



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

**Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina**

**Instituto de Fisiología
Laboratorio de Biofísica Cardíaca**

“Importancia de los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.6-1.9 en la neuropatía dolorosa”

Tesis para obtener el grado de:

Licenciatura en Biomedicina

Presenta:

Keyla Ximena Castillo Martínez

Director de tesis:

D.C. Eduardo Marcos Salinas Stefanón

Puebla, Pue., Junio de 2021

Índice	
Abreviaturas	3
Agradecimientos	5
Resumen	6
Introducción	7
Justificación	9
Objetivo	10
Canal de sodio voltaje dependiente	11
Función y estructura de los canales de sodio voltaje dependientes	13
Subunidad α	13
Filtro de selectividad	14
Subunidad β	15
Cinética del canal de sodio dependiente de voltaje	15
Corriente de sodio (I_{Na})	17
Canal de sodio Na_v 1.6	18
Canal de sodio Na_v 1.7	20
Canal de sodio Na_v 1.8	21
Canal de sodio Na_v 1.9	22
Dolor	25
Nocicepción	25
Neuropatía dolorosa	26
Epidemiología	27
Causas	27
Síntomas	29
Mecanismos fisiopatológicos	31
Actividad ectópica nerviosa	31
Sensibilización central	34
Mutaciones	36
Canales de sodio y la neuropatía dolorosa	38
Tratamiento	46
Conclusiones	49
Bibliografía	51

Abreviaturas

AIS	Segmento inicial del axón
Ala/A	Alanina
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AP	Potencial de acción
Asp/D	Asparagina
CCI-ION	Constricción crónica del nervio infraorbital
DRG	Raíz dorsal del ganglio
DEKA	Aminoácidos del filtro de selectividad
DI, DII, DIII, DIV	Dominios (1, 2, 3, 4)
DPN	Neuropatía diabética periférica
ERK1/2	Quinasa regulada por señal extracelular 1 y 2
GABA	Ácido gamma aminobutírico
Glu/E	Glutamato
GDNF	Factor neurotrófico derivado de células gliales
GTP	Guanosina trifosfato
LTP	Potenciación de término largo
Lys/K	Lisina
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógeno
Na _v	Canal de sodio dependiente de voltaje
NeuN	Antígeno neural nuclear
NMDA	Ácido-N-metil-D-aspartático
PD	Dominio del poro
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PHN	Neuralgia postherpética
PN	Neuronas de proyección nociceptiva
RNA	Ácido ribonucleico
S1, S2, S3, S4, S5, S6	Segmentos (1, 2, 3, 4, 5, 6)

SC	Sensibilización central
SCS	Estimulación de médula espinal
SFSN	Neuropatía de fibras sensoriales pequeñas
SNC	Sistema nervioso central
SNL	Ligadura de médula espinal
SNP	Sistema nervioso periférico
TG	Ganglio trigeminal
TN	Nervio trigeminal
TRP	Canales receptores de potenciales transitorios
TRPM8	Canales receptores de potenciales transitorios melastina 8
TRPV1	Canales receptores de potenciales transitorios vaniloide tipo 1
TTX	Tetrodotoxina
VGSC	Canales de sodio dependientes de voltaje

Agradecimientos

Mi familia es mi mayor inspiración, no hay nada en este mundo que no haría por ellos, el amor y el apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida me moldeó en la persona que ahora soy.

A mis amigos, Estefanía, Diana, Brenda, Jiovanni, Christopher, Deyanira, Danayara y Aylin que me enseñaron que la humildad es importante para ser un gran profesional, que me apoyaron y me animaron cuando ya no podía más y que me enseñaron el verdadero significado de la amistad.

Gracias a mi tutor el D.C. Eduardo Marcos Salinas Stefanon, a Claudia y a mis compañeros de laboratorio que me dieron la oportunidad de pertenecer por primera vez a un laboratorio y por enseñarme habilidades que estoy segura de que un día necesitaré.

Resumen

La familia de canales de sodio dependientes de voltaje está conformada por nueve isoformas; de estas, los canales Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 han sido asociados a la nocicepción y las vías del dolor, aunque aún no se sabe hasta qué punto influyen estos canales en el dolor neuropático.

El dolor neuropático se produce cuando existe una lesión en el sistema nervioso somatosensorial. Existen mecanismos que son esenciales para el desarrollo y la modulación de la patología y que pueden ser el punto de partida para la investigación y el desarrollo de tratamientos efectivos que minimicen la enfermedad o que simplemente la erradiquen.

En este trabajo teórico se profundizará en la fisiopatología del dolor neuropático y en las características biofísicas de las isoformas Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 de los canales de sodio dependientes de voltaje para poder entender mejor la importancia de estas proteínas en la neuropatía dolorosa. Se concluye que los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 se encuentran estrechamente relacionados con la fisiopatología descrita en el dolor neuropático.

Introducción

“Toda ciencia viene del dolor. El dolor busca siempre la causa de las cosas, mientras que el bienestar se inclina a estar quieto y a no volver la mirada atrás”-Stefan Zweig.

Los canales iónicos son una gran familia de proteínas encargadas principalmente de regular la entrada o salida de moléculas a y de una célula; esta función intrínseca los ha convertido en tema popular de investigación. Los canales de sodio dependientes de voltaje son parte de esta familia y gracias a su localización en varios sistemas importantes para la función correcta del cuerpo humano se han convertido en el foco de atención de investigadores a lo largo de la historia, no solo para analizar su funcionamiento, también para encontrar si los canales de sodio dependientes de voltaje pueden ser una diana para el tratamiento de enfermedades neurológicas como la neuropatía dolorosa.

El dolor neuropático podría tener su origen en una lesión o enfermedad en el sistema somatosensorial. El sistema somatosensorial controla la percepción de calor, frío, presión, vibración y movimiento, así que cualquier lesión o enfermedad que intervenga puede provocar una distorsión en la detección de este tipo de estímulos (Teskaye, 2013).

La investigación de canales iónicos comenzó cuando Hodgkin y Huxley publicaron, en 1952, su análisis del potencial de acción en un axón de calamar gigante usando por primera vez la técnica de Patch Clamp (Hodgkin, A.L. ,Huxley, A. F., 1952). Su investigación no solo hablaba de los potenciales de acción, también demostraba que la corriente de sodio era muy importante para el inicio del potencial de acción, estos resultados fueron un catalizador para el rápido desarrollo y descubrimiento de los canales iónicos y su función. Una de las metas en la investigación de los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC, por sus siglas en inglés) es encontrar las diferencias funcionales de cada isoforma que podrían representar una diferencia en la excitabilidad de la célula (Chatelier, 2010).

Es gracias a los trabajos de científicos expertos en canales iónicos que se reveló la existencia de enfermedades causadas por mutaciones en los canales de iónicos, llamadas canalopatías, las cuales pueden provocar un aumento o disminución en las funciones de estos canales y sus propiedades biofísicas. Las variaciones en los canales de sodio dependientes de voltaje han mostrado provocar patologías en el tejido donde se encuentran expresadas, en el caso de las isoformas Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 estas mutaciones se encuentran relacionadas con el sistema nervioso.

Recientemente se han utilizado mutaciones en los canales iónicos para ayudar al estudio de enfermedades cardiacas o neuronales. Existen mutaciones que han sido relacionadas con el dolor neuropático y síndromes ligados a la enfermedad lo que podría ayudar al tratamiento de las enfermedades o, al menos, de los síntomas ocasionados por las mutaciones.

Es por todo esto que en el presente trabajo se analizó la relación que tienen los canales de sodio dependientes de voltaje y el dolor neuropático, así como la viabilidad del uso de estos canales como diana para fármacos que ayuden en el tratamiento de la neuropatía dolorosa.

Justificación

La información por parte de nervios periféricos no puede llegar al sistema nervioso sin la ayuda de los canales de sodio dependientes de voltaje que inician el potencial de acción al permitir el paso de iones de sodio por la membrana celular. Una disrupción de la actividad de estos canales puede provocar patologías dentro del sistema nervioso y un ejemplo de ellas es la neuropatía dolorosa.

El estudio de la neuropatía dolorosa se ha caracterizado por el análisis de los síntomas para encontrar un posible tratamiento; sin embargo, en años recientes se ha encontrado que canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.6-1.9 pueden influir de manera importante en el desarrollo de esta enfermedad y podrían ser de gran utilidad para encontrar un tratamiento más efectivo para los pacientes aquejados por ella.

