



Tejidos y células humanas en estudios preclínicos: *Ganglio de la Raíz Dorsal (GRD)*

Sulayman D. Dib-Hajj^{1,2,3}, Steve Davidson⁴, Robert W. Gereau^{4,5}, Michael S. Gold⁶, Theodore J. Price⁷

¹Department of Neurology and ²Center for Neuroscience and Regeneration Research, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut 06510; ³Rehabilitation Research Center, Veterans Administration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut 06516; ⁴Department of Anesthesiology, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH 45267; ⁵Washington University Pain Center and Department of Anesthesiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110; ⁶Pittsburgh Center for Pain Research and Department of Neurobiology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh PA 15213; ⁷Department of Neuroscience and Center for Advanced Pain Studies, University of Texas at Dallas, Richardson, TX 75080

Address for correspondence

Sulayman D. Dib-Hajj, PhD

The Center for Neuroscience and Regeneration Research
127A, Bldg. 34
VA Connecticut Healthcare System
950 Campbell Ave.
West Haven, CT 06516
Tel: (203) 937 3802
Fax: (203) 937 3801
E-mail: sulayman.dib-hajj@yale.edu



El dolor es una experiencia sensorial y emocional iniciada por lo general en respuesta a un estímulo nocivo. Un grupo de neuronas sensoriales periféricas, denominadas nociceptores, son las primeras en activarse por este estímulo nocivo. Los cuerpos celulares de las neuronas sensoriales residen en el ganglio del trigémino (TG) o en los ganglios de la raíz dorsal (GRD), situados bilateralmente y adyacentes al tronco del encéfalo o la columna vertebral. Estas neuronas pseudounipolares dan lugar a una rama periférica que inerva a los órganos diana, por ejemplo, la piel y las vísceras, y una rama central que termina en el tronco encefálico o la asta dorsal de la médula espinal [4]. Las neuronas sensoriales son muy heterogéneas, con múltiples subpoblaciones, cada una de las cuales posee una gran variedad de respuesta a estímulos nociceptivos y no nociceptivos. Las neuronas nociceptivas no solo son responsables de detectar la presencia de una lesión tisular aguda, sino que parecen desempeñar un papel esencial en el dolor continuo y la hipersensibilidad asociados a múltiples estados de dolor crónico. Por lo tanto, la comprensión de los fundamentos moleculares y celulares de la transmisión de señales dentro y a través de los nociceptores es esencial para el desarrollo de tratamientos efectivos y seguros para el dolor.

Plataformas experimentales para estudiar el dolor

Si bien es éticamente permisible realizar algunos estudios del dolor en voluntarios humanos, estos tienen un alcance limitado, generalmente involucran a personas sanas y rara vez son susceptibles de intervenciones experimentales diseñadas para revelar los mecanismos. Como resultado, la comprensión mecanicista de la nocicepción y el dolor se ha derivado en gran medida del estudio de modelos animales en general, y de ratones y ratas en particular [23]. Aunque se comparten muchos mecanismos fisiopatológicos entre roedores y humanos, es muy probable que algunas diferencias importantes a nivel anatómico, molecular y celular hayan contribuido al fracaso al trasladar a humanos algunos analgésicos en investigación. Estas incógnitas en las bases fundamentales están comenzando a resolverse utilizando tejido del sistema nervioso humano. El uso de tejidos del sistema nervioso humano mejora nuestra comprensión de las bases moleculares y celulares de la nocicepción y su modulación en humanos. También servirá como plataforma celular para poner a prueba los estudios de dianas y fármacos antes de llevarlos a cabo en costosos ensayos clínicos en humanos [26]. Por lo tanto, en esta hoja informativa nos centraremos en los estudios sobre las neuronas del GRD en humanos.



Nociceptores, receptores, canales iónicos y dolor

En condiciones normales, los nociceptores están inactivos y limitan su respuesta a los estímulos nocivos. Sin embargo, estas neuronas pueden sensibilizarse. La sensibilización se caracteriza por la aparición de actividad espontánea, o bien un umbral más bajo para su activación, y/o una mayor respuesta a los mismos estímulos bajo una variedad de condiciones que incluyen lesión nerviosa, inflamación tisular y trastornos metabólicos o genéticos, que probablemente contribuyen y causan dolor [5]. Los receptores especializados que se encuentran en las terminaciones nerviosas de los nociceptores son activados por estímulos nocivos, lo que genera potenciales generadores que inician impulsos nerviosos en forma de potenciales de acción, que son generados por un conjunto de canales iónicos dependientes de voltaje. Estos potenciales de acción se propagan desde la periferia hasta la médula espinal, donde se liberan neurotransmisores desde los extremos axónicos. Posteriormente, la señal se transmite a las neuronas de la médula espinal y luego a los centros del cerebro, donde la señal es interpretada como dolor [4]. La evidencia respalda la idea de que la sensibilización puede deberse a cambios en cualquiera de estos puntos, desde la transducción de la señal hasta la liberación del transmisor. Un obstáculo para el tratamiento dirigido es que los procesos celulares que subyacen a la sensibilización parecen variar según el tipo de lesión, el sitio de la lesión, el tiempo posterior a la lesión, el sexo, la historia previa y la genética, incluyendo las posibles diferencias de especies entre modelos animales y humanos. Por lo tanto, la comprensión de la base molecular de la excitabilidad de los nociceptores humanos y su sensibilización es fundamental para el desarrollo de fármacos nuevos y más eficaces para el tratamiento del dolor.

