



ĽUDSKÉ BUNKY A TKANIVÁ V PREDKLINICKÝCH ŠTÚDIÁCH: ĽUDSKÉ DRG NEURONY

Preložila: MUDr. Eva Salamonová

Bolesť je zmyslový a emocionálny zážitok, ktorý sa najčastejšie spúšťa v reakcii na škodlivý podnet.

Skupina periférnych senzorických neurónov, nazývaných nociceptory, sú prvé neuróny, ktoré sú aktivované škodlivými stimulmi. Bunkové telá senzitívnych neurónov sa nachádzajú v gangliách trojklaného nervu (TG) a gangliách zadných koreňov (DRG), ktoré sú umiestnené bilaterálne a susedia s mozgovým kmeňom alebo miechou.

Z týchto pseudounipolárnych neurónov vychádza jednak periférna vetva, ktorá inervuje cieľové orgány, napríklad kožu a vnútornosti, a tiež centrálna vetva, ktorá končí v mozgovom kmeni alebo zadných rohoch miechy [4].

Senzitívne neuróny sú vysoko heterogénne, s viacerými subpopuláciami, z ktorých každá má schopnosť odpovedať na špecifické bolestivé a nebolestivé podnety. Nociceptívne neuróny nezodpovedajú len za signalizáciu prítomnosti akútneho poškodenia tkaniva, ale zdá sa, že hrajú zásadnú úlohu aj v pretrvávajúcej bolesti a senzitivácii, spojenej s viacerými typmi chronickej bolesti.

Pre vývoj účinnej a bezpečnej liečby bolesti je teda nevyhnutné pochopiť molekulárne a bunkové základy prenosu signálu v nociceptoroch a cez nociceptory



Experimentálne platformy na štúdium bolesti

Hoci je eticky prípustné vykonávať niektoré štúdie bolesti na ľudských dobrovoľníkoch, tieto štúdie majú úzky rozsah, vo všeobecnosti zahŕňajú zdravých jedincov a len zriedka sú prístupné experimentom určeným na odhalenie mechanizmov zodpovedným za vznik bolesti.

V dôsledku toho bolo mechanické chápanie nocicepcie a bolesti v prevažnej miere odvodené zo štúdií na zvieracích modeloch, najmä myši a potkanov [23]. Ak keď je medzi hlodavcami a ľuďmi mnoho spoločných patofyziologických mechanizmov, existencia dôležitých rozdielov na anatomickej, molekulárnej a bunkovej úrovni veľmi pravdepodobne prispela k zlyhaniu účinku niektorých skúmaných molekúl, od ktorých bol očakávaný analgetický účinok.

Tieto základné medzery sa začínajú premost'ovať pomocou tkaniva ľudského nervového systému. Použitie tkanív ľudského nervového systému má potenciál zlepšiť naše chápanie molekulárneho a bunkového základu vnímania bolesti a jej modulácie u ľudí. Budú tiež slúžiť ako bunková platforma na posúdenie, či je možné očakávať pozitívne výsledky nového analgetika ešte pred začatím nákladných klinických štúdií na ľuďoch [26]. Preto sa v tomto informačnom liste zameriame na štúdie využívajúce ľudské DRG neuróny.

Nociceptory, receptory, iónové kanály a bolesť

Nociceptory sú za bežných podmienok v kl'ude a len limitovane reagujú na škodlivé stimuly. Tieto neuróny však môžu byť senzitizedované. Senzitivácia je charakterizovaná objavením sa spontánnej aktivity, zníženým prahom aktivácie a/alebo zvýšenou odozvou na rovnaké podnety a to za najrôznejších podmienok ako sú napríklad poranenia nervov, zápaly tkaniva a metabolické alebo genetické poruchy, ktoré prispievajú alebo pravdepodobne aj spôsobujú chronickú bolesť [5].

