

## LA TRANSMISIÓN DEL DOLOR Y EL PAPEL DE LA SUBSTANCIA P +

\*BLANCA ALICIA DELGADO-COELLO

\*\*JORGE BRAVO-MARTÍNEZ

\*\*\*HUGO SOLÍS-ORTIZ

### RESUMEN

El dolor y los mecanismos que lo regulan, son fenómenos de gran interés dadas sus implicaciones sociales y clínicas. Aunque el presente trabajo no es completo, se intenta mostrar el conocimiento actual sobre aspectos relacionados con el estudio del dolor. Se incluye una ubicación del dolor desde un punto de vista biológico y se resumen los elementos anatómicos que intervienen en su transmisión. La transmisión del dolor es muy compleja por la cantidad de neurotransmisores que coexisten en regiones como la substancia gelatinosa (SG) en la médula espinal, y en la substancia gris periacueductal (SGP) en el mesencéfalo. Actualmente se sabe que la substancia P (SP) está involucrada en la transmisión de la información nociceptiva. En el presente trabajo se hace énfasis en los hallazgos que apoyan su intervención más como neurotransmisor que como modulador sensorial.

**Palabras clave:** Dolor, modulación, nocicepción, substancia gelatinosa, substancia gris periacueductal, substancia P, taquiquininas.

### SUMMARY

Pain and its regulatory mechanisms, are some of the phenomena more interesting for the human due to its social and clinic implications. This paper is far from being comprehensive, however the aim was to show the present state of the knowledge about some aspects related with the study of pain. We included a definition of pain from a biological view and we summarized the anatomic elements involved in the transmission of nociceptive signals. The transmission of pain is very complex since the coexistence of many neurotransmitters in different areas such as the substantia gelatinosa (SG) in the spinal cord, and the periaqueductal gray (PAG) in the midbrain. The substance P (SP) is well documented to be involved in the transmission of nociceptive information. We devoted partially this review to emphasize the findings that support its sensorial role better as neurotransmitter than modulator.

**Key words:** pain, modulation, nociception, substantia gelatinosa, periaqueductal gray substance, substance P, tachykinins.

**E**l dolor es una de las sensaciones que puede manifestarse conductualmente como respuesta a multitud de estímulos o estados patológicos y que tiene gran importancia, debido a que es un mecanismo que informa al organismo de alguna anomalía, por lo que representa un medio de defensa natural. En realidad, a pesar

de parecer una sensación tan sencilla de distinguir de manera innata, es difícil su definición y más aún, hacer una distinción con lo que se conoce como nocicepción. La nocicepción se define como la capacidad de los animales para detectar y responder a estímulos que pueden comprometer su integridad. La dificultad en discernir

\*M. en C. Área: Biología Celular.

\*\*M. en C. Ciencias Biomédicas (Área Fisiología).

\*\*\*Dr. en Ciencias Biomédicas (Área Fisiología).

+ El presente trabajo fue parcialmente apoyado por el Programa Universitario de Investigación en Salud (P.U.I.S.), de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Av. Insurgentes Sur 3877. Col. La Fama. Tlalpan C.P. 14269, México, D.F.

Laboratorio de Fisiología del Control Motor.

Correspondencia: M.C. Blanca Alicia Delgado-Coello. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Laboratorio de Fisiología del Control Motor. Av. Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama. Tlalpan 14269, México, D.F. México.

Recibido: 8 de abril de 1991. Aceptado para publicación: 6 de mayo de 1991.

entre uno y otro concepto, surge entre otras cosas, por el hecho de que la actividad inducida en nociceptores y rutas nociceptivas por estímulos nocivos, no debe considerarse necesariamente como indicativa de dolor. Por ejemplo, en el hombre, los nociceptores responden antes de que el estímulo se perciba como doloroso. Según la Asociación para el Estudio del Dolor, puede definirse al dolor (en humanos) como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular actual o potencial, o descrita en términos de tal daño.<sup>1</sup> En los demás animales, el dolor se concibe como una experiencia sensorial aversiva provocada por lesión actual o potencial que provoca reacciones motoras y vegetativas protectoras, tal tipo de experiencias, resulta en una evasión aprendida y puede modificar la conducta propia de la especie, inclusive la conducta social.<sup>2</sup>

Lo cierto, es que las experiencias dolorosas (o parecidas a) se manifiestan en formas muy simples o complejas desde organismos protozoarios, invertebrados simples (celenterados y platelmintos) y avanzados (moluscos, anélidos, equinodermos y artrópodos) y por supuesto, en vertebrados. La complejidad de la respuesta, se correlaciona directamente con la anatomía de los organismos. En platelmintos, los cuales ya poseen un sistema nervioso central, se han observado conductas para evitar estímulos aversivos por mecanismos que implican respuestas centrales y periféricas. En moluscos, cuyo sistema nervioso puede considerarse el más sofisticado de los invertebrados (principalmente cefalópodos), se aprecian conductas complejas y una capacidad de aprendizaje impresionantes.

Asimismo, se han identificado los mismos opioides (endorfinas, encefalinas y dinorfinas) que se sabe tienen efectos analgésicos en mamíferos, en invertebrados, en particular en moluscos,<sup>3-7</sup> lo cual tiene algunas implicaciones evolutivas de interés. En primer término, sugiere una conservación filogenética de la estructura y distribución de estos péptidos. En segundo término, en vista de los orígenes polifiléticos de los invertebrados, se sugiere que la modulación opioide de respuestas aversivas y de la nocicepción, surgió en una etapa evolutiva temprana y que es improbable que aparecieran tales mecanismos de modulación de manera independiente en varios phyla.<sup>8</sup>

En el caso de los vertebrados, los cuales despliegan una variedad de respuestas conductuales y fisiológicas a estímulos nocivos, se involucran muchos parámetros de variación. Por ejemplo, la nocicepción y la analgesia dependerán de factores bióticos endo y exógenos como la cepa, sexo, edad, estado de desarrollo y por supuesto, variaciones individuales de los organismos en estudio.<sup>9</sup> Debe tenerse en mente, que aunque la nocicepción se mide como una respuesta aislada, es solo parte de la respuesta conductual y fisiológica integrada de los animales a situaciones de estrés.

Es importante señalar la utilidad que han tenido los

modelos experimentales para el estudio del dolor, desde 1929 en que se hizo valoración de analgésicos en animales, principalmente en roedores.<sup>12</sup> Haffner propuso el modelo en el que se emplea una pinza arterial que prensa la cola del animal. Actualmente se conocen más de cien modelos. Tales modelos difieren entre sí, en el tipo de estímulo aplicado (mecánico, térmico, eléctrico o químico), sitio de estimulación, especie animal, tipo de respuesta indicadora del dolor, momento de administración del fármaco en estudio y criterio de efecto analgésico. Debido a que estos modelos involucran diferentes sustratos fisiológicos (espinal versus supraespinal), se han originado discrepancias en la interpretación de los mecanismos mediadores de conductas nociceptivas. Algunas de las pruebas más utilizadas hoy en día, son la de la sacudida de la cola (tail-flick) y la de la plancha caliente (hot-plate), que evalúan dolor fálico, la de la formalina y la de substancia P (SP) con las que se evalúa dolor tónico. Por un lado, la prueba del tail-flick evalúa un reflejo mediado espinalmente y por otro lado, la del hot-plate se refiere a un reflejo mediado por estructuras supraespinales. Las pruebas de la formalina y la de SP difieren de aquellas en que se utiliza un dolor moderado y continuo (mediante un estímulo químico), más que niveles umbrales de dolor. Por lo tanto, se considera que estas pruebas pueden ser relevantes en el estudio del dolor clínico y pueden ser de utilidad en la evaluación de drogas empleadas en el dolor humano.<sup>13</sup> Más recientemente, se ha dado la tendencia a utilizar primates en varios paradigmas psicofisiológicos que prueban su capacidad líminal para distinguir diferentes intensidades de calor. El hecho de que existe gran semejanza en la percepción del calor nocivo entre el hombre y el mono es relevante para los problemas de dolor y analgesia en humanos. Entre estos modelos destaca la prueba del cold pressor que evalúa dolor agudo, así como una tolerancia a éste. En dicha prueba, el sujeto sumerge parte del cuerpo (generalmente la mano) en agua muy fría, hasta que percibe dolor y retira la mano, por lo que se evita la administración de un estímulo intolerable.<sup>14</sup>

Así pues, aquí se han mencionado aspectos muy generales que permiten suponer la compleja naturaleza del dolor y sus mecanismos modulatorios por lo que es de interés su estudio, en búsqueda de entender la gran plasticidad del sistema nervioso y las diferencias individuales que explican que cada quien responda ante su entorno de manera única.