Neuronas humanas GRD en la búsqueda para dilucidar el mecanismo del dolor

Gran parte de lo que sabemos sobre los fundamentos moleculares y celulares de la nocicepción se ha obtenido del estudio de los GRD de roedores. Los estudios anteriores de GRD humanos involucraron en su mayor parte un número limitado de neuronas del GRD debido a la escasez de tejido humano viable [2; 8; 36]. Esto está cambiando por el incremento en la recolección de tejidos humanos de donantes de órganos o autopsias y por las mejoras en los métodos para aislar y mantener neuronas en cultivo para estudios moleculares y funcionales [6; 12; 37]. El uso de GRD humano ha confirmado la permanencia de los mecanismos básicos de respuesta de los nociceptores en comparación a los modelos de roedores. Sin embargo, también se descubrieron diferencias



importantes que desafían algunos conceptos establecidos en los estudios previos en roedores, como se discutirá a continuación.

Diferencias específicas de especie en el transcriptoma y la composición celular de las neuronas del GRD

Usando análisis morfológicos y funcionales selectos, se han relacionado varias subpoblaciones de neuronas del GRD de roedores con modalidades sensoriales específicas. Recientemente, el advenimiento de nuevas tecnologías de secuenciación ha permitido estudios a nivel de una sola célula, y el análisis detallado del transcriptoma GRD ha confirmado la presencia de subgrupos de neuronas en el GRD que son responsables de modalidades sensoriales específicas en ratones y primates [14; 30; 35; 41]. Sin embargo, la demarcación de los subgrupos de neuronas sensoriales específicas de la modalidad en las neuronas GRD humanas no se corresponde con las especies estudiadas en algunas formas potencialmente importantes [18; 20; 25; 27; 31; 32]. Por ejemplo, los nociceptores humanos carecen de la separación distintiva entre nociceptores peptidérgicos y no peptidérgicos que se han estudiado en las neuronas de ratón, y la expresión del receptor térmico TRPV1, que también es activado por la capsaicina (la especia del chile picante), es más común en humanos que en neuronas del GRD de roedores [31-33]. Estos hallazgos nos obligan a reflexionar sobre la interpretación de estos experimentos funcionales, ya que las mismas subpoblaciones genéticamente definidas del GRD de ratones no se mantienen por completo en las neuronas del GRD humano. A medida que aparezca información procedente de estudios en GRD humano, esta ha de integrarse con los datos existentes de otras especies para así poder implementar nuestra capacidad de convertirlo en terapias.

Diferencias específicas de especie en las propiedades del canal iónico y del receptor

Los estudios de neuronas GRD en humanos tienen gran importancia en la actualidad puesto que muestran propiedades distintas en los canales iónicos y los receptores que son dianas para el desarrollo de analgésicos y de nuevos tratamientos para el dolor. Si bien la expresión de los canales iónicos y los receptores que regulan la activación neuronal en las neuronas GRD de roedores y humanos es muy similar, existen notables diferencias específicas de especie en las propiedades biofísicas y farmacológicas de los canales y receptores [8; 10; 12; 13; 16; 29; 36; 40].



Las neuronas GRD de roedores tienen umbrales más bajos para la generación de potencial de acción en comparación con las neuronas GRD humanas [6; 12], lo que sugiere una divergencia en la abundancia relativa o las propiedades biofísicas de los canales iónicos de las dos especies. Hartung et al [13] observaron diferencias específicas de especie en la magnitud y las propiedades biofísicas de los canales de calcio activados por voltaje, que desempeñan un papel esencial en la liberación de neurotransmisores en la primera sinapsis en el asta dorsal de la médula espinal. Zhang et al. [40] observaron que la sensibilidad al bloqueo de los canales de sodio con tetrodotoxina en humanos es menor que en las neuronas GRD de roedores.