Špecializované receptory nachádzajúce sa na nervových zakončeníach nociceptorov sú aktivované škodlivými stimulmi, čo vedie ku vzniku generátorových potenciálov. Tieto vyvolávajú nervové impulzy vo forme akčných potenciálov, ktoré sú spúšťané súborom napäťovo riadených iónových kanálov.



Akčné potenciály sa šíria z periférie do miechy, kde sa z axonálnych koncov uvoľňujú neurotransmitery. Následne sú signály prenášané do neurónov miechy a do mozgových centier, kde môže byť interpretované ako bolesť [4] .

Množstvo dôkazov podporuje názor, že senzitivácia môže byť spôsobená zmenami v ktoromkoľvek z týchto krokov, od prenosu signálu až po uvoľnenie transmitéra. Jednou z prekážok cielenej liečby je, že bunkové procesy, ktoré sú základom senzitivácie, sa zrejme líšia v závislosti od typu poranenia, miesta poranenia, času po poranení, pohlavia, predchádzajúcej anamnézy a genetiky – vrátane možných druhových rozdielov medzi zvieracími modelmi a ľuďmi.

Pochopenie molekulárneho základu excitability ľudských nociceptorov a ich senzitivácie je preto rozhodujúce pre vývoj nových a účinnejších liekov na liečbu bolesti.

Postavenie ľudských DRG neurónov v snahe objasniť mechanizmus bolesti

Veľa z toho, čo vieme o molekulárnych a bunkových základoch nocicepcie, sa získalo zo študovania DRG neurónov hlodavcov.

Pre staršie štúdie ľudských DRG neurónov bolo typické, že zahŕňali obmedzený počet neurónov v dôsledku nedostatku životaschopného ľudského tkaniva [2; 8; 36].

To sa mení s nárastom množstva ľudského tkaniva od darcov orgánov alebo vďaka rýchlym pitvám a zlepšením metód izolácie a udržiavania neurónových kultúr pre molekulárne a funkčné štúdie [6; 12; 37].

Použitie ľudského DRG potvrdilo zachovanie základných mechanizmov odpovede nociceptorov na podráždenie, tak ako ju poznáme z modeloch hlodavcov.

Odhaliť však aj dôležité rozdiely, ktoré spochybňujú niektoré koncepty zavedené v štúdiách na hlodavcoch, ako sa bude diskutovať ďalej.



Druhovo špecifické rozdiely v transkriptóme a bunkovom zložení DRG neurónov

Pomocou elegantných morfológických a funkčných analýz bolo niekoľko subpopulácií DRG neurónov hlodavcov spojených so špecifickými senzorickými modalitami. Nástup nových technológií sekvenovania umožnil v nedávnej dobe štúdie na úrovni jednej bunky.

Podrobné skúmanie transkriptómu DRG potvrdilo identitu podskupín DRG neurónov, ktoré sú zodpovedné za špecifické senzorické modalities u myší a primátov [14; 30; 35;41]. Avšak podskupiny senzorických neurónov, ktoré sú špecifické pre konkrétne podnety v ľudských DRG neurónoch nie sú vo viacerých ohľadoch identické so zvieracím modelmi . [18]; 20; 25; 27; 31; 32].

Napríklad ľudským nociceptorom chýba zreteľná separácia peptidergných a nepeptidergných nociceptorov, ktoré boli zaznamenané v myšacích neurónoch. Aj expresia tepelného receptora TRPV1, ktorý je aktivovaný napríklad kapsaicínom, je rozšírenejšia u ľudí. než v DRG neurónoch hlodavcov[31-33]. Tieto zistenia od nás vyžadujú, aby sme starostlivo zhodnotili našu interpretáciu funkčných experimentov, ktoré vychádzajú z pokusov s geneticky definovanými subpopuláciami DRG neurónov u myší, pretože rovnaké demarkácie bunkového typu nie sú úplne zachované aj u ľudských DRG.