Con base en lo anterior y con el fin de esclarecer la relación entre los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.6-1.9 y la neuropatía dolorosa, se propone el análisis de artículos publicados en revistas indexadas de investigación básica y aplicada sobre canalopatías y neuropatías de Na_v 1.6-1.9 que aporten información relacionada con la neuropatía dolorosa y con los ya mencionados canales de sodio dependientes de voltaje.

Objetivo

Describir y analizar el impacto de los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.6-1.9 en la neuropatía dolorosa, a partir de la recopilación de información relevante al tema presentado.

Canal de sodio voltaje dependiente

Los Na_v o canales de sodio dependiente de voltaje son un conjunto de proteínas que controlan el paso de iones de sodio a través de la membrana celular. La actividad de estos canales es modulada por cambios en el potencial de la membrana celular. Son miembros de una super familia de estructuras homólogas de proteínas de canales dependientes de voltaje que incluye los canales de potasio (K_v), los canales de calcio (Ca_v) y los canales regulados por nucleótidos cíclicos (CNG) (Yarov-Yarovoy, 2012).

Los canales Na_v forman una familia de nueve subfamilias de canales. Está compuesta por nueve genes que originan nueve proteínas distintas (Na_v 1.1- Na_v 1.9) y una subfamilia descubierta recientemente denominada Na_vX (Caterall, 2012). Los genes en ratas y humanos que codifican las subunidades alfa de estas isoformas son los más estudiados hasta la fecha (Figura 1) (Yu, 2003).

Se ha visto que existe un 50% de similitud entre la secuencia de aminoácidos que codifican esta familia de canales. Los genes que codifican para los canales Na_v 1.1, 1.2, 1.3 y 1.7 se encuentran localizados en el cromosoma humano 2, los canales Na_v 1.5, 1.8 y 1.9 son codificados por genes en el cromosoma humano 3p21-24, aunque los canales Na_v 1.4 y Na_v 1.6 muestran un 85% de similitud en sus secuencias de aminoácidos, son codificados por genes en diferentes cromosomas, el cromosoma humano 11 para Na_v 1.4 y el cromosoma 15 para Na_v 1.6 (Goldin, 2000).

Estas isoformas se diferencian en: su expresión ontogénica y regional y en sus características electrofisiológicas. En la Tabla 1 se muestran las nueve isoformas dependientes de voltaje, el gen del que se expresan, el lugar donde se expresan y su sensibilidad a tetrodotoxina (TTX).

Los principales canales de sodio dependientes de voltaje en el sistema nervioso central (SNC) son del Na_v 1.1 al Na_v 1.3, en el músculo esquelético el principal canal es el Na_v 1.4 mientras que el canal Na_v 1.5 se expresa principalmente en el músculo cardiaco. Por otro lado, los canales que se expresan

principalmente en el sistema nervioso periférico son los canales Na_v 1.7 al Na_v 1.9 y por último el canal voltaje dependiente Na_v 1.6 se puede expresar tanto en el SNC como en el SNP (Catterall W. A., 2005). Los canales Na_vX no son dependientes de voltaje y pueden actuar como sensores de sodio (Caterall, 2012). Cuando ocurren cambios en las propiedades de alguna de estas isoformas, esto podría resultar en enfermedades, denominadas canalopatías, que pueden afectar al músculo cardíaco o esquelético, y al sistema nervioso.

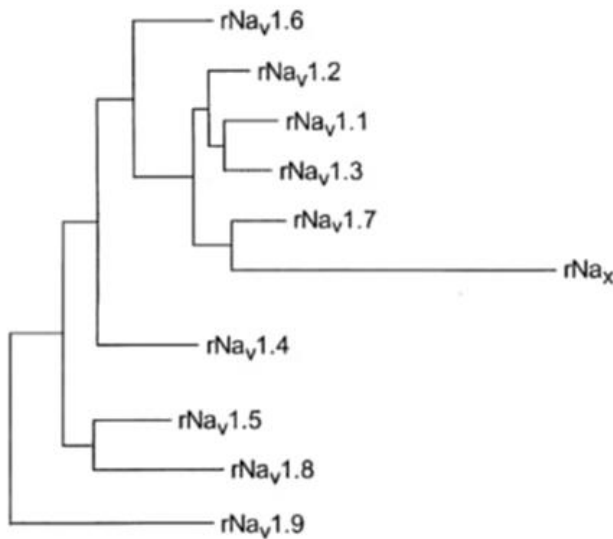


Figura 1. Árbol filogenético de los canales de sodio dependientes de voltaje. Las proteínas de los canales de sodio de rata fueron alineadas usando ClustalW y el árbol construido por PAUP. Modificado de (Yu, 2003).

Subunidad α	Gen	Cromosoma	Expresión	TTX EC50
Na_v 1.1	SCN1A	2q24, 2q23	SNC	+
Na_v 1.2	SCN2A	2q24, 2q23	SNC, SNP	+
Na_v 1.3	SCN3A	2q24, 2q23	SNC, embrionario, corazón	+
Na_v 1.4	SCN4A	17q23, 11	Músculo Esquelético	+
Na_v 1.5	SCN5A	3p21-24	Corazón/SNC	-
Na_v 1.6	SCN8A	12q13, 15	SNP, corazón	+

Na_v 1.7	SCN9A	2q24	SNC, SNP	+
Na_v 1.8	SCN10A	3p22,2	SNC, corazón	-
Na_v 1.9	SCN11A	3p22,2	SNC	-
Nax	SCN7A	2q24,2	Pulmón/ SNC	+

Tabla1. Se muestran el gen, el cromosoma, la distribución y la sensibilidad a tetrodotoxina (TTX). Modificado y adaptado de (Wang, 2018; Caterall, 2012).

Función y estructura de los canales de sodio voltaje dependientes

Las subfamilias del canal de sodio dependiente de voltaje tienen en común una estructura proteica que está formada por subunidades β y solo una subunidad α , siendo la subunidad β la que cambia las propiedades cinéticas de la subunidad α (Caterall, 2012).

Subunidad α

La subunidad principal de los canales de sodio dependientes de voltaje es la subunidad α que forma el poro conductor de iones, y la puerta del canal que influye en la activación o inactivación del canal, está formada por 4 dominios o grupos heterólogos, numerados DI-DIV, de 6 segmentos transmembranales con forma de hélices α (S1-S6) (Payandeh, 2011).

Los segmentos S5 y S6 de cada dominio forman las paredes del poro y la conexión en forma de asas que unen ambos segmentos, llamada asa-P, forma el filtro de selectividad. El cuarto segmento S4 de los dominios se considera el sensor de voltaje, ya que está cargado positivamente por la presencia de lisinas y argininas que se encuentran cada tres aminoácidos (Figura 2) (Caterall, 2012).

Las asas que conectan los dominios entre sí se localizan en el citoplasma; las asas que conectan los dominios DI a DII y los dominios de DII a DIII son más largas que las que conectan los dominios de DI a DIV. El asa que conecta de forma intracelular a DIII con DIV funciona como una compuerta de inactivación obstruyendo el poro del canal desde el interior cuando la membrana se despolariza (Catterall W. A., 2005).

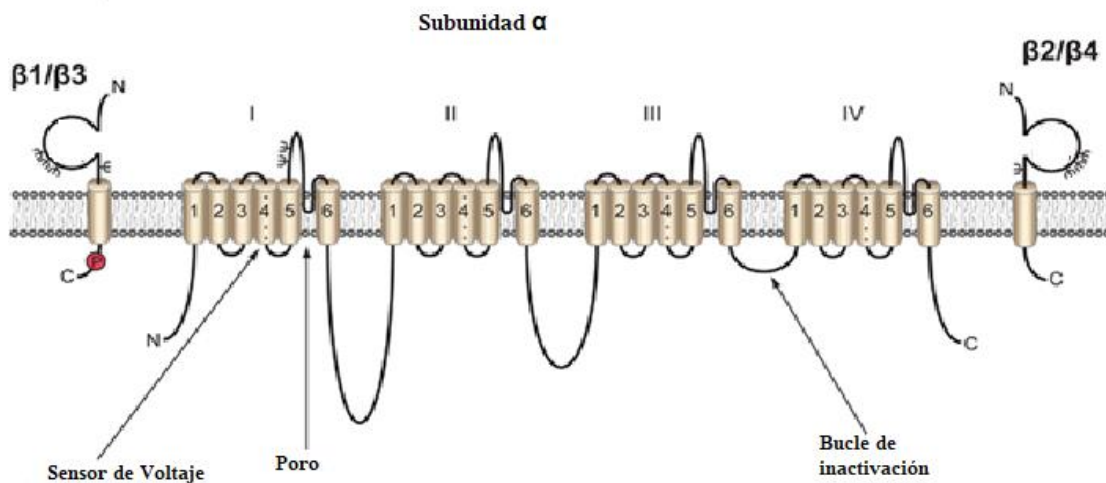


Figura 2. Representación esquemática de los canales de sodio dependientes de voltaje. Se muestra los 4 dominios que conforman la subunidad α y las subunidades β . Modificado de Brackenbury e Isom 2011.

