard JH, Beecher HK. Experimental pain produced by the submaximum effort tourniquet technique: further evidence of validity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1968;163(2):468-74.
76. Grevert P, Goldstein A. Endorphins: naloxone fails to alter experimental pain or mood in humans. *Science*. 1978;199(4333):1093-5.
77. Levine JD, Gordon NC. Influence of the method of drug administration on analgesic response. *Nature*. 1984;312(5996):755-6.
78. Benedetti F. The opposite effects of the opiate antagonist naloxone and the cholecystokinin antagonist proglumide on placebo analgesia. *Pain*. 1996;64(3):535-43.
79. Petrovic P, Kalso E, Petersson KM, Ingvar M. Placebo and opioid analgesia--imaging a shared neuronal network. *Science*. 2002;295(5560):1737-40.
80. Bingel U, Lorenz J, Schoell E, Weiller C, Büchel C. Mechanisms of placebo analgesia: rACC recruitment of a subcortical antinociceptive network. *Pain*. 2006;120(1):8-15.
81. Kong J, Gollub RL, Rosman IS, Webb JM, Vangel MG, Kirsch I, et al. Brain activity associated with expectancy-enhanced placebo analgesia as measured by functional magnetic resonance imaging. *The Journal of neuroscience*. 2006;26(2):381-8.

82. Raz A, Fan J, Posner MI. Hypnotic suggestion reduces conflict in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(28):9978-83.
83. Fuster JM. Executive frontal functions. *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung Experimentation cerebrale*. 2000;133(1):66-70.
84. Wager TD, Scott DJ, Zubieta J-K. Placebo effects on human  $\mu$ -opioid activity during pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(26):11056-61.
85. Benedetti F, Amanzio M, Baldi S, Casadio C, Cavallo A, Mancuso M, et al. The specific effects of prior opioid exposure on placebo analgesia and placebo respiratory depression. *Pain*. 1998;75(2-3):313-9.
86. Pollo A, Vighetti S, Rainero I, Benedetti F. Placebo analgesia and the heart. *Pain*. 2003;102(1):125-33.