Informácie z ľudských buniek je potrebné integrovať s údajmi z iných druhov, aby sa zvýšila naša schopnosť premeniť cieľové molekuly na účinné lieky.

Druhovo špecifické rozdiely vo vlastnostiach iónových kanálov a receptorov

Štúdie DRG u ľudí, relevantné pre vývoj nových spôsobov liečby bolesti, ukazujú odlišné vlastnosti iónových kanálov a receptorov, ktoré sú cieľom vývoja nových analgetík. Zatiaľ čo expresia iónových kanálov a receptorov regulujúcich neuronálne výboje (firing) hlodavcov a ľudských DRG neurónov je veľmi podobná, biofyzikálne a farmakologické vlastnosti týchto kanálov a receptorov majú významné druhovo špecifické rozdiely [8; 10;12; 13; 16; 29; 36; 40].



DRG neuróny hlodavcov majú nižšie prahy pre generovanie akčného potenciálu v porovnaní s ľudskými neurónami [6; 12], čo naznačuje divergenciu v relatívnom množstve alebo biofyzikálnych vlastnostiach iónových kanálov medzi týmito druhmi. Hartung et al [13] zaznamenali druho špecifické rozdiely vo veľkosti a biofyzikálnych vlastnostiach vysokonapäťových vápnikových kanáloch, ktoré hrajú zásadnú úlohu v uvoľňovaní neurotransmitérov na prvej synapse v zadnom rohu miechy.

Zhang et al [40] pozorovali, že citlivosť sodíkových prúdov na blokátor sodíkových kanálov tetrodotoxín je v ľudských DRG neurónoch menšia ako v DRG neurónoch hlodavcov. Zatiaľ čo tieto štúdie ľudského DRG sú užitočné na vytvorenie základnej línie vedomostí, existujú príklady, kde výsledky generované rôznymi laboratóriami študujúcimi ľudské DRG neuróny sú úplne konzistentné, napríklad v biofyzikálnych vlastnostiach sodíkového prúdu, ktorý je odolný voči tetrodotoxínu [12; 40].

Zaujímavé je, že najvýraznejšie rozdiely vo výsledkoch hlásených v týchto dvoch štúdiách súviseli s biofyzikálnymi vlastnosťami prúdov rezistentných na tetrodotoxín v potkaních DRG neurónoch, čo poukazuje na potenciálny vplyv heterogenity senzorických neurónov, ktoré boli zaznamenané pri generovaných výsledkoch.

Ďalším príkladom je rozdiel v biofyzikálnych a farmakologických vlastnostiach ionotropných acetylcholínových receptorov v ľudských DRG neurónoch, ktoré sa líšia od tých, ktoré sa nachádzajú u myši alebo potkanov [39]. Tento druho špecifický rozdiel by mohol vysvetľovať, prečo nakoniec zlyhali agonisty týchto receptorov v klinických štúdiách na liečbu bolesti [9; 11; 24; 28]. Okrem napäťovo riadených kanálov a ionotropných receptorov boli ako ciele pre potencionálne nové analgetiká skúmané aj receptory spojené s G-proteínom (GPCR).

Niekoľko štúdií preukázalo niektoré funkčné a anatomické rozdiely opioidných, kanabinoïdnych a iných metabotropných receptorov medzi hlodavcami a ľudskými DRG [1; 3; 7; 18; 19]. Po aktivácii GPCR ligandom môže byť skúmanie stupňa stability mechanizmov intracelulárnej signalizácie druhého posla a skúmanie génovej expresie indukovanej signálom dôležitou cestou



na overenie reálneho zavádzania nových analgetík do praxe alebo na zistenie nových mechanizmov modulácie nociceptorov naprieč rôznymi živočíšnymi druhmi.