#### ANATOMIA DE LA MEDULA ESPINAL

La médula espinal constituye una columna continua de neuronas y fibras nerviosas que está conectada a los segmentos corporales por las raíces dorsales y ventrales.

La organización de la substancia gris de la médula espinal, es representada en el esquema de Rexed.<sup>15</sup> Según este esquema (fig. 1), la materia gris espinal puede

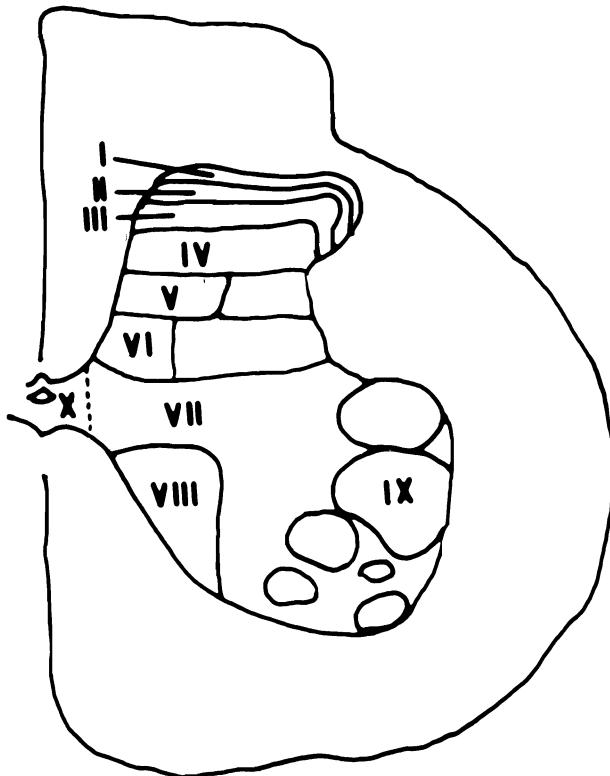


Figura 1. Representación de la materia gris de la médula espinal según Rexed.<sup>15</sup>

dividirse en 10 láminas que son más fácilmente distinguibles en neonatos.

En el asta dorsal se encuentra una delgada capa de células que conforman la zona marginal (lámina I) y se dirigen a axones hacia el tracto espinotalámico o bien, originan axones propioespinales ascendentes y descendentes. Algunas de estas neuronas responden únicamente a estímulos nocivos y otras, a estímulos inocuos. Ventral a la zona marginal, se encuentra la substancia gelatinosa (SG), que incluye a la lámina II, compuesta principalmente de interneuronas locales. La SG representa también el punto de partida de las fibras primarias de la transmisión del dolor. La lámina II se subdivide en una zona externa (IIo) y una zona interna (IIIi), la primera contiene células empacadas estrechamente y fibras A<sub>δ</sub>; la IIIi contiene células dispuestas laxamente y fibras C. En la lámina II del asta dorsal de rata, gato y humano, se encuentra bien caracterizada la presencia de al menos dos tipos celulares. Por un lado, las células pedunculadas (stalked) que poseen dendritas dirigidas ventralmente y un axón que pasa dorsalmente hacia la lámina I. Por otro lado, se distinguen las llamadas células en islote (islet) cuyas dendritas y axones se ramifican en la lámina II. A diferencia de las células pedunculadas, poseen dendritas presinápticas. En la rata y en el humano puede distinguirse otro grupo de células con

características atípicas.<sup>16</sup> En cuanto a su función, se sugiere, dadas sus configuraciones axonales y dendríticas, que las células en islote funcionan como interneuronas inhibitorias en la lámina II y que las células pedunculadas son excitatorias y relevan información de la lámina II a la I.<sup>17</sup> A nivel de las láminas I y II pueden distinguirse perfiles axonales con distintos tipos de vesículas sinápticas. Las vesículas sinápticas redondas predominan en las láminas I y II, las cuales incluyen más del 50% de los perfiles. Por otro lado, se distinguen en aproximadamente 12 a 15% de los perfiles, vesículas con núcleos granulares densos (LGV) comunes también en las láminas I y II. Un hecho interesante, es que parece existir una correlación entre distintas morfologías vesiculares y distintos neurotransmisores, por ejemplo las del tipo LGV pueden contener SP, mientras que los perfiles con vesículas aplanadas contienen a la glutamato descarboxilasa (GAD), enzima de síntesis del ácido gamma-aminobutírico (GABA). Dorsal a la SG se encuentra el llamado núcleo propio (láminas III a VI) cuyos límites entre las láminas son difíciles de distinguir con claridad, incluye células de rango dinámico estrecho (células tipo lámina IV) y de rango dinámico amplio (células tipo lámina V). La lámina VII comprende zonas intermedias que ocupan los espacios entre los núcleos motores de la parte lateral del asta anterior. En la lámina VIII se distinguen pocas neuronas motoras en la parte media del asta dorsal. La lámina IX consta de núcleos motores del asta anterior y la lámina X, contiene células de neuroglia en torno al canal ependimario.<sup>18</sup>

#### VIAS DE CONDUCCION DE SEÑALES DE DOLOR

La sensación de dolor se inicia por estimulación de receptores cutáneos que hace viajar los impulsos nerviosos a lo largo de estas fibras a tres sistemas en la médula espinal. La información nociceptiva es conducida por dos tipos de fibras aferentes periféricas, las A<sub>δ</sub> que son mielinizadas cuyo diámetro aproximado fluctúa entre 3 y 5  $\mu\text{m}$  y las C que son amielínicas y de diámetro de 1 a 3  $\mu\text{m}$ . Ambas fibras están unidas a un receptor cutáneo como los corpúsculos de Meissner, de Pacini, de Ruffini, de los cuales aproximadamente el 60 a 70% están unidos a una terminación nerviosa libre. Los tres sistemas a los que arriba la información son: la SG, células más profundas de las astas dorsales de entre las cuales se encuentran axones que forman parte del tracto espinotalámico ascendente y que se conectan con centros inferiores en el cerebro, el tercer sistema está en la columna dorsal y lo forman fibras que se proyectan a la corteza cerebral. Inicialmente, se pensaba que las raíces dorsales recibían aferencias y eran sensoriales, en tanto que de las raíces ventrales partían eferencias y tenían una función motora. En la actualidad, no hay una separación estricta de función entre las raíces dorsales y

ventrales. Esto se debe a que los axones amielínicos frecuentemente median estímulos nocivos percibidos como dolorosos y a la posibilidad de que la información dolorosa y otras modalidades sensoriales, puedan ser mediadas por aferencias amielínicas presentes también en las raíces ventrales descritas por Coggeshall.<sup>19</sup>