Filtro de selectividad

La selectividad por el ion de Na^+ está determinada por un anillo estrecho conocido como motivo DEKA o anillo DEKA conformado por un aminoácido dado por cada asa-P, el dominio I da un aspartato (Asp, D), el dominio II un glutamato (Glu, E), el dominio III una lisina (Lys, K) y el dominio IV una alanina (Ala, A) (Lipkind, 2008).

Cuando el ion de sodio hidratado pasa por el filtro de selectividad, interactúa con los dos grupos de oxígeno del glutamato; durante el proceso, los residuos en el anillo DEKA forman enlaces de hidrógeno e interacciones de Van der Waals y la lisina atrae al ion de sodio (Yamagishi, 2001). El ion de potasio no es capaz de atravesar el poro fácilmente ya que no forma una interacción fuerte con el glutamato y es repelido fuertemente por la lisina (Peters, 2014).

Subunidad β

Las subunidades β o subunidades auxiliares de los canales de sodio dependientes de voltaje, poseen un peso entre 30-36 kDa. Existe una familia con cinco isoformas (β_1 , β_2 , β_3 , β_4 , β_5), codificadas por los genes SCN1B, SCN2B, SCN3B y SCN4B (Brakenbury, 2011). La subunidad β comprende un dominio amino terminal extracelular inmunoglobulínico, un segmento transmembrana y un dominio carboxilo terminal intracelular, siendo este más corto que el extracelular (Chatelier, 2010).

En sistemas de expresión heterólogos, las subunidades β_1 acelera la inactivación del canal, la β_2 acelera la inactivación y aumenta la corriente constante, y la β_3 aumenta la corriente constante (Qu Y, 2001).

La subunidad β_4 puede aumentar la amplitud de la corriente de Na sensible a TTX al activar canales con voltajes más negativos, por lo tanto, favorece estados abiertos sobre cerrados a potenciales hiperpolarizados y estados abiertos sobre inactivados en potenciales despolarizados (Aman, 2009).

Existen otras funciones reguladas por estas subunidades, como la adhesión celular, la mediación en procesos de señalización que regulan la excitabilidad eléctrica de la célula, tránsito molecular, migración y transcripción de la subunidad α (Isom, 2001).

Cinética del canal de sodio dependiente de voltaje

Los canales de Na dependientes de voltaje normalmente se encuentran en tres estados conformacionales: abierto, inactivado y cerrado (Caterall, 2012). Cuando la membrana de la célula se encuentra en reposo, los canales de sodio dependientes de voltaje se mantienen cerrados y no permiten el paso de iones de sodio. Sin embargo, cuando existe una despolarización, los sensores de voltaje son influenciados por el cambio de voltaje en el campo eléctrico de la membrana celular y comienzan a moverse a la posición activada. Una vez que los segmentos S4 se encuentran en la posición activada, los canales de sodio abren y permiten la

entrada de iones. La apertura del canal de sodio dura aproximadamente 2 a 5 ms y a partir de ahí el canal comienza el proceso de inactivación (Figura 3) (Bagnéris, 2015).

Para explicar la fase de inactivación, Armstrong y Bezanilla han propuesto el modelo de cadena y bola, donde la bola conectada al lado citoplasmático del canal por un asa se introduce en la luz del canal para bloquear el paso de iones (Armstrong C. B., 1977). Este bucle o asa contiene 3 residuos hidrófobos: Isoleucina, Fenilalanina y Metionina unidos a un conector intracelular que se encuentra entre los dominios III y IV (Figura 4) (Zhang F. X., 2013). En este estado, el canal se encuentra abierto, pero no es conductor de iones, la recuperación del canal ocurre en la repolarización y se desbloquea el canal.

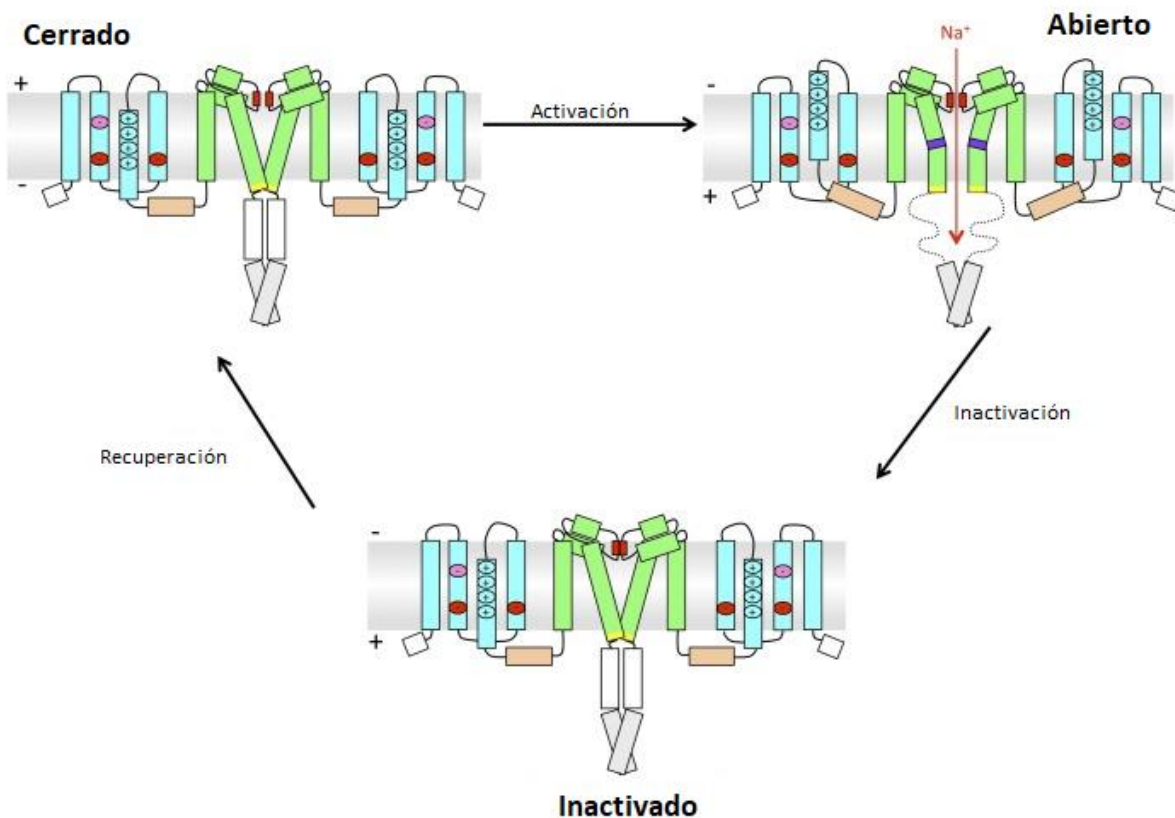


Figura 3. Representación esquemática de los estados conformacionales de los canales de sodio de procariotes. Las hélices del poro son de color verde, de color azul son las hélices S1-S4, el asa que une los segmentos S4-S5 es de color naranja, la hélice super enrollada es de color gris. Tomado y modificado de (Bagnéris, 2015).