Čím viac sa zvyšuje dostupnosť a využitie ľudských neurónov a ako získavame viac dát od nezávislých skupín vedcov, vzniká jasnejší obraz o rozsahu rozdielov medzi zvieracími a ľudskými modelmi. Už je však zrejmé, že druhovo špecifické rozdiely v expresii a vlastnostiach kanálov a receptorov menia naše názory na molekulárny a bunkový základ nocicepcie [17].

Obmedzenia a možnosti prenosu týchto poznatkov do klinickej praxe

Súbor údajov zo štúdií na ľudských DRG neurónoch je stále obmedzený a ani prístup k tomuto tkanivu nie je zatiaľ široko dostupný.

Tkanivo je väčšinou k dispozícii iba od darcov orgánov, ktorí už so svojej podstaty zažili nejakú tragickú udalosť, tiež z chirurgických resekcii alebo rýchlej pitvy, a preto je označovanie týchto neurónov za „normálne“ diskutabilné. Darcovia orgánov sa navyše vyberajú tak, aby netrpeli infekčnými chorobami, vážnymi poruchami a rakovinou, teda aby nebola ohrozená úspešnosť transplantácie. Preto títo pacienti zvyčajne netrpia chronickou bolesťou.

V súčasnosti sa už objavujú aj štúdie DRG neurónov od pacientov s chronickými bolestivými stavmi [15; 21] Bude prínosné Porovnanie výsledkov týchto štúdií s údajmi z neurónov, ktoré sú zhromaždené od subjektov bez diagnózy bolesti bude určite prínosné.

Dôležité je, že existujúce súbory údajov nie sú dostatočne komplexné na to, aby riešili heterogenitu medzi darcami na základe množstva faktorov (niektoré ľahko identifikovateľné a niektoré neznáme, vrátane biologických a anamnestických rozdielov), ktoré pravdepodobne prispievajú k individuálnej variabilite v reakcii na škodlivé podnety medzi rôznymi ľuďmi.

Preto sú potrebné ďalšie a rozsiahlejšie štúdie využívajúce ľudské DRG neuróny, vrátane zhromažďovania rozsiahlych informácií o anamnéze darcov. Dá sa to urobiť len vtedy, keď bude bežne dostupné dostatočné množstvo tkanivových kultúr. Druhovo špecifické rozdiely vo vlastnostiach iónových kanálov a farmakológii môžu byť tiež informatívne pre vývoj nových



liekov na liečbu bolesti. Napríklad Walker et al [38] zistili, že ľudský kanál Nav1.7, ktorý je hlavným cieľom vývoja nových analgetík, je viac ako 200-krát odolnejší proti blokáde neurotoxínom saxitoxínom, než sa pôvodne predpokladalo.

Identifikovali, že príčinou tejto rezistencie voči toxínu sú 2 špecifické miesta vo vonkajšej časti Nav1.7 kanála, ktoré majú u primátov odlišnú stavbu oproti ostatným druhom živočíchov. Na základe týchto poznatkov bol vyvinutý saxitoxin- nový selektívny blokátor Nav1.7.

Celkove sa dá predpokladať, že druhové rozdiely vo vlastnostiach iónových kanálov a receptorov prepožičiavajú neurónom nie len rozdielne schopnosti generovania elektrických výbojov/ firing/, ale aj odlišnú odpoveď na lieky. Preto je nevyhnutné, aby sa novo vyvíjané analgetiká testovali na ľudských bunkách.

V snahe vyvinúť účinnú liečbu bolesti, bude potrebné funkčne založené prepojenie medzi podskupinami ľudských neurónov a špecifickými senzitivnými modalitami. S rastúcou dostupnosťou ľudských neurónov a s neustálym zdokonaľovaním ich špecifity môžeme dosiahnuť efektívnejší prenos poznatkov získaných zo zvieracích modelov na človeka. Súčasne vieme identifikovať nové ciele výskumu, ktoré nebolo možné predvídať na základe štúdií na zvieracích modeloch.