La médula espinal recibe información sensorial aferente de variedad de tejidos periféricos y órganos y da lugar a los axones motores que inervan al músculo esquelético. Además, la médula contiene muchas de las neuronas autónomas preganglionares del sistema nervioso periférico, cuyos axones salen en las raíces ventrales. Por lo tanto, la médula espinal representa el punto de enlace entre receptores periféricos y el sistema nervioso central y es además el sitio de partida de neuronas eferentes que activan músculos o participan en mecanismos autónomos.<sup>18</sup>

En la médula espinal existe un procesamiento doble de las señales de dolor, las cuales pueden clasificarse como de dolor agudo y lento. El dolor agudo se describe como de tipo punzante, rápido, eléctrico, intenso, etc. en tanto que el dolor lento es llamado también quemante, sordo, crónico. Por un lado, el dolor agudo es percibido aproximadamente una décima de segundo después de aplicado el estímulo nocivo y la señal es conducida por las fibras A $\delta$  a una velocidad de 6-30 m/seg. Por otro lado, el dolor lento se percibe un segundo o más después del estímulo y es conducido por fibras C a una velocidad de 0.5-2 m/seg.

La mayor parte de las fibras del dolor convergen en la formación reticular, en el puente y en el mesencéfalo. De estos sitios arriban al tálamo, hipotálamo, diencéfalo y corteza. La otra porción de las fibras pasa directamente al tálamo y terminan en el complejo ventrobasal y el grupo nuclear posterior del mismo.<sup>20</sup>

Melzack propuso que la vía de conducción del dolor fásico (dolor agudo) es el sistema lateral. Este sistema parte de la médula espinal, asciende pasando a un lado del núcleo central del tallo cerebral y se proyecta a la corteza sensorial. Obviamente el sistema lateral es de conducción rápida y su actividad decae rápidamente después de un estímulo, como resultado de una poderosa inhibición natural mediada por opioides endógenos. Dichos opioides son liberados de células de la substancia gris periacueductal (SGP) y envían señales descendentes a las astas dorsales que inhiben las señales de dolor de nervios periféricos a tractos ascendentes. El dolor de tipo tónico (dolor lento) es conducido por el sistema medial cuyo nombre obedece a que pasa por el centro del tallo cerebral, de donde envía señales al sistema límbico, por lo que es probable que intervenga en el control del componente emocional del dolor.<sup>21</sup>

El conjunto de rutas de proyección del dolor recibe también el nombre de sistema anterolateral (fig. 2) debido a que ascienden en la porción anterolateral de la columna lateral. Este sistema consta de dos tractos: el

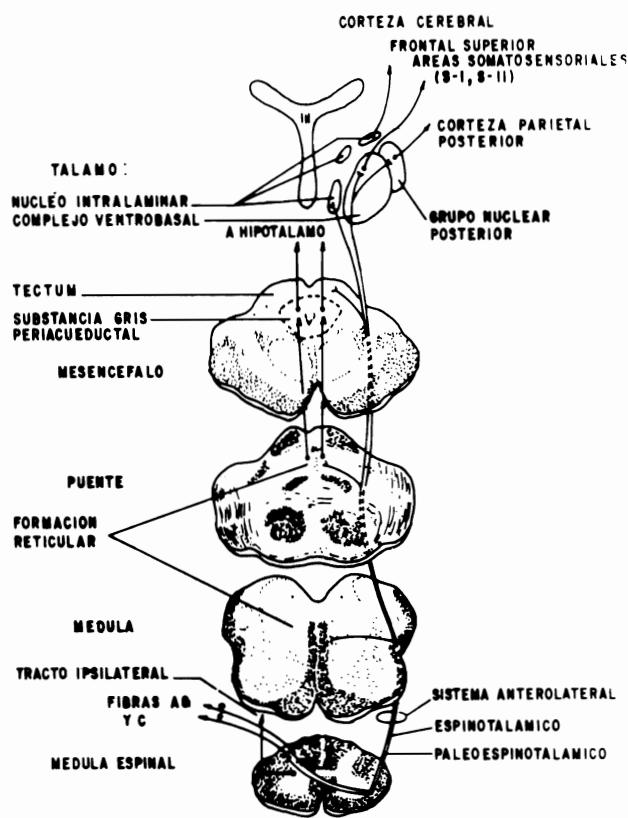


Figura 2. Sistema anterolateral de conducción de las señales dolorosas.<sup>22</sup>

neoespinotalámico (equivalente al sistema lateral) y el paleoespinotalámico (equivalente al sistema medial). El primero comprende los axones que ascienden en el cuadrante anterolateral, de células de relevo de señales de dolor de la lámina I del asta dorsal de la médula espinal, las cuales se proyectan directamente al tálamo. Este tracto ha sido una adquisición filogenética reciente por lo que se le ha llamado neoespinotalámico. El tracto paleoespinotalámico, que es más antiguo, conecta células de relevo del asta dorsal a nivel de la lámina V principalmente, con la formación reticular. Muy pocas células se proyectan directamente al tálamo.<sup>22</sup>

Cabe aclarar que las neuronas de la lámina I se excitan tanto por estímulos químicos como por estímulos mecánicos y no se afectan por toque o movimiento de cabellos. Por otro lado, las neuronas de la lámina V responden a la actividad de las fibras A $\beta$ , A $\delta$  y C, y debido a que reciben estímulos nocivos y no nocivos son llamados multireceptores o nociceptores de rango dinámico amplio. La mayoría de las fibras del tracto anterolateral hacen sinapsis a niveles por debajo del tálamo, es decir, con la formación reticular del tallo cerebral, de donde divergen las terminaciones. Esto tal vez explique la capacidad de los estímulos nocivos de producir activación conductual y alerta.

El tracto espinotectal conecta fibras del tracto ante-

rolateral que termina en las capas inferiores de los cólicos superiores e inferiores. Los estímulos nocivos originan potenciales de acción en el tectum y la estimulación de esta área, es particularmente dolorosa.

Un mayor número de fibras anterolaterales penetran la materia gris del mesencéfalo que rodea el acueducto cerebral, esto es, la SGP. Esta región tiene fuertes conexiones recíprocas con la región periventricular del diencéfalo (a través del fascículo longitudinal dorsal) y por medio del hipotálamo, con el sistema límbico. Las teorías del dolor consideran la materia gris central mesencéfálica como un área convergente probable del cerebro anterior límbico y de la información sensorial.<sup>22</sup>

En relación a las neuronas involucradas en los mecanismos de dolor, se consideran los siguientes criterios:<sup>23</sup>

a) Debe responder exclusivamente y de manera máxima a estímulos nocivos, es decir, en general su frecuencia de disparo es mayor en respuesta a un estímulo nocivo.

b) Debe demostrarse que tiene conexiones centrales apropiadas. Por ejemplo, en el asta dorsal, puede mostrarse que una neurona que responde a estímulos nocivos periféricos, se proyecta al tálamo.

c) Además de tener una respuesta máxima a un estímulo nocivo, una neurona central debe responder a un estímulo nocivo graduado, consistentemente con observaciones psicofisiológicas realizadas en humanos y con respuestas de escape observadas en animales. Si se demuestra una respuesta lineal entre la frecuencia de disparo de la neurona y temperaturas entre 47° y 50°C, sería consistente con la forma en que observadores humanos miden el dolor en el mismo rango de temperatura y además, refinaría la evidencia para la participación de la neurona en la experiencia del dolor.

d) Tal vez el más importante, es el criterio de demostrar que la estimulación selectiva de una población de neuronas que se cree involucrada en la percepción del dolor, resulta en la percepción del dolor en el humano despierto.