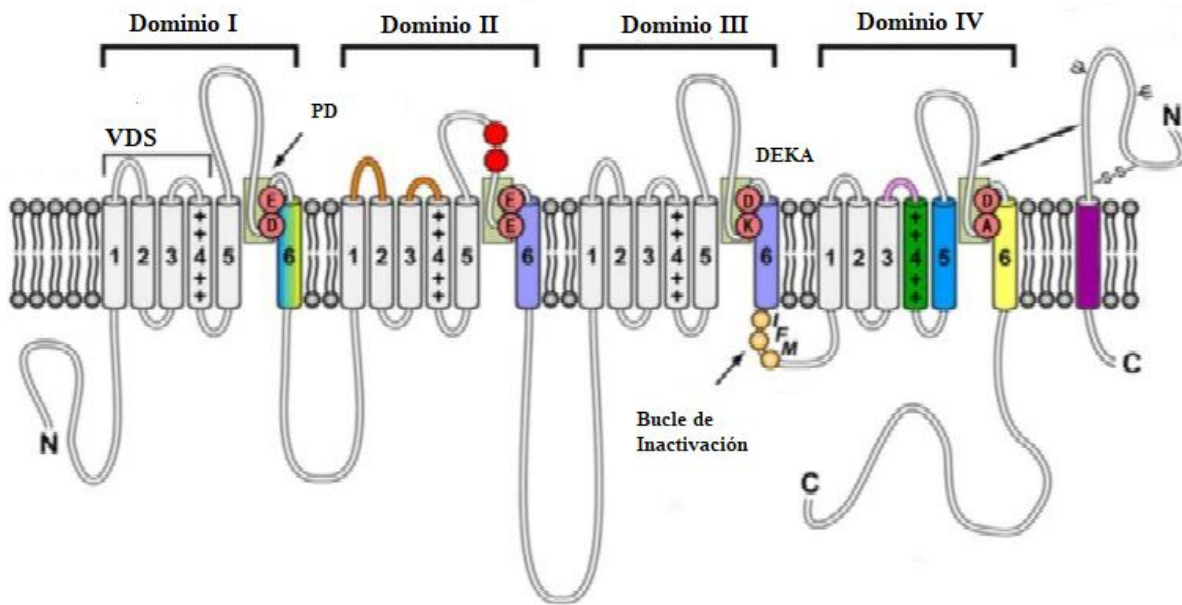


Figura 4. Representación de la estructura de la subunidad α de la VGSC y su farmacología. Se muestran 4 dominios, el bucle de inactivación con los residuos IFM (color crema) y el anillo DEKA. También se encuentra representado el sensor de voltaje y el dominio del poro. Se muestran algunos de los sitios de unión de toxinas; en rosa se muestra el sitio de unión de la saxitoxina y de la tetrodotoxina; en el sitio de color rojo se unen μ -conotoxinas; batracotoxina en amarillo; α toxinas de escorpión en lila; β toxinas en color naranja; cinguatoxinas y brevetoxinas en color azul; en verde las δ -conotoxinas; en morado los sitios de unión a piretroides. Figura adaptada y modificada de (Zhang F. X., 2013).

Corriente de sodio (I_{Na})

Hodgkin y Huxley en 1952 realizaron una serie de experimentos con el axón de calamar gigante donde se describieron por primera vez corrientes iónicas. Encontraron y demostraron 3 principales características de los canales iónicos: 1) conductancia iónica selectiva, 2) inactivación (lenta y rápida), y 3) la activación con dependencia de voltaje (Hodgkin, A.L., Huxley, A. F., 1952).

A partir de este descubrimiento, surgió una línea de investigación en la que se trataba de encontrar de forma detallada la función y características del canal y la morfología de la corriente de sodio encontrada por Hodgkin y Huxley (Figura 5) (Bagal, 2015). Es así como se encontró que, en condiciones fisiológicas, la corriente de sodio generada por el canal de sodio dependiente de voltaje es una corriente entrante la cual se activa aproximadamente a los **-40 mV** alcanzando el pico máximo en 1 ms aproximadamente de **-20 mV** (Caterall, 2012).

Corriente del canal de sodio

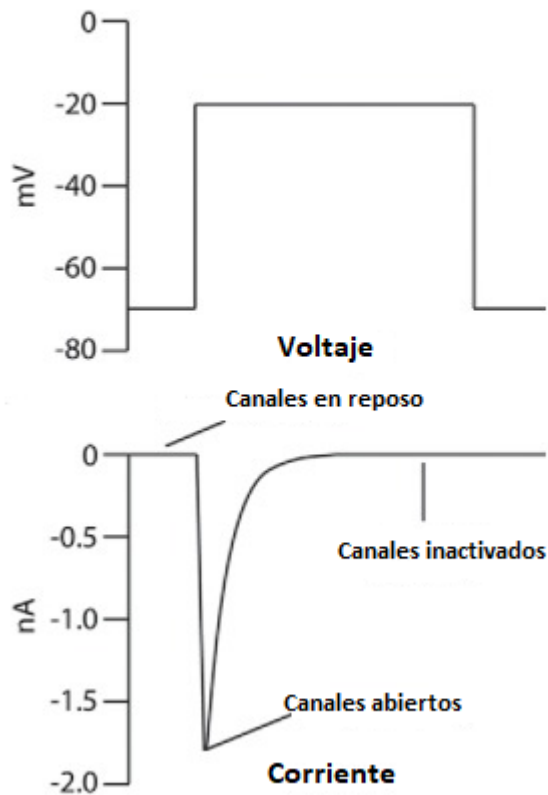


Figura 5. Muestra la corriente asociada a los estados por los que pasa el canal de sodio (abiertos, inactivados o cerrados). Tomado y adaptado de (Bagal, 2015).

Canal de sodio Na_v 1.6

El canal de sodio dependiente de voltaje Na_v 1.6 se expresa en distintos tejidos nerviosos como los axones mielinizados y desmielinizados del SNC y SNP, en membranas presinápticas y postsinápticas en el neocórtex y en el cerebelo, en las dendritas y también se ha encontrado que se expresan en los nodos de Ranvier de axones mielinizados del SNP (Figura 9) (Chatelier, 2010; Dib-Hajj S. C., 2010).

El papel del canal de sodio dependiente de voltaje Na_v 1.6 en la regulación de la excitabilidad neuronal se puede deber a tres propiedades del canal: activación dependiente del voltaje, su participación en la corriente persistente y

resurgente, y su localización en el segmento inicial del axón (AIS) donde inicia el potencial de acción (O'Brien, 2013).

La corriente persistente (I_{Na_p}) es una corriente de sodio estable que se mantiene después del disparo del potencial de acción; en condiciones fisiológicas, esta corriente ayuda a amplificar o integrar espacialmente los potenciales sinápticos y facilita el disparo del potencial de acción repetitivo (Figura 6) (Chen Y. Y., 2008).

La corriente resurgente de sodio es un tipo de corriente que fue descrita por primera vez en las neuronas de Purkinje, se activa con un curso temporal lento durante la repolarización y luego se desactiva (Sittl, 2012). Estas corrientes a su vez generan una corriente de entrada después de cada potencial de acción y permiten una rápida recuperación de la inactivación (Figura 6) (Chen Y. Y., 2008). Este tipo de corriente es especialmente importante en células neuronales como las células de Purkinje cerebelares donde se han observado potenciales de acción repetitivos (Osorio N., 2010).

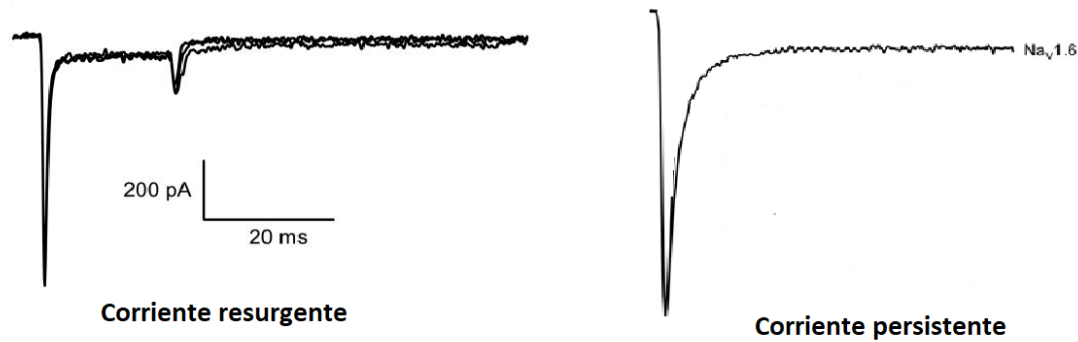


Figura 6. En la corriente persistente se muestra que la corriente promedio tiene una despolarización de +30 mV a un potencial de retención de -100 mV. En la corriente resurgente, de un potencial de retención de -100 mV, una célula que expresa canales $Na_v 1.6$ fue despolarizada a +30 mV durante 40 ms para activar e inactivar a los canales de sodio y después la célula fue repolarizada a potenciales de membrana de -60 mV a +10 mV por 40ms generando un pico a los 5 o 10 ms después de la repolarización. Tomada y modificada de (Chen Y. Y., 2008)

Canal de sodio Na_v 1.7

El canal Na_v 1.7 pertenece a la familia de 9 canales de sodio dependientes de voltaje localizados en distintos tejidos en el cuerpo humano. Este canal ha sido localizado principalmente en células mielinizadas del ganglio de la raíz dorsal (DRG) (Figura 9) (Catterall W. A., 2005; Dib-Hajj S. C., 2010). Se ha demostrado la expresión de estos canales en células de cáncer metastático de seno y células tumorales de próstata (Fraser, 2005), también se han reportado en neurona del ganglio cervical superior perteneciente a los ganglios simpáticos (Djoughri, 2003).