References

- [1] Anand P, Yiangou Y, Anand U, Mukerji G, Sinisi M, Fox M, McQuillan A, Quick T, Korchev YE, Hein P. Nociceptin/ orphanin FQ receptor expression in clinical pain disorders and functional effects in cultured neurons. *Pain* 2016;157(9):1960-1969.
- [2] Anand U, Otto WR, Casula MA, Day NC, Davis JB, Bountra C, Birch R, Anand P. The effect of neurotrophic factors on morphology, TRPV1 expression and capsaicin responses of cultured human DRG sensory neurons. *Neurosci Lett* 2006;399(1-2):51-56.



IASP 2022
GLOBAL YEAR

Translating Pain Knowledge to Practice

FACT SHEET



- [3] Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, Benham C, Bountra C, Chessell IP, Anand P. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain* 2008;138(3):667-680.
- [4] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009;139(2):267-284.
- [5] Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annu Rev Neurosci* 2009;32:1-32.
- [6] Davidson S, Copits BA, Zhang J, Page G, Ghetti A, Gereau RWt. Human sensory neurons: Membrane properties and sensitization by inflammatory mediators. *Pain* 2014;155(9):1861-1870.
- [7] Davidson S, Golden JP, Copits BA, Ray PR, Vogt SK, Valtcheva MV, Schmidt RE, Ghetti A, Price TJ, Gereau RWt. Group II mGluRs suppress hyperexcitability in mouse and human nociceptors. *Pain* 2016;157(9):2081-2088.
- [8] Dib-Hajj SD, Tyrrell L, Cummins TR, Black JA, Wood PM, Waxman SG. Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Lett* 1999;462(1-2):117-120.
- [9] Dutta S, Hosmane BS, Awni WM. Population analyses of efficacy and safety of ABT-594 in subjects with diabetic peripheral neuropathic pain. *AAPS J* 2012;14(2):168-175.
- [10] Giblin JP, Etayo I, Castellanos A, Andres-Bilbe A, Gasull X. Anionic Phospholipids Bind to and Modulate the Activity of Human TRESK Background K(+) Channel. *Mol Neurobiol* 2019;56(4):2524-2541.
- [11] Gilron I, Coderre TJ. Emerging drugs in neuropathic pain. *Expert Opin Emerg Drugs* 2007;12(1):113-126.
- [12] Han C, Estacion M, Huang J, Vasylyev DV, Zhao P, Dib-Hajj S, Waxman SG. Human Nav1.8: enhanced persistent and ramp currents contribute to distinct firing properties of human DRG neurons. *J Neurophysiol* 2015;113(9):3172-3185.
- [13] Hartung JE, Moy JK, Loeza-Alcocer E, Nagarajan V, Jostock R, Christoph T, Schroeder W, Gold MS. Voltage gated calcium channels in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2021(doi: 10.1097/j. pain.0000000000002465.).
- [14] Kupari J, Usoskin D, Parisien M, Lou D, Hu Y, Fatt M, Lonnerberg P, Spangberg M, Eriksson B, Barkas N, Kharchenko PV, Lore K, Khoury S, Diatchenko L, Ernfors P. Single cell transcriptomics of primate sensory neurons identifies cell types associated with chronic pain. *Nat Commun* 2021;12(1):1510.
- [15] Li Y, North RY, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Edwards DD, Cassidy RM, Harrison DS, Johansson CA, Zhang H, Dougherty PM. DRG Voltage-Gated Sodium Channel 1.7 Is Upregulated in Paclitaxel-Induced Neuropathy in Rats and in Humans with Neuropathic Pain. *J Neurosci* 2018;38(5):1124-1136.
- [16] Liu C, Au JD, Zou HL, Cotten JF, Yost CS. Potent activation of the human tandem pore domain K channel TRESK with clinical concentrations of volatile anesthetics. *Anesth Analg* 2004;99(6):1715-1722.