De esta manera, se distinguen dos poblaciones de neuronas nociceptoras; las neuronas marginales de la lámina I que son activadas por nociceptores polimodales de alto umbral, y las neuronas de la lámina V con una aferencia nociceptiva polimodal que despliegan un amplio rango de umbrales.

## TEORIAS DEL CONTROL DE LOS MECANISMOS DEL DOLOR

Una teoría del dolor debe explicar lo siguiente:<sup>24</sup>

a) Que la estimulación creciente de las fibras nerviosas pequeñas de la piel generalmente aumenta el dolor.

b) La estimulación creciente de las fibras nerviosas grandes puede aumentar el dolor transitoriamente, pero a largo plazo, puede mejorarlo.

c) Puede lograrse mejoría del dolor por estimulación eléctrica de la materia gris del mesencéfalo.

d) Existen lesiones que normalmente causan mucho dolor, pero en ocasiones, provocan poco o ningún dolor, o que se retrase el inicio del dolor.

e) En ocasiones, la anticipación del dolor es suficiente para elevar el nivel de ansiedad y por lo tanto, la intensidad del dolor percibido.

Los criterios anteriores se basan en humanos sin considerar cambios a largo plazo, lo que significa que no se incluyen estados de dolor crónico o neuropatológicos.

Se han postulado varias teorías del dolor, la teoría tradicional es llamada teoría de la especificidad descrita por Descartes en 1644,<sup>25</sup> quien concibió al sistema de conducción del dolor, como un canal con una ruta directa de la piel al cerebro. Descartes estableció una analogía de este mecanismo con el de un sistema de alarma, por lo que esta teoría se conoce también como del "timbre de alarma" (alarm-bell) o de "oprimir un botón" (push-button).

Hacia el siglo XIX, los fisiólogos intentaron explicar las diferentes modalidades de sensaciones. Von Frey<sup>26, 27</sup> consideró cuatro modalidades de sensaciones cutáneas (tacto, calor, frío y dolor) que son reconocidas por un receptor diferente. Dicha teoría propone que el sentir dolor es una consecuencia directa de la estimulación de terminaciones nerviosas libres, a las que designó como receptores, que se proyectan por fibras nerviosas a un centro del dolor en el cerebro. La teoría modelo fue propuesta primero por Goldscheider<sup>28</sup> en 1894, e independientemente por Weddell<sup>29</sup> y Sinclair<sup>30</sup> en 1955. Esta teoría rebate el punto de vista de von Frey por lo que sugiere que las sensaciones cutáneas como el dolor se producen por estimulación intensa de receptores no específicos. Además, reconoce la importancia del patrón espacio-temporal de los impulsos de la piel. Los impulsos que llegan a la médula espinal son un mensaje codificado que es decodificado por el sistema nervioso central. Sin embargo, esta teoría no es satisfactoria pues no explica la especialización fisiológica de las fibras periféricas ni el mecanismo de decodificación. La teoría de la sumación central de Livingston<sup>31</sup> y la teoría de la interacción sensorial abordan los fenómenos de sumación en algunos casos patológicos de dolor.<sup>24</sup>

Posteriormente surgieron teorías por combinación de las anteriores. En 1965, Melzack y Wall<sup>32</sup> proponen la teoría del control de la compuerta (gate control, Fig. 3), misma que modificaron en 1982.<sup>33</sup> Inicialmente, estos investigadores estaban interesados en comprender los mecanismos por los que otros estímulos cutáneos y estados emocionales, alteran el nivel de dolor percibido. La teoría sugiere que existe una interacción entre interneuronas de la substancia gelatinosa (SG), de manera que la entrada colateral de las fibras A<sub>D</sub> (de conducción rápida) y C (de conducción lenta) tienen efectos antagonistas sobre las células de la SG. El modelo propone un mecanismo para la inhibición del sistema nociceptivo de

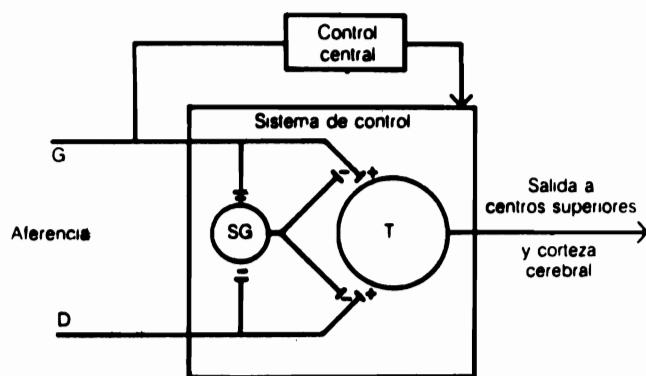


Figura 3. Teoría de la compuerta de Melzack y Wall. Célula T, T; substancia gelatinosa, SG; fibras delgadas, D; fibras gruesas, G.<sup>32</sup>

conducción lenta por el de conducción rápida, además propone que los controles descendentes del cerebro pueden modular el paso de señales nociceptivas. Por debajo de la SG se ubican las llamadas células T de las que parten fibras eferentes que determinan el grado de dolor percibido. A las células T llegan también aferencias de la SG, de la piel y del cerebro. Las aferencias pequeñas excitan directamente a las células T y excitan a células de la SG que excitan a las células T. Lo anterior explica que al aumentar la estimulación, aumenta el dolor.

Las aferentes grandes excitan a células T y a células de la SG que inhiben a las células T. Si ocurre un retraso en el segundo de estos efectos, entonces la estimulación de aferentes grandes causa primero un aumento en la velocidad de disparo de células y después un decremento, por lo tanto el dolor aumentaría transitoriamente y después disminuiría. El efecto de la aferencia proveniente del cerebro es inhibidor o excitador y actúa directamente sobre las células T, o células inhibitorias de la SG, o sobre ambas, al parecer las evidencias señalan una acción a través de las capas superficiales del asta dorsal. Si se considera que la acción es mediada por la SG o por células T, no se alteran substancialmente los resultados. La aferencia al cerebro viene de las células T y de fibras aferentes grandes de la piel por medio de la columna dorsal. La aferencia de las células alimenta un centro en el mesencéfalo que activa automáticamente un control inhibitorio descendente que se presume actúa a través de células de la SG.

A nivel espinal, la teoría predice que la estimulación somática producirá inhibición presináptica en fibras de la raíz dorsal de diámetro grande y pequeño, que hacen sinapsis con neuronas espinotalámicas.

Aún cuando la teoría carece de muchas evidencias que la apoyen, es válida su discusión por la utilidad de sus predicciones clínicas y porque excluye que el dolor sea sólo una experiencia sensorial aferente, por lo tanto, incluye los aspectos afectivos y de motivación que intervienen en la percepción del dolor.<sup>22</sup> La teoría puede ex-

pliar muchas observaciones sobre el dolor agudo, sin embargo, no implica que la estimulación creciente de fibras grandes de la piel resulte siempre en una disminución del dolor; también puede explicar la ritmidad en el dolor y sugiere que la anestesia local temporal es un posible tratamiento para aliviar el dolor rítmico. Probablemente la teoría de la compuerta explicaría el dolor crónico si se consideran los cambios plásticos en el sistema nervioso, así como factores psicológicos.<sup>24</sup>

#### NEUROTRANSMISORES INVOLUCRADOS EN LA TRANSMISIÓN DEL DOLOR

La proyección selectiva de fibras finas al asta dorsal superficial ha permitido conocer a gran cantidad de péptidos biológicamente activos en el asta dorsal. Los principales puntos de origen de los péptidos del asta dorsal surgen a nivel supraespinal, en los ganglios de la raíz dorsal e intrínsecamente, en el asta dorsal (fig. 4).