A pesar de expresarse en distintos tipos celulares, los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.7 generalmente se encuentran en neuronas con diámetro pequeño y en células que han sido identificadas como nociceptores (Cummins T. D.-H., 2004).

En cuanto a sus propiedades biofísicas, se encontró que el canal Na_v 1.7 es sensible a concentraciones nanomolares de tetrodotoxina (TTX), también cuenta con una recuperación lenta del estado de inactivación y muestra un desarrollo lento del estado cerrado (Herzog R. C.-H., 2003). El desarrollo lento del estado de cerrado-inactivado ayuda a que el canal pueda responder a despolarizaciones pequeñas produciendo una corriente en rampa. El canal Na_v 1.7 puede funcionar como un amplificador de la corriente en nociceptores (Figura 7) (Cheng X. D.-H., 2008).

En experimentos en que se ha bloqueado la expresión del canal Na_v 1.7 en nociceptores que cuentan con la coexpresión de Na_v 1.8 muestran pérdida de mecanosensación y de dolor inflamatorio (Nassar, 2004). También se ha demostrado que la neuropatía dolorosa se desarrolla en roedores a los que se les bloquea la expresión de Na_v 1.7 en neuronas sensoriales positivas a Na_v 1.8, lo cual demuestra que el canal Na_v 1.7 podría tener un papel importante en el desarrollo del dolor neuropático (Minett, 2012).

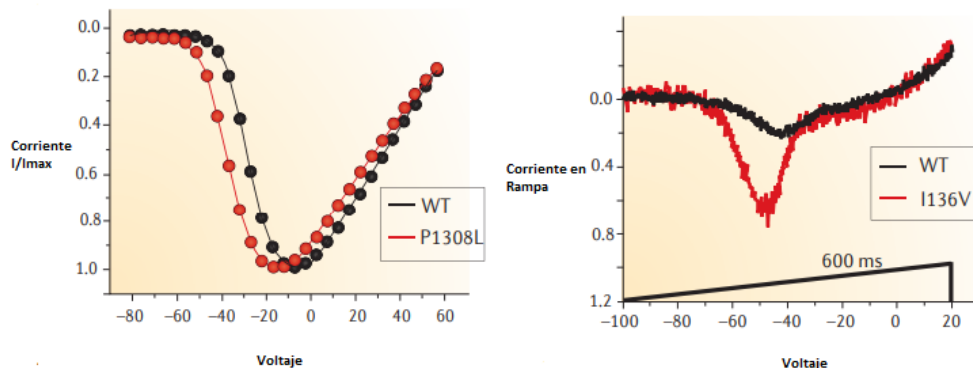


Figura 7. A la izquierda se muestra una comparación entre el canal Na_v 1.7 (WT) y el canal P1308L mutante de Na_v 1.7 donde el canal mutante muestra un cambio hiperpolarizante (-9.6 mV) en la activación. En el lado derecho se muestra la corriente tipo rampa de Na_v 1.7 (WT) y el canal I136V mutante de Na_v 1.7 y se ve como esta corriente se encuentra aumentada en comparación. Tomado y adaptado de (Cheng X. D.-H., 2010; Cheng X. D.-H., 2008).

Canal de sodio Na_v 1.8

Los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.8 son expresados principalmente por neuronas sensitivas periféricas (neuronas de los DRG) y se ha mostrado que tiene un papel importante en el dolor crónico (Figura 9) (Dib-Hajj S. C., 2010).

Las características biofísicas de los canales Na_v 1.8 muestran que el canal es resistente a concentraciones altas de TTX y que, además, genera una corriente resistente a TTX de activación e inactivación lentas. Además de esto, los canales presentan una recuperación rápida de la inactivación (Coates, 2019).

Se puede decir, entonces, que el canal Na_v 1.8 carga la mayor parte de la corriente de sodio responsable de la fase de elevación del potencial de acción y que tiene una contribución importante para el disparo repetitivo de las neuronas y de su excitabilidad. A partir de esto se puede teorizar que este canal puede contribuir la fisiopatología del dolor neuropático y su fisiopatología (en especial la hiperalgesia y la alodinia) (Blair, 2002).

Por otro lado, experimentos han mostrado que las variantes más comunes del canal Na_v 1.8 tienen un impacto importante en la función y la experiencia del dolor en humanos; la mutación A1073V del canal Na_v 1.8 podría inducir un cambio

hiperpolarizante en la activación del canal y la reducción en el disparo repetitivo de las neuronas debido al aumento en la inactivación del canal (Duan, 2016).

Sin embargo, en un estudio reciente se encontró que la curva corriente/voltaje registrada en la mutación A1073V muestra un cambio despolarizante de al menos -10 mV en comparación con la corriente Na_v 1.8, lo que no concuerda con el estudio anterior; estas discrepancias se pueden deber a la línea celular en la que se realizaron los experimentos y el contenido celular podría influir en este comportamiento del canal (Figura 8) (Coates, 2019).

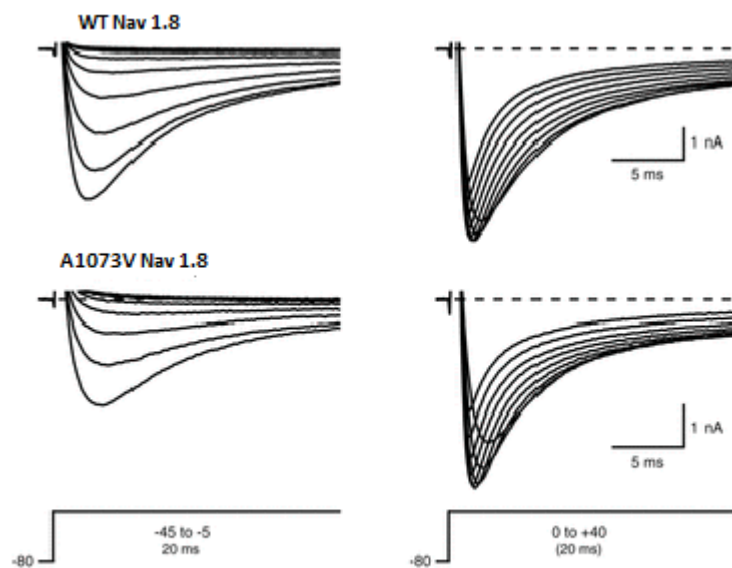


Figura 8. WT Na_v 1.9 Muestra corrientes entrantes de sodio producidas por un potencial de retención de -80 mV con potenciales de prueba de -45 a +40 mV, las corrientes comenzaron a activarse a -35 mV y alcanzaron el pico de 0 a +5 mV. A1073V Na_v 1.8 muestra las corrientes de sodio que comenzaron a activarse a -25 mV, aproximadamente, y alcanzaron su pico de +10 mV a +15 mV. Tomado y adaptado de (Coates, 2019).

Canal de sodio Na_v 1.9

El canal Na_v 1.9 se co-expresa con Na_v 1.8 en neuronas de DRG de diámetro pequeño, neuronas intrínsecas mientéricas y en neuronas del ganglio trigeminal (Figura 10) (Huang, 2014). Así como el canal Na_v 1.8, el canal Na_v 1.9 se localiza en nociceptores; su localización, tanto en el sistema nervio central (SNC) como en el sistema nervioso periférico (SNP), nos ayuda a inferir que este canal tiene un papel importante en la modulación de neurotransmisores y en la integración de

potenciales de acción en la primera sinapsis en el asta dorsal de la médula espinal en la vía del dolor (Figura 9) (Dib-Hajj S. C., 2010).