Si bien estos estudios de GRD humanos son valiosos para establecer una base de conocimiento, hay casos en los que los resultados generados por diferentes laboratorios que estudian las neuronas GRD humanas no son del todo consistentes, por ejemplo, en las propiedades biofísicas de la corriente de sodio, que es resistente a la tetrodotoxina [12; 40]. Curiosamente, las diferencias más llamativas en los resultados informados en estos dos estudios se asociaron con las propiedades biofísicas de las corrientes resistentes a la tetrodotoxina en las neuronas GRD de rata, lo que destaca el impacto potencial de la heterogeneidad de las neuronas sensoriales que se registraron en los resultados generados. Otro ejemplo es la diferencia en las propiedades biofísicas y farmacológicas de los receptores de acetilcolina ionotrópicos en las neuronas del GRD humanas, que son diferentes de las que se encuentran en ratones o ratas [39]. Esta diferencia específica de especie podría explicar por qué los agonistas de estos receptores finalmente fallaron en los ensayos clínicos para el tratamiento del dolor [9; 11; 24; 28].

Además de los canales activados por voltaje y los receptores ionotrópicos, los receptores acoplados a proteína G (GPCR) también se han estudiado como posibles analgésicos. Algunos estudios han demostrado algunas diferencias funcionales y anatómicas de los receptores opioides, cannabinoides y otros receptores metabotrópicos entre los GRD de roedores y humanos [1; 3; 7; 18; 19]. Después de la activación de GPCR activada por ligando, la búsqueda del grado de similitud en los mecanismos de señalización de segundos mensajeros intracelulares y la expresión génica inducida por señales pueden ser vías importantes para la validación de nuevos analgésicos o descubrir nuevos mecanismos para la modulación de nociceptores entre especies.



A medida que se expanda la disponibilidad y el uso de GRD humanos y que otros grupos independientes recopilen más datos, surgirá una idea más clara acerca de estas diferencias. Sin embargo, ya es evidente que las diferencias específicas de la especie en la expresión y las propiedades de los canales y los receptores están modificando nuestras opiniones sobre las bases moleculares y celulares de la nocicepción [17].

Limitaciones y oportunidades para trasladar este conocimiento a la práctica clínica

El conjunto de datos de los estudios de GRD humanos aún es limitado en número, y el acceso a este tejido aún no está ampliamente disponible. En su mayoría, solo está disponible aquel procedente de donantes de órganos o bien procedente de quienes por definición han experimentado un evento catastrófico, resecciones quirúrgicas o autopsias rápidas, por lo que es discutible etiquetar estas neuronas como "normales". De hecho, los donantes de órganos que se seleccionan son aquellos libres de enfermedades infecciosas, trastornos y cánceres que pueden comprometer los trasplantes y que a menudo son responsables del dolor crónico.

Sin embargo, están surgiendo estudios en GRD de pacientes con dolor crónico [15; 21], comparadas con datos de neuronas en sujetos sin diagnóstico dolor. Es importante destacar que los datos existentes no son lo suficientemente completos para abordar la heterogeneidad entre los donantes en función de una serie de factores (algunos fácilmente identificables y otros desconocidos, incluidas las diferencias biológicas e históricas), que probablemente contribuyan a la variabilidad interindividual en respuesta a estímulos nocivos entre humanos. Por lo tanto, se necesitan estudios adicionales más extensos que utilicen neuronas del GRD humano, recopilando mayor información sobre la historia de los donantes. Esto solo será posible recopilando más tejido de manera rutinaria y llevándolo a la práctica ampliamente.

Las diferencias específicas de especie en las propiedades de los canales de iones y la farmacología también pueden aportar información para el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento del dolor. Por ejemplo, Walker et al [38] determinaron que el canal Nav1.7 humano, que es una diana importante para el desarrollo de fármacos para tratar el dolor, es > 200 veces más resistente al bloqueo por la neurotoxina saxitoxina de lo previsto, e identificaron dos residuos en el vestíbulo exterior del canal que son diferentes entre los canales Nav de primates y no primates, y que son la causa de la resistencia a esta toxina. A partir de esta base de información, se desarrolló un derivado



de la saxitoxina como bloqueador selectivo de Nav1.7 para ensayos clínicos en tratamiento del dolor [22; 34].

En general, se espera que las diferencias entre especies en las propiedades de los canales iónicos y los receptores confieran diferentes propiedades de activación y respuesta a los fármacos en estas neuronas, lo que hace imperativo que estos nuevos fármacos se prueben en sus dianas en las células humanas correspondientes. Además, será necesaria una clasificación según las modalidades sensoriales específicas de los subconjuntos de neuronas del GRD humano para desarrollar tratamientos para el dolor basados en sus mecanismos. Con el creciente acceso a las neuronas humanas y las mejoras continuas en su caracterización, podremos conseguir una mayor eficiencia a la hora de extrapolar los hallazgos de los modelos animales y la identificación de nuevos objetivos que no podrían haberse logrado a partir de los estudios previos.

Bibliografía

- [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.
- [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, Awani 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, Schroeder 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, Amagasa 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, Chamesian 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.
- [28] Rowbotham MC, Duan RW, Thomas J, Nothhaft 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.

Carmen Fuentes M.D., Alex Barroso PhD.

Hospital Regional Universitario de Málaga. Spain.