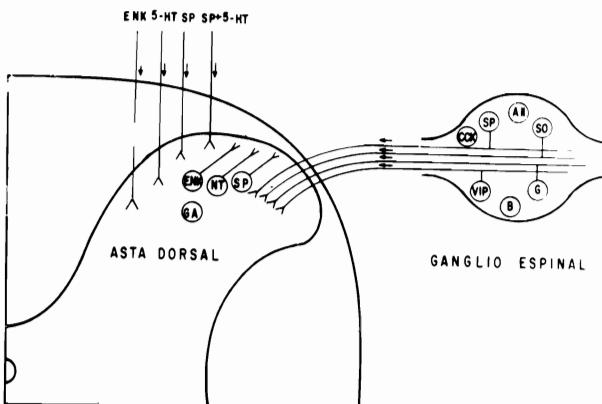


Figura 4. Coexistencia de neurotransmisores intrínsecos del asta dorsal de la médula espinal y provenientes de ganglios espinales y sitios supraespinales. Posiblemente la SP se encuentra en neuronas sensoriales primarias, en interneuronas y sistemas descendentes. AII, angiotensina II; ENK, encefalinas; G, gastrina; GA, GABA; NT, neurotensina; 5-HT, serotonina; SO somatostatina; SP, substancia P; VIP, péptido vasointestinal. (Modificado de Hökfelt, 1980).<sup>35</sup>

Es sobresaliente como se muestra, que ocurre coexistencia de varios neuropéptidos, aminas biogénicas (norepinefrina y serotonina) y GABA, sin seguir un patrón definido.<sup>34, 35</sup> Es interesante mencionar que aunque se desconoce el significado funcional de la coexistencia, cabe la posibilidad de que sea un fenómeno paralelo que represente una consecuencia de la evolución. Es probable que los péptidos hayan sido mensajeros importantes en especies inferiores, pero que se han visto reemplazados por moléculas pequeñas más eficientes, especialmente en áreas filogenéticamente recientes como la corteza. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que en el sistema nervioso central, los péptidos podrían en ocasiones reforzar la transmisión a nivel sináptico o no sináptico, o bien, inhibir la liberación del neurotransmisor coexistente. Inclusive los mensajeros coexistentes no necesaria-

mente deben intervenir en la neurotransmisión, sino en eventos de otra naturaleza.<sup>35</sup>

Respecto a la transmisión del dolor, entre la gama de compuestos de actividad neurológica se encuentra el glutamato. Este aminoácido es favorecido como candidato a ser el neurotransmisor liberado por aferentes primarias, no sólo por su presencia en células del ganglio de la raíz dorsal y del asta dorsal, sino por su efecto excitatorio en neuronas de la médula espinal después de aplicación iontopforética.<sup>36, 37</sup>

Un candidato más y que ahora nos ocupa, es la substancia P (SP) descubierta por von Euler y Gaddum en 1931,<sup>38</sup> que ejerce efectos despolarizantes de 1,000 a 10,000 veces más poderosos que el glutamato.<sup>39, 40</sup>

La SP pertenece al grupo de las taquiquininas (Cuadro I),<sup>41</sup> potentes péptidos vasoactivos ampliamente distribuidos en moluscos, anfibios, aves y mamíferos. La eledoisina fue el primer compuesto del grupo en ser descubierto en secreciones de las glándulas salivales del celacáptodo *Eledone moschata*. La kasinina, la fisalaemina y la uperoleína se encuentran en la piel de anfibios, en tanto que la SP se encuentra distribuida principalmente en aves y mamíferos. El nombre taquiquininas obedece al hecho de que estos péptidos inducen una rápida contracción del tejido (taqui, rápido; kinésis, movimiento).<sup>42</sup>

Característicamente, las taquiquininas son péptidos de 10 a 12 aminoácidos con fenilalanina a 5 sitios del carboxilo, y que han conservado una secuencia carboxilo terminal pero que difieren en la secuencia amino terminal. Esta última, define parcialmente el espectro de actividad de péptidos relacionados con la SP y a su vez, puede determinar posiblemente la existencia de subtipos de receptores a SP con distintos perfiles agonistas.

A pesar de conocerse muchos de sus efectos y propiedades químicas, la SP fue aislada,<sup>43</sup> secuenciada<sup>44</sup> y sintetizada,<sup>45</sup> 40 años después de su descubrimiento. En 1973 se produjo el primer anticuerpo anti-SP.<sup>46</sup> Sin embargo, la primera evidencia de que la SP pueda estar

relacionada con la transmisión sensorial primaria fue aportada por Hellauer y Umrath (1948)<sup>47</sup> y por Lembeck en 1953,<sup>48</sup> quienes detectaron un potente vasodilatador no colinérgico que estaba en las raíces dorsales en mucho mayor concentración que en las raíces ventrales. Lembeck observó que muchas de las propiedades del extracto de las raíces dorsales eran similares a las reportadas para la SP y la propuso entonces como un neurotransmisor sensorial.

Por técnicas de inmunofluorescencia, Hökfelt reportó que aproximadamente 20% de las neuronas del ganglio de la raíz dorsal exhiben tinción intensa por SP, restringida principalmente a células  $\beta$  pequeñas.<sup>49</sup> La SP es biosintetizada en los ganglios de la raíz dorsal de donde migra al asta dorsal de la médula espinal y SG, así como de las neuronas sensoriales a los tejidos periféricos. El origen sensorial de la mayor parte de la SP del asta dorsal fue demostrada por Takahashi y Otsuka,<sup>50</sup> quienes observaron una disminución del 60% al 70% de la concentración de la SP del asta dorsal después de la sección de la raíz dorsal, lo cual se ha comprobado en estudios posteriores con distintas metodologías.<sup>51</sup> Análogamente, se ha revelado una disminución de un 50% de receptores opiáceos a las cuatro semanas de seccionar unilateralmente la raíz dorsal de segmentos cervicales.

La SP se ha extraído del cerebro de varias especies de vertebrados, desde peces hasta mamíferos y se ha determinado que a mayor diferenciación, se encuentra menor concentración de SP. Esto significa que la concentración de SP es menor en el hombre y aumenta en el gato, conejo, cobayo, rata, pato, pollo y paloma.<sup>52</sup> No obstante, la SP se encuentra presente tanto a nivel periférico como en el sistema nervioso central. Puede detectarse en las glándulas salivales y sudoríparas, tráquea, páncreas, riñón, vejiga y próstata.<sup>53</sup> A nivel central, las mayores concentraciones se encuentran en substancia nigra (particularmente en la zona reticulata, en el área tegmental ventral y en el núcleo interpeduncular).