Las propiedades biofísicas de estos canales sugieren que este no contribuye a la amplitud de la curva en los potenciales de acción y que actúan como canales umbral contribuyendo a la conductancia del sodio regulando el potencial de reposo y la respuesta a la despolarización de estímulos que no llegan al umbral (Herzog R. C., 2001).

De igual manera, la inactivación del canal Na_v 1.9, es considerada ultra lenta y genera una corriente de sodio persistente después de la activación (Huang, 2014). Este canal se activa a voltajes más hiperpolarizados que los demás; esta cualidad de los canales provoca una superposición entre la activación y la inactivación, lo que produce un rango amplio de voltajes que se encuentra entre el voltaje fisiológico y el potencial de reposo en el que el canal puede abrirse de manera espontánea o mantenerse abierto (Cummins T. D.-H., 1999).

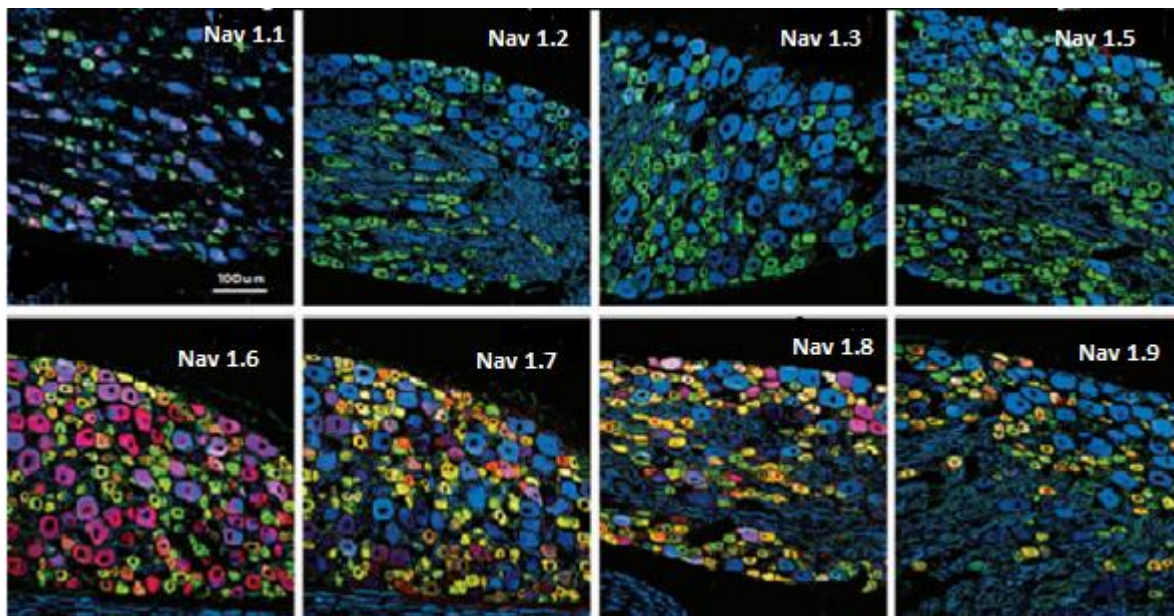


Figura 9 Muestra la expresión de los canales Na_v 1.1, 1.2, 1.3, 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9, en neuronas DRG. En azul (periferina), neuronas de diámetro pequeño; en verde (neurofilamento), neuronas de diámetro mediano y grande. La coexpresión de los canales se marca en amarillo y el neurofilamento en rosa. Tomado y adaptado de (Dib-Hajj S. C., 2010).

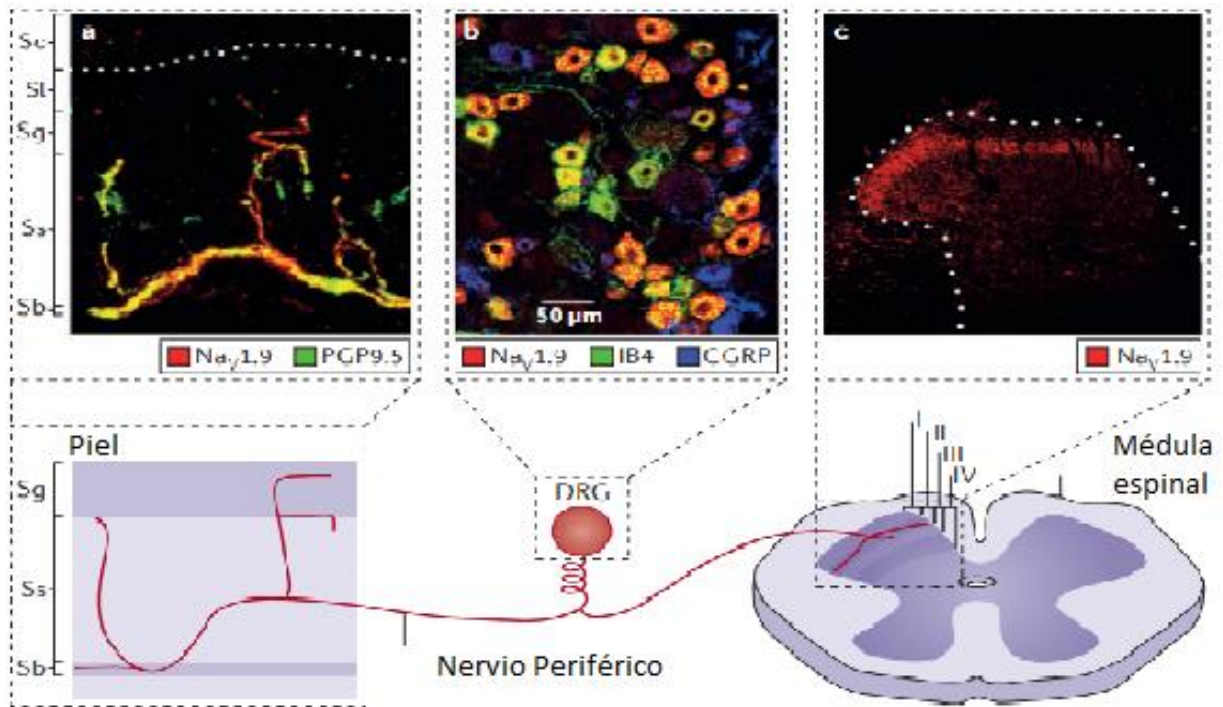


Figura 10. (a) Los canales Na_v 1.9 (rojo) posiblemente se encuentran en fibras nerviosas de la epidermis (verde). (b) En las neuronas DRG se muestra la expresión el canal Na_v 1.9 en rojo. (c) Muestra terminales presinápticas en el asta dorsal de la médula expresando el canal Na_v 1.9. Adaptado de (Huang, 2014).

Dolor

El dolor es una sensación incómoda y una experiencia emocional asociada con daño o potencial daño de un tejido, se clasifica en dolor crónico (dura aproximadamente 3 meses y es el dolor que persiste después de la recuperación del daño), dolor agudo (este dolor se termina una vez que el tejido se recupera) y dolor neuropático (Jensen, 2011).

El dolor también se puede clasificar en dolor nociceptivo (es el dolor protector, ya que localiza estímulos dañinos para el individuo), dolor inflamatorio (provocado por el daño de tejidos donde se involucran células inmunitarias), y dolor patológico (puede ser causado por una disfunción o por daño en el tejido nervioso, como la neuropatía dolorosa) (Woolf, 2010).

Para identificar y diagnosticar el dolor neuropático es necesario entender perfectamente lo que implica la nocicepción y la fisiopatología de la neuropatía dolorosa.

Nocicepción

La nocicepción en la transmisión y la sensación del dolor, este proceso es normalmente dividido en 4 fases: transducción, transmisión, modulación y percepción (Basbaum, 2009).

El proceso comienza con la transducción, en esta fase, las terminaciones nerviosas libres que contienen nociceptores reciben estímulos mecánicos, térmicos o químicos dañinos que después son convertidos en potenciales eléctricos necesarios para la transmisión del dolor (Mouraux, 2013).

El siguiente paso es la transmisión de la señal nociva: dos tipos de fibras nociceptivas transmiten el impulso, las fibras C y las fibras A δ , desde donde ocurre la transducción hasta la médula espinal. El impulso viaja desde las fibras hasta el asta dorsal de la médula espinal seguido por la transmisión del impulso al tronco

encefálico, de ahí al tálamo y por último a la corteza para ser procesado (Loeser, 1999).