- [17] Middleton SJ, Barry AM, Comini M, Li Y, Ray PR, Shiers S, Themistocleous AC, Uhelski ML, Yang X, Dougherty PM, Price TJ, Bennett DL. Studying human nociceptors: from fundamentals to clinic. *Brain* 2021;144(5):1312-1335.
- [18] Moy JK, Hartung JE, Duque MG, Friedman R, Nagarajan V, Loeza-Alcocer E, Koerber HR, Christoph T, Schroder W, Gold MS. Distribution of functional opioid receptors in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2020;161(7):1636-1649.
- [19] Nadeau SE. Opioids for chronic noncancer pain: To prescribe or not to prescribe-What is the question? *Neurology* 2015;85(7):646-651.
- [20] Nguyen NQ, von Buchholtz LJ, Reker AN, Ryba NJP, Davidson S. Single-nucleus transcriptomic analysis of human dorsal root ganglion neurons. *eLife* 2021;10:e71752.
- [21] North RY, Li Y, Ray P, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Johansson CA, Zhang H, Kim YH, Zhang B, Dussor G, Kim TH, Price TJ, Dougherty PM. Electrophysiological and transcriptomic correlates of neuropathic pain in human dorsal root ganglion neurons. *Brain* 2019;142(5):1215-1226.
- [22] Pajouhesh H, Beckley JT, Delwig A, Hajare HS, Luu G, Monteleone D, Zhou X, Ligutti J, Amagasu S, Moyer BD, Yeomans DC, Du Bois J, Mulcahy JV. Discovery of a selective, state-independent inhibitor of NaV1.7 by modification of guanidinium toxins. *Sci Rep* 2020;10(1):14791.
- [23] Price TJ, Basbaum AI, Bresnahan J, Chambers JF, De Koninck Y, Edwards RR, Ji RR, Katz J, Kavelaars A, Levine JD, Porter L, Schechter N, Sluka KA, Terman GW, Wager TD, Yaksh TL, Dworkin RH. Transition to chronic pain: opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Neurosci* 2018;19(7):383-384.
- [24] Radbruch L, Elsner F. Emerging analgesics in cancer pain management. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005;10(1):151-171.
- [25] Ray P, Torck A, Quigley L, Wangzhou A, Neiman M, Rao C, Lam T, Kim JY, Kim TH, Zhang MQ, Dussor G, Price TJ. Comparative transcriptome profiling of the human and mouse dorsal root ganglia: an RNA-seq-based resource for pain and sensory neuroscience research. *Pain* 2018;159(7):1325-1345.
- [26] Renthal W, Chamessian A, Curatolo M, Davidson S, Burton M, Dib-Hajj S, Dougherty PM, Ebert AD, Gereau RWt, Ghetti A, Gold MS, Hoben G, Menichella DM, Mercier P, Ray WZ, Salvemini D, Seal RP, Waxman S, Woolf CJ, Stucky CL, Price TJ. Human cells and networks of pain: Transforming pain target identification and therapeutic development. *Neuron* 2021;109(9):1426-1429.
- [27] Rostock C, Schrenk-Siemens K, Pohle J, Siemens J. Human vs. Mouse Nociceptors - Similarities and Differences. *Neuroscience* 2018;387:13-27.