TABLA I

ESTRUCTURA DE LAS TAQUIQUININAS. EL RECUADRO MUESTRA LA HOMOLOGIA DEL EXTREMO COOH TERMINAL DE LOS PEPTIDOS DE ESTA FAMILIA. (MODIFICADO DE ERSPAMER, 1981).<sup>41</sup>

cular), hipotálamo, globus pallidus, núcleo caudado, putamen y asta dorsal de la médula espinal.<sup>54</sup> En las raíces dorsales se han encontrado 5 a 10 veces más SP que en las raíces ventrales.<sup>55</sup> Asimismo, por radioinmuunoanálisis ha sido posible determinar que la concentración de SP es 10 veces mayor en las regiones dorsales que en las ventrales y 100 veces mayor que en la materia blanca.<sup>56, 57</sup> Estudios inmunohistoquímicos indican que la tinción por SP se localiza básicamente en fibras amielinicas o poco mielinizadas de diámetro pequeño.<sup>58</sup>

Entre los efectos de la SP están la estimulación de la secreción salival y movilidad intestinal, es vasodilatador en músculo y tejidos grasos, e inhibe la liberación de insulina. En el macaco, por su amplia distribución en la corteza cerebral y en la formación hipocampal, puede asociarse con algunas funciones como la memoria y el afecto.<sup>59</sup> Sin embargo, gran parte de la importancia de la SP se debe a su intervención en la transmisión del dolor, sea como neurotransmisor o bien, como modulador.<sup>60</sup> Krnjevic puso en duda la posibilidad de que la SP sea un neurotransmisor, debido a que la acción excitatoria de la SP aplicada iontoporéticamente en neuronas del núcleo cuneatus mostró un inicio lento y un curso de tiempo muy prolongado. La transmisión de estas células es característicamente muy rápida, las señales tienen un inicio agudo y un término también relativamente rápido, y aunque algunas células descargan repetitivamente, estas descargas múltiples son de alta frecuencia y de pocos msec de duración. Así, Krnjevic<sup>60</sup> propuso que si la SP se libera de terminales nerviosas o de otras estructuras, puede tener alguna función que influya la excitabilidad neuronal o interfiera con la transmisión sináptica sobre períodos mayores. De hecho, considera que dado que la SP tiene alta concentración en substancia nigra e hipotálamo, tal vez su estudio en estas regiones dará indicios acerca de su función.

Fisiológicamente, en lo que se refiere a la nocicepción, la SP muestra una dualidad dependiente de la dosis, lo cual originó controversia en cuanto a su potencial analgésico y/o hiperalgésico. En ratones se ha mostrado que dosis de SP menores de 4 pmol administradas en el ventrículo lateral, producen analgesia naloxona-dependiente y que dosis mayores de 40 pmol originan hiperalgesia.<sup>61</sup> Posiblemente esto se debe a que las dosis pequeñas inducen liberación de opioides endógenos, en tanto que las dosis mayores estimulan la actividad neuronal de vías nociceptivas. Mohrland mostró el efecto analgésico de la SP intracerebral (i.c.), en la SGP o intraperitoneal (i.p.), sólo en el modelo del tail-flick. Por el contrario, con el modelo de la plancha caliente no se encontró efecto analgésico.<sup>62</sup>

Las propiedades hiperalgésicas de la SP han conducido a su utilización como un modelo de dolor bien caracterizado en roedores.<sup>63-65</sup> La respuesta conductual a la administración de SP involucra rasguño reciprocó de los miembros anteriores o posteriores, así

como reacciones de mordisqueo y lamidas de las garras y conducta de acicalamiento en general. La naloxona, haloperidol y neurotensina por vía subcutánea (s.c.) antes de aplicar SP intracerebroventricular (i.c.v.) en ratones, atenúan estas conductas, por lo que es probable que exista participación de dopamina y opioides.<sup>66</sup>

A pesar de la discusión acerca del papel de la SP en la transmisión del dolor, se considera su importancia más bien como neurotransmisor que como modulador con base a algunas evidencias que se mencionan a continuación:

a) La SP se concentra en terminales de fibras aferentes del asta dorsal de mamíferos. Al microscopio electrónico se han visualizado terminales que contienen SP que hacen sinapsis (de tipo axodendríticas) con células del asta dorsal.<sup>67</sup>

b) Por estimulación de nervios sensoriales, se produce una liberación de SP calcio-dependiente en la médula de rata<sup>68</sup> y de gato,<sup>69, 70</sup> probablemente de terminales aferentes primarias.

c) La SP tiene un efecto excitador sobre neuronas del asta dorsal espinal.<sup>71, 72</sup>

d) La localización postsináptica de receptores para SP de neuronas del asta dorsal y motoneuronas.<sup>73</sup>

e) Sobrelapamiento de la distribución de SP con la distribución de receptores opioides y las encefalinas.<sup>49</sup>

f) La inducción de señales de dolor por administración intratecal (i.t.) de SP<sup>63-65</sup> y liberación de SP por estímulos nocivos periféricos.<sup>74</sup> Reversión de los efectos con análogos de SP que funcionan como antagonistas de ésta.<sup>65</sup>

g) Inhibición de la liberación de SP de la médula espinal, mediante opiáceos.<sup>75, 69</sup>

En relación a la acción excitadora de la SP, se ha evaluado no sólo en neuronas, sino también en células gliales de la médula espinal. En estudios con neuronas de médula espinal en cultivo, se ha mostrado una despolarización y un decremento paralelo en la conductancia membranal, así como un aumento en la resistencia en un 20 a 160%. En contraste, en las células gliales no se detectó efecto sobre el potencial de membrana ni cambios en la resistencia.<sup>76</sup>

Por otro lado, actualmente es de interés dilucidar el mecanismo de acción de péptidos como la SP. Recientemente, se mostró que la SP induce un aumento prolongado del calcio intracelular ( $[Ca^{++}]_i$ ) en neuronas del asta dorsal.<sup>77</sup> Este incremento se genera al promover la SP, la liberación de sus sitios de almacenamiento. El glutamato también produce incremento del  $[Ca^{++}]_i$  pero por entrada de calcio extracelular. Estas observaciones sugieren que ocurre una regulación convergente del  $[Ca^{++}]_i$  en tales neuronas, a cargo de dos neurotransmisores que se colibran en las mismas terminales eferentes.

Asimismo, experimentos *in vivo* en rata<sup>78</sup> y en gato<sup>79</sup> demuestran consistentemente un aumento en el potasio

extracelular ( $[K^+]$ ) como respuesta a estímulos inocuos y nocivos. Sin embargo, también existen argumentos para suponer que este incremento no tiene relevancia en la nocicepción. Entre éstos, destaca que los estímulos inofensivos pueden producir incrementos mayores que los estímulos nocivos y además, que en las capas superficiales del asta dorsal (I y II) las variaciones en el  $[K^+]$  son nulas o muy pequeñas. Debido a que el aumento de  $[K^+]$  es proporcional al número de neuronas activadas y a su frecuencia de disparo, puede representar una señal del nivel general de actividad neuronal. Posiblemente, el aumento de  $[K^+]$  resulta de un incremento en la conductancia de este ion en las neuronas activadas sinápticamente.<sup>78</sup> En concordancia con las observaciones anteriores, estudios *in vitro* con el método de voltage-clamp muestran que la SP y la neurokinina  $\alpha$  (o neurokinina A) modulan conductancias múltiples que implican al  $Ca^{++}$  y  $K^+$ , principalmente.<sup>80</sup> También es conocido que la SP despolariza las neuronas y produce un

patrón de disparo en ráfagas en aproximadamente la tercera parte de las neuronas del asta dorsal de la rata.<sup>81</sup> La propiedad de la SP de regular conductancias de entrada-salida, puede ser un mecanismo importante para la integración de la información sensorial a nivel neuronal en el asta dorsal de la médula espinal.

En conjunto, estas observaciones conducen a un esquema de la secuencia de eventos que se suceden como respuesta a SP. La SP despolariza a la neurona al aumentar la corriente catiónica no dependiente de voltaje y sensible a  $Ca^{++}$  y al aumentar la corriente de  $Ca^{++}$  voltaje-dependiente, produce una onda despolarizante que a su vez, dispara una ráfaga de potenciales de acción. El aumento en el flujo de  $Ca^{++}$  transmembranal, genera un incremento en el  $[Ca^{++}]_i$ , activa la conductancia catiónica sensible a  $Ca^{++}$ , misma que contribuye a la despolarización. Concomitantemente, la conductancia a  $K^+$   $Ca^{++}$  dependiente se activa y contrarresta la despolarización al aumentar la espiga repolarizante.<sup>80</sup>

## ABREVIATURAS

$Ca^{++}$  = Calcio

$[Ca^{++}]_i$  = Calcio intracelular

GABA = Acido gamma amino-butírico

GAD = Glutamato descarboxilasa

i.c. = intracerebral

i.c.v. = intracerebroventricular

i.p. = intraperitoneal

i.t. = intratecal

$K^+$  = Potasio

$[K^+]$  = Potasio extracelular

LGV = Vesículas con núcleos granulares densos

s.c. = subcutánea

SG = Substancia gelatinosa

SGP = Substancia gris periacueductal

SP = Substancia P

IIo = Zona externa de la lámina II

IIIi = Zona interna de la lámina II

## Agradecimientos:

Los autores desean agradecer la valiosa ayuda prestada por el Sr. Alejandro García Hidalgo, en la elaboración de esquemas del manuscrito.