La modulación de la transmisión del dolor ocurre en varias partes del SNC. Las vías descendentes del dolor liberan sustancias que modulan la transmisión, se les llama descendentes porque van del tronco encefálico hasta el asta dorsal de la médula espinal (Usunoff, 2006).

El último paso de la nocicepción es la percepción y puede ser influenciado por factores emocionales o de comportamiento. Esta fase es subjetiva, ya que la percepción depende de cada individuo y por lo tanto no se puede saber con exactitud su localización cerebral (Pasero, 2004).

Neuropatía dolorosa

El origen de la neuropatía dolorosa o dolor neuropático se da en la lesión o daño al sistema somatosensorial, incluyendo nervios periféricos y neuronas del SNC, y está relacionado con el aumento en prescripciones médicas y en el consumo de opiáceos como la oxicodona (Tibbs, 2016).

Los síndromes de la neuropatía dolorosa representan un conjunto de condiciones que pueden ser clasificados en: lesiones del sistema nervioso central, desórdenes neuropáticos complejos, lesiones focales y multifocales del sistema nervioso periférico y polineuropatías generalizadas del sistema nervioso periférico (Finnerup, 2016).

Se han descrito múltiples causas para la aparición del dolor neuropático, como alteraciones en canales iónicos, la modulación de las señales de las vías del dolor, desequilibrio de las señales inhibitorias y excitatorias somatosensoriales, y como resultado de enfermedades crónico-degenerativas, la diabetes mellitus o la quimioterapia (Colloca, 2017).

Epidemiología

Es complicado estimar el índice de prevalencia de la neuropatía dolorosa debido a que no se han estandarizado los criterios de diagnóstico de esta patología. Es por lo que la prevalencia del dolor neuropático en la población se ha estimado con base en estudios enfocados en condiciones específicas como la neuropatía dolorosa por diabetes, cáncer, daño en la médula espinal, entre otros (Abbott, 2011; Rayment, 2013).

Se estima que la prevalencia de dolor crónico con características similares a la neuropatía dolorosa se encuentra en un rango de 7 a 10 %, tomando en consideración que este porcentaje fue estimado por medio de cuestionarios y que puede variar dependiendo de lo que busque el encuestador. Es más frecuente en mujeres, con un 8 %, que, en hombres, con 5.7 %, y comúnmente afecta espalda baja, miembros inferiores, cuello y miembros superiores (van Hecke, 2014).

Causas

Las enfermedades cerebrovasculares que afectan las vías somatosensoriales, como el dolor postinfarto y las enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson (ver Tabla 2), son desórdenes que pueden causar neuropatía dolorosa central (Ford, 2010). Las lesiones de la médula espinal, siringomielia y enfermedades desmielinizantes, como la esclerosis múltiple y la neuromielitis óptica, también son causas de neuropatía dolorosa (Max, 2000).

Comúnmente, en la neuropatía periférica, existen daños en las pequeñas fibras C desmielinizadas, que transmiten dolor poco localizado, dolor secundario o dolor lento, y en las fibras A mielinizadas (A β y A δ), que median el dolor agudo, bien localizado o dolor rápido (Julius, 2001). El dolor neuropático periférico puede ser causado por enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus, o como consecuencia del cáncer y el tratamiento con quimioterapia (Tsfaye, 2013).

Los trastornos focales dolorosos son causados por el daño en nervios periféricos o en raíces nerviosas; estos pueden ser dolor postquirúrgico, dolor asociado a VIH, lepra o la neuralgia trigeminal (Burchiel, 1980; Schifitto, 2005).

Existe una posible distribución topográfica en estos trastornos que normalmente abarca a las extremidades distales del individuo, esta distribución es conocida como “guante y media” porque los pies, las pantorrillas, las manos y los antebrazos son los que se ven afectados principalmente (Colloca, 2017).

Por último, existen canalopatías hereditarias raras que muestran una distribución similar al dolor neuropático, como la eritromelalgia hereditaria y el trastorno de dolor paroxístico extremo, ambas provocadas por mutaciones en el canal Na_v 1.7 (Yang Y. W., 2004; Fertleman, 2006).

ENFERMEDAD/DAÑO	PREVALENCIA DE DOLOR	SÍNTOMAS DE DOLOR
ENFERMEDAD DE PARKINSON	40-60% de los pacientes	Neuropatía central Dolor musculoesquelético Dolor radicular
POST INFARTO	8-14% de los pacientes	Pérdida de las sensaciones Hipersensibilidad o alodinia Dolor intermitente Alteración en la sensación de frío
LESIÓN DE LA MÉDULA ESPINAL	64.9% de los pacientes	Hipersensibilidad Alodinia Dolor
NEUROPATÍA DIABÉTICA	63% de los pacientes	Dolor neuropático Sin dolor Dolor no neuropático
DOLOR DE ESPALDA	2-40% en adultos	Dolor neuropático Dolor fisiológico

Tabla 2. Muestra la prevalencia del dolor fisiológico o del dolor neuropático en distintas enfermedades o lesiones neurológicas. También muestra los síntomas más comunes detectados en los pacientes con estas enfermedades. Tomado y adaptado de (Borsook, 2012)

Síntomas

A pesar de que el dolor neuropático se debe a un daño en el sistema nervioso (ya sea central o periférico), los síntomas varían entre individuos, lo que hace que sea muy difícil tanto de diagnosticar como de definir una lista de síntomas específicos.

Algunos de los síntomas conectados al dolor neuropático es la alodinia (estímulos que normalmente no provocan dolor), hiperalgesia (sensación exacerbada de dolor) y la parestesia (percepción anómala de sensaciones comparadas con piquetes de aguja, cosquillas, comezón o pérdida de las sensaciones), en la figura 11 se muestra un histograma de frecuencia que muestra la frecuencia de síntomas referidos en un estudio realizado en pacientes con dolor crónico, los datos recolectados fueron analizados con por medio de una prueba estadística llamada coeficiente de Pearson que mide la relación entre dos variables. (Rasmussen, 2004).

No todos los pacientes refieren los mismos síntomas lo que daría a entender que el patrón individual de síntomas de los pacientes refleja los mecanismos generadores de dolor que se estén activando; esto también nos puede ayudar a identificar los posibles tratamientos para cada problema (Arning, 2009).

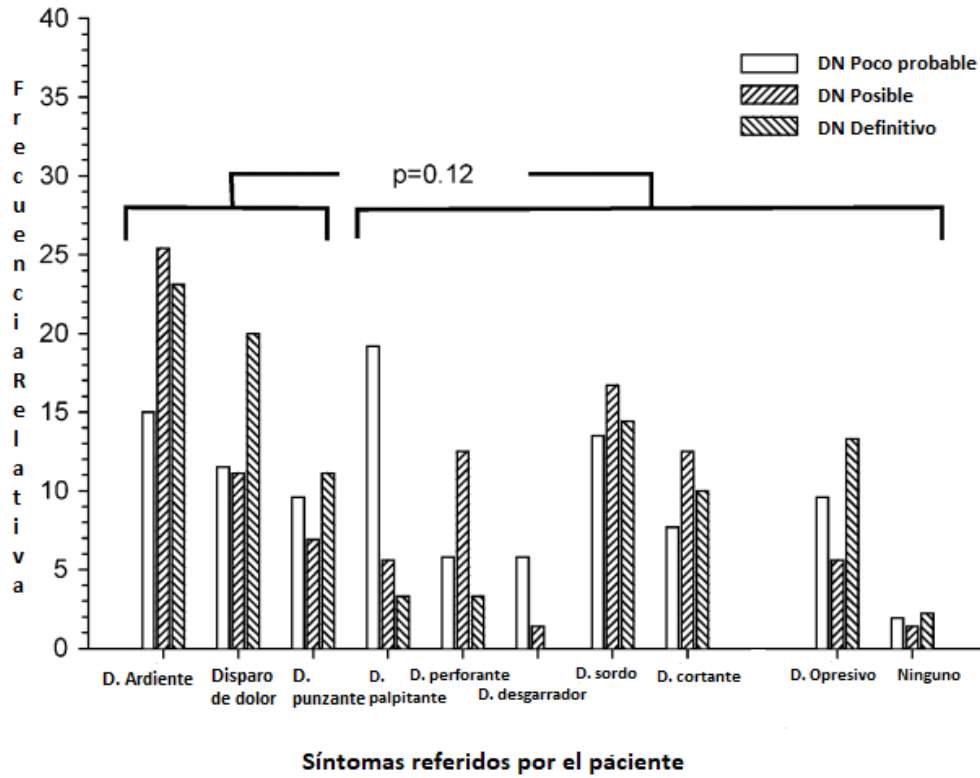


Figura 11. Histograma de frecuencia relativa de los síntomas referidos por 214 pacientes con dolor crónico. Los resultados fueron clasificados en dolor neuropático poco probable, posible o definitivo. El dolor ardiente, el disparo de dolor y el dolor punzante cuentan con coeficiente de Pearson de 0.12, mientras que el dolor palpitante cuenta con un coeficiente de 0.003, lo que nos indica que es un síntoma poco probable de dolor neuropático. Tomado y adaptado de (Rasmussen, 2004).