IASP 2022
GLOBAL YEAR

Translating Pain Knowledge to Practice

FACT SHEET



- [28] Rowbotham MC, Duan RW, Thomas J, Nothaft W, Backonja MM. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial evaluating the efficacy and safety of ABT-594 in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *Pain* 2009;146(3):245-252.
- [29] Serrano A, Mo G, Grant R, Pare M, O'Donnell D, Yu XH, Tomaszewski MJ, Perkins MN, Seguela P, Cao CQ. Differential expression and pharmacology of native P2X receptors in rat and primate sensory neurons. *J Neurosci* 2012;32(34):11890-11896.
- [30] Sharma N, Flaherty K, Lezgiyeva K, Wagner DE, Klein AM, Ginty DD. The emergence of transcriptional identity in somatosensory neurons. *Nature* 2020;577(7790):392-398.
- [31] Shiers S, Klein RM, Price TJ. Quantitative differences in neuronal subpopulations between mouse and human dorsal root ganglia demonstrated with RNAscope in situ hybridization. *Pain* 2020;161(10):2410-2424.
- [32] Shiers SI, Sankaranarayanan I, Jeevakumar V, Cervantes A, Reese JC, Price TJ. Convergence of peptidergic and non-peptidergic protein markers in the human dorsal root ganglion and spinal dorsal horn. *J Comp Neurol* 2021;529(10):2771-2788.
- [33] Tavares-Ferreira D, Shiers S, Ray PR, Wangzhou A, Jeevakumar V, Sankaranarayanan I, Cervantes A, Reese JC, Chamesian A, Copits BA, Dougherty PM, Gereau RW, Burton MD, Dussor G, Price TJ. Spatial transcriptomics reveals unique molecular fingerprints of human nociceptors. *bioRxiv* 2021:2021.2002.2006.430065.
- [34] Thomas-Tran R, Du Bois J. Mutant cycle analysis with modified saxitoxins reveals specific interactions critical to attaining high-affinity inhibition of hNav1.7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(21):5856-5861.
- [35] Usoskin D, Furlan A, Islam S, Abdo H, Lonnerberg P, Lou D, Hjerling-Leffler J, Haeggstrom J, Kharchenko O, Kharchenko PV, Linnarsson S, Ernfors P. Unbiased classification of sensory neuron types by large-scale single-cell RNA sequencing. *Nat Neurosci* 2015;18(1):145-153.
- [36] Valeyev AY, Hackman JC, Wood PM, Davidoff RA. Pharmacologically novel GABA receptor in human dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 1996;76(5):3555-3558.
- [37] Valtcheva MV, Copits BA, Davidson S, Sheahan TD, Pullen MY, McCall JG, Dikranian K, Gereau RWt. Surgical extraction of human dorsal root ganglia from organ donors and preparation of primary sensory neuron cultures. *Nat Protoc* 2016;11(10):1877-1888.
- [38] Walker JR, Novick PA, Parsons WH, McGregor M, Zablocki J, Pande VS, Du Bois J. Marked difference in saxitoxin and tetrodotoxin affinity for the human nociceptive voltage-gated sodium channel (Nav1.7) [corrected]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(44):18102-18107.
- [39] Zhang X, Hartung JE, Friedman RL, Koerber HR, Belfer I, Gold MS. Nicotine Evoked Currents in Human Primary Sensory Neurons. *J Pain* 2019;20(7):810-818.



[40] Zhang X, Priest BT, Belfer I, Gold MS. Voltage-gated Na⁺ currents in human dorsal root ganglion neurons. *Elife* 2017;6.

[41] Zheng Y, Liu P, Bai L, Trimmer JS, Bean BP, Ginty DD. Deep Sequencing of Somatosensory Neurons Reveals Molecular Determinants of Intrinsic Physiological Properties. *Neuron* 2019;103(4):598-616 e597.

Autori

- Sulayman D. Dib-Hajj: Neurologické oddelenie a Centrum pre výskum neurovied a regenerácie, Lekárska fakulta Yale University, New Haven, Connecticut; and Rehabilitation Research Center, VeteransAdministration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut, USA
- Steve Davidson: Rehabilitačné výskumné centrum, Veterans Administration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut, USA
- Robert W. Gereau: Washington University Pain Center and Department of Anesthesiology , WashingtonUniversity School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA
- Michael S. Gold: Pittsburgh Center for Pain Research and Department of Neurobiology, University of PittsburghSchool of Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania, USA
- Theodore J. Price: Department of Neuroscience and Center for Advanced Pain Studies, University of Texasat Dallas, Texas, USA