## REFERENCIAS

1. MERSKEY D M. *Classification of chronic pain*. Pain 1983; Suppl 3:S217.
2. ZIMMERMAN M. *Behavioral investigations of pain in animals*. En: Duncan IJH, Molony V. (Eds). *Assessing pain in farm animals*. Luxembourg: Comission of the European Communities. 1986, pag. 30-35.
3. KAVALIERS M, HIRST M, TESKEY G C. *A functional role for an opiate system in snail thermal behavior*. Science 1983; 220:99-101.
4. KAVALIERS M, HIRST M. *Tolerance to morphine-induced thermal response in the terrestrial snail, Cepaea nemoralis*. Neuropharmacology 1983; 22:1321-1326.
5. LEUNG M K, STEFANO G B. *Isolation and identification of enkephalins in pedal ganglia of Mytilus edulis Mollusca*. Proc Natl Acad Sci 1984; 81:955-958.
6. LEUNG M K, STEFANO G B. *Comparative neurology of opioids in invertebrates with special attention to senescent alterations*. Prog Neurobiol 1987; 18:131-159.
7. GESSER B P, LARSSON L-I. *Enkephalins may act as sensory transmitters in earthworms*. Cell Tissue Res 1986; 246:33-37.
8. KAVALIERS M. *Evolutionary and comparative aspects of nociception*. Brain Res Bull 1988; 21:923-931.
9. KAVALIERS M, HIRST M. *Daily rhythms of analgesia in mice: effects of age and photoperiod*. Brain Res 1983; 279:387-393.
10. KAVALIERS M, INNES D G L. *Stress-induced opioid analgesia and activity in deer mice: sex and population differences*. Brain Res 1987; 425:49-56.
11. KAVALIERS M, INNES D G L. *Sex and day-night differences in the opiate-induced responses of the land snail, Peromyscus manicula-*

- tus triangularis.* Pharmacol Biochem Behav 1987; 27:477-482.
12. HAFFNER D. *Experimentelle Prüfung Schmeizillender Mittel.* Dtsch Med Wschr 1929; 55:731.
13. FASMER O B, POST C, HOLE K. *Changes in nociception after acute and chronic administration of zimelidine: different effects in the formalin test and the substance P behavioural assay.* Neuropharmacology 1987; 26:309-312.
14. MARCHAND S, TRUDEAU N, BUSHNELL M C, DUNCAN G H. *A primitive model for the study of tonic pain, pain tolerance and diffuse noxious inhibitory controls.* Brain Res 1989; 487:388-391.
15. REXED B. *Cytoarchitectonic atlas of the spinal cord of the cat.* J Comp Neurol 1954; 100:297-379.
16. TODD A J, MCKENZIE J. *GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord.* Neuroscience 1989; 31:799-806.
17. GOBEL S. *Golgi studies of the neurons in layer II of the dorsal horn of the medulla trigeminal nucleus caudalis.* J Comp Neurol 1978; 180:395-414.
18. RALSTON H J. *The spinal root and the dorsal horn.* En: Rosenberg R N, Grossman R G, Schochel S J Jr, Heinz E R and Willis W D Jr. *The clinical neuroscience.* Vol. 5 *Neurobiology* Churchill, Livingstone. 1988, pag. 287-299.
19. COGGESHALL R E, COULTER J D, WILLIS W D. *Unmyelinated axons in the ventral root of the cat lumbosacral enlargement.* J Comp Neurol 1974; 153:39.
20. GUYTON A. *Tratado de Fisiología Médica.* 7a Ed., Madrid. McGraw-Hill. Interamericana de España. 1988, pag. 590-602.
21. MELZACK R. *The tragedy of needless pain.* Sci Am 1990; 22: 19-25.
22. KELLY D D. *Central representations of pain and analgesia.* En: Kandel E R and Schwartz J H. *Principles of neural sciences.* USA: Elsevier Science Publishing Co Ing. 1985, pag. 331-343.
23. PRICE D D, BROWE A C. *Spinal cord coding of graded nonnoxious and noxious temperature increases.* Exp Neurol 1975; 48:201-221.
24. BRITTON N F, SKEVINGTON S M. *A mathematical model of the gate control theory of pain.* J Theor Biol 1989; 137:91-105.
25. DESCARTES R. *L'homme. (Traducción por M. Foster)* En: *Lectures on the History of Physiology during the 16th, 117th and 18th Centuries.* London. Cambridge University Press. 1644.
26. VON FREY M. *Ber Kgl Sächs Ges Wiss* 1894; 46:185.
27. VON FREY M. *Beiträge zur Sinnesphysiologie der Haut.* Ber Kgl Sächs Ges Wiss math phys KL. 1895; 47:181.
28. GOLDSCHIEDER A. *Über den Schmerz in Physiologischer und Klinischer Hinsicht.* Berlin Hirschwald. 1894.
29. WEDDELL G. *Somesthesia and the chemical senses.* Annu Rev Psychol 1955; 6:119-136.
30. SINCLAIR D C. *Cutaneous sensation and the doctrine of specific nerve energies.* Brain 1955; 78:584-614.
31. LINVINGSTON W K. *Pain mechanisms.* New York. Macmillan, 1943.
32. MELZACK R, WALL P D. *Pain mechanisms: A new theory.* Science 1965; 150:971.
33. MELZACK R, WALL P D. *The Challenge of Pain.* Harmonds worth, worth, Middlesex: Penguin. 1982.
34. HÖKFELT T, JOHANSSON O, LJUNDAHL A, LUNDBERG J M, SCHULTZ-BERG M. *Peptidergic neurones.* Nature 1980; 284:515-521.
35. HÖKFELT T, MILLHORN D, SEROOGY K, TSURUO Y, CECCATELLI S, LINDH B, MEISTER B, MELANDER T, SCHALLING M, BARTFAI T, TERENIUS L. *Coexistence of peptides with classical neurotransmitters.* Experientia 1987; 43:768-780.
36. HAMMERSCHLAG R, WEINREICH D. *Glutamic acid and primary afferent transmission.* Adv Biochem Psychopharmac 1972; 6:165-180.
37. SCHNEIDER S P, PERL E R. *Selective excitation of neurons in the mammalian spinal dorsal horn by aspartate and glutamate in vitro: correlation with localization and excitatory input.* Brain Res 1985; 360:339-343.
38. VON EULER U S, GADDUM J H. *An unidentified depressor substance in certain tissue extracts.* J Physiol (London) 1931; 72:74-87.
39. KONISHI S, OTSUKA M. *Excitatory action of hypothalamic substance P on spinal motoneurons of newborn rats.* Nature 1974; 252: 734-735.
40. OTSUKA M, KONISHI S. *Substance P an excitatory transmitter of primary sensory neurons.* Cold Spring Harbor Symp Quant Biol 1975; 40:135-148.
41. ERSPAMER V. *The tachykinin peptide family: present status and perspectives.* Trends Neurosci 1981; 4:267-269.
42. STEWART J M, CHANNABASAVAIAH K. *Evolutionary aspects of some neuropeptides.* Fed Proc 1979; 38:2302-2308.
43. CHANG M M, LEEMAN S E. *Isolation of a sialogogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as substance P.* J Biol Chem 1970; 245:4784-4790.
44. CHANG M M, LEEMAN S E, NIALL H D. *Aminoacid sequence of substance P.* Nature New Biol 1971; 232:86-87.
45. TREGEAR G W, NIALL H D, POTTS J T, JR, LEEMAN S E, CHANG M M. *Synthesis of substance P.* Nature New Biol 1971; 232: 87-89.
46. POWELL D, LEEMAN S E, TREGEAR G W, NIALL H D, POTTS J T JR. *Radioimmunoassay for substance P.* Nature New Biol 1973; 241: 252-254.
47. HELLAUER H F, UMRATH K. *Über die aktion substanz der sensiblen nerven.* Pflügers Arch 1948; 249:619-630.
48. LEMBECK F. *Zur frage der zentralen übertragung afferenter impulse III. Mitteilung, das vorkommen und die bedentung der substanz P in den dorsalen wurzeln des rückenmarks.* Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol Exp Pathol 1953; 219:197-213.
49. HÖKFELT T, LJUNDAHL A, TERENIUS L, ELDE R, NILSSON G. *Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly related to pain and analgesia: enkephalin and substance P.* Proc Natl Acad Sci 1977; 74:3081-3085.
50. TAKAHASHI T, OTSUKA M. *Regional distribution of substance P in the spinal cord and nerve roots of the cat and the effect of dorsal root section.* Brain Res 1975; 87:1-11.
51. JESSELL T, TSUNOO A, KANAZAWA I, OTSUKA M. *Substance P depletion in the dorsal horn of rat spinal cord after section of the peripheral processes of primary sensory neurons.* Brain Res 1979; 168:247-260.
52. GRABNER K, LEMBECK F, NEUHOLD K. *Substanz P im gehirn verschiedener species.* Naunyn-Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol 1959; 236:331-334.
53. MASSON C. *Substance P.* La Nouvelle Presse Médicale 1981; 10: 1721-1728.
54. KANAZAWA I, JESSELL T. *Post mortem changes and regional distribution of substance P in the rat and mouse nervous system.* Brain Res 1976; 117:362-367.
55. PERNOW B. *Substance P.* Pharmacol Rev 1983; 35:85-141.
56. BROWNSTEIN M J, MROZ E A, KIZER S, PALKOVITS M, LEEMAN S E. *Regional distribution of substance P in the brain of the rat.* Brain Res 1976; 116:299-305.
57. HOMMA S, SUZUKI T, MURAYAMA S, OTSUKA M. *Amino acid and substance P contents in spinal cord of cats with experimental hind-limb rigidity produced by occlusion of spinal cord blood supply.* J Neurochem 1979; 32:691-698.
58. BARBER R P, VAUGHN J E, SLEMMON J R, SALVATERRA P M, ROBERTS E, LEEMAN S E. *The origin, distribution and synaptic relationships of substance P axons in rat spinal cord.* J Comp Neurol 1979; 184:331-352.
59. IRITANI S, FUJII M, SATOH K. *The distribution of substance P in the cerebral cortex and hippocampal formation: an immunohistochemical study in the monkey and rat.* Brain Res Bull 1989; 22: 295-303.
60. KRNIJEVIC K, MORRIS M E. *An excitatory action of substance P on cuneate neurons.* Can J Physiol Pharm 1974; 52:736-744.
61. FREDERICKSON R C, BURGIS V. *Dual actions of substance P on nociception: Possible role of endogenous opioids.* Science 1978; 199: 1359-1361.

62. MORHLAND J S, GEBHART G F. *Substance-P induced analgesia in the rat*. Brain Res 1979; 171:556-559.
63. HYLDEN J L K, WILCOX G L. *Intrathecal substance P elicits a caudally-directed biting and scratching behaviour in mice*. Brain Res 1981; 217:212-215.
64. SEYBOLD U S, HYLDEN J L K, WILCOX G L. *Intrathecal substance P and somatostatin in rats: Behaviours indicative of sensation*. Peptides 1982; 3:49-54.
65. TAKAHASHI K, SAKURADA S, KUWAHARA H, YONEZAWA A, ANDO R, KISARA K. *Behavioral characterization of substance P-induced nociceptive response in mice*. Neuropharmacology 1987; 26:1289-1293.
66. VAN WIMERSMA GREIDANUS T B, MAIGRET C. *Grooming behavior induced by substance P*. Eur J Pharmacol 1988; 154:217-220.
67. DiFIGLIA M, ARONIN N, LEEMAN S E. *Light microscopic and ultrastructural localization of immunoreactive substance P in the dorsal horn of monkey spinal cord*. Neuroscience 1982; 7:1127-1139.
68. OTSUKA M, KONISHI S. *Release of substance P like-immunoreactivity from isolated spinal cord of newborn rat*. Nature 1976; 264: 83-84.
69. YAKSH T L, JESSELL T M, GAMSE R, MUDGE A W, LEEMAN S E. *Intrathecal morphine inhibits SP release from mammalian spinal cord "in vivo"*. Nature 1980; 286:155-157.
70. BRODIN E, LINDEROTH B, GAZELIUS B, UNGERSTEDT U. *In vivo release of substance P in cat dorsal horn studied with microdialysis*. Neurosci Lett 1987; 76:357-362.
71. OTSUKA M, KONISHI S, TAKAHASHI T. *The presence of a motoneuron depolarizing peptide in bovine dorsal roots of spinal nerves*. Proc Jap Acad 1972; 48:342-346.
72. OTSUKA M, KONISHI S. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1976; 40:135-143.
73. HENRY J L. *Effects of substance P on functionally identified units in cat spinal cord*. Brain Res 1976; 114:439-451.
74. DUGGAN A W, MORTON C R, ZHAO Z Q, HENDRY I A. *Noxious heating of the skin releases immunoreactive substance P in the substantia gelatinosa of the cat: a study with antibody microprobes*. Brain Res 1987; 403:345-349.
75. MUDGE A W, LEEMAN S E, FISCHBACH G D. *Enkephalin inhibits release of substance P from sensory neurons in culture and decreases action potential duration*. Proc Natl Acad Sci 1979; 76:526-530.
76. HÖSLI L, HÖSLI E, ZEHNTNER CH, LANDOLT H. *Effects of substance P on neurones and glial cells in cultures rat spinal cord*. Neurosci Lett 1981; 24:165-168.
77. WOMACK M D, DEMOTT A B, JESSELL T M. *Sensory transmitters regulate intracellular calcium in dorsal horn neurons*. Nature 1988; 334:351-353.
78. SVOBODA J, MOTIN V, HAJEK I, SYKOVA E. *Increase in extracellular potassium level in rat dorsal horn induced by noxious stimulation and peripheral injury*. Brain Res 1988; 458:97-105.
79. HEINEMANN U, SCHAIBLE H-G, SCHMIDT R F. *Changes in extracellular potassium concentration in cat spinal cord in response to innocuous and noxious stimulation of legs with healthy and inflamed knee joints*. Exp Brain Res 1990; 79:283-292.
80. MURASE K, RYU P D, RANDIC M. *Tachykinins modulate multiple ionic conductances in voltage-clamped rat spinal dorsal horn neurons*. J Neurophysiol 1989; 61:854-865.
81. MURASE K, RANDIC M. *Actions of substance P on rat spinal dorsal horn neurones*. J Physiol (Lond) 1984; 346:203-217.