Mecanismos fisiopatológicos

El dolor neuropático ocurre cuando el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, o ambos, son dañados, lo que provoca una señal anormal de dolor. Existen diferentes mecanismos que llevan al desarrollo de esta afección, pero muchos de estos mecanismos no dependen de la causa de la enfermedad porque un mismo mecanismo puede aparecer en distintas enfermedades (Baron, 2006).

El conocimiento sobre la fisiopatología de esta enfermedad y sus mecanismos de regulación nos ayudan a estudiar los cambios provocados por el dolor neuropático y así identificar nuevas dianas terapéuticas.

Actividad ectópica nerviosa

Después de la lesión en el sistema nervioso, se liberan sustancias como histamina, noradrenalina, bradicinina, potasio, citoquinas, etc., utilizadas para sensibilizar nociceptores a la actividad eléctrica (Nicholson, 2000). Esto produce cambios en el número y localización de canales iónicos (especialmente canales de sodio) en el tejido nervioso dañado y en los ganglios de raíz dorsal. El resultado de esto es una disminución en el potencial umbral para la despolarización, lo que provoca descargas espontáneas y continuas, fenómeno llamado descargas ectópicas (Backonja, 2003).

En condiciones normales, las fibras nerviosas adyacentes no tienen ningún tipo de comunicación, pero en condiciones patológicas los cambios después de la lesión del nervio y la sobreactividad pueden causar que se formen conexiones químicas mediadas eléctricamente entre las fibras dañadas y las fibras que no han sufrido ningún tipo de daño, esto es conocido como transmisión efáptica o excitación cruzada, y causa estimulación en nociceptores no excitados previamente, o silenciosos, produciendo dolor (Partanen, 2016).

El aumento de expresión de canales de sodio dependientes de voltaje encontrado en varios experimentos parece estar relacionado con la actividad

ectópica, ya que la expresión de estos canales podría reducir el potencial umbral de las fibras nerviosas (Siqueira, 2009).

Otro mecanismo que contribuye a la actividad ectópica es el desequilibrio en la regulación de proteínas receptoras como el potencial receptor transitorio V1 (TRPV1), que en condiciones fisiológicas se encuentra expresado en terminaciones nerviosas activándose por calor nocivo (más de 40°C).

La actividad del receptor TRPV1 en fibras nerviosas dañadas se encuentra disminuida, mientras que en las fibras C nerviosas que no tienen ningún daño, la actividad de este aumenta. Este mecanismo puede generar actividad nerviosa espontánea debido a la temperatura corporal (35° C a 38° C) si el umbral de calor nocivo es reducido a menos de 38° C (Biggs, 2008).

También se ha identificado actividad ectópica en pacientes con dolor neuropático combinado con alodinia fría. La respuesta anormal a la aplicación de mentol frío y tópico indica que la lesión en las terminaciones nerviosas podría provocar una disfunción o una expresión anormal del receptor sensible a frío TRPM8 perteneciente a la familia TRP (Figura 12) (Serra, 2009).

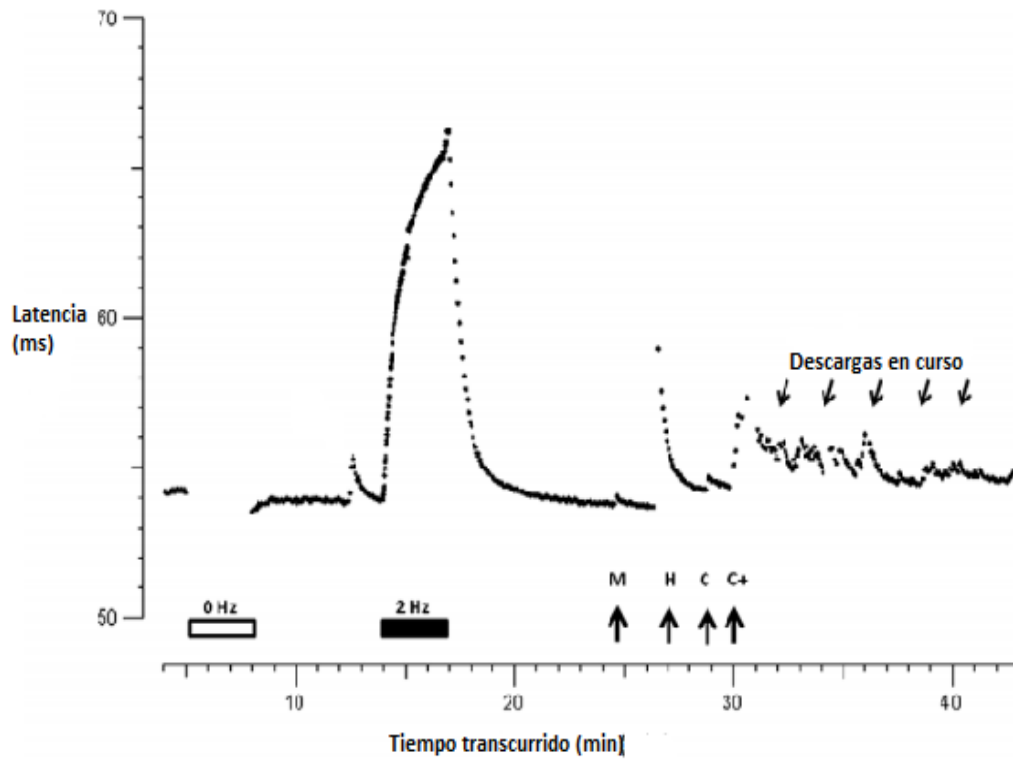


Figura 12. Descargas eléctricas de larga duración producidas por frío. Existe actividad espontánea antes del periodo de 2 Hz de estimulación; en el minuto 25 se aplica un estímulo mecánico, y en el minuto 27 un estímulo de calor (47°C). El nociceptor responde a un estímulo frío moderado (29°C). Después de la aplicación del mentol (-15°C) se pueden ver descargas continuas de larga duración. Tomado y adaptado de (Serra, 2009).

Sensibilización central

La sensibilización central (SC) puede ser consecuencia de la actividad ectópica de las fibras nerviosas primarias dañadas. Las descargas continuas liberan aminoácidos y neuropéptidos excitatorios en el asta dorsal de la médula espinal, lo que provocaría cambios en neuronas nociceptivas de segundo orden como la fosforilación de receptores de NMDA y AMPA, o la expresión de canales de sodio dependientes de voltaje (Figura 13) (Ultenius, 2006; Hains, 2004).

Estos cambios provocan hiperexcitabilidad que permite que fibras mecanosensibles con un umbral bajo, como las fibras A β o A δ , activen a los nociceptores de segundo orden. Todo esto significa que, hasta el estímulo más ligero, que no es nocivo, provoque dolor en el individuo (Ducieux, 2006).

La nocicepción patológica sucede después de la sensibilización central provocada por potenciación a largo plazo de las fibras, pérdida de la inhibición espinal, plasticidad neuronal o la transformación de aferentes subumbrales A β (Todd, 2010).

Se ha observado pérdida de actividad GABAérgica en el asta dorsal de la médula espinal debido a la muerte celular durante la lesión nerviosa o la reducción de terminales GABA; esto juega un papel importante en la sensibilización central, ya que la alodinia es reducida con un agonista del receptor intratecal GABA_A e inducida por un antagonista no específico para el receptor de GABA (Moore, 2002; Malan, 2002).

La reorganización y transformación de las aferentes A β también juega un papel en la SC. Se ha demostrado que terminaciones nerviosas normalmente proyectadas hacia la lámina III y la lámina IV (entradas no nociceptivas y subumbrales) se proyectaron a la lámina II (cubierta de nociceptores) después de una axotomía, lo cual también contribuye a la alodinia táctil después de una lesión nerviosa (Woolf, 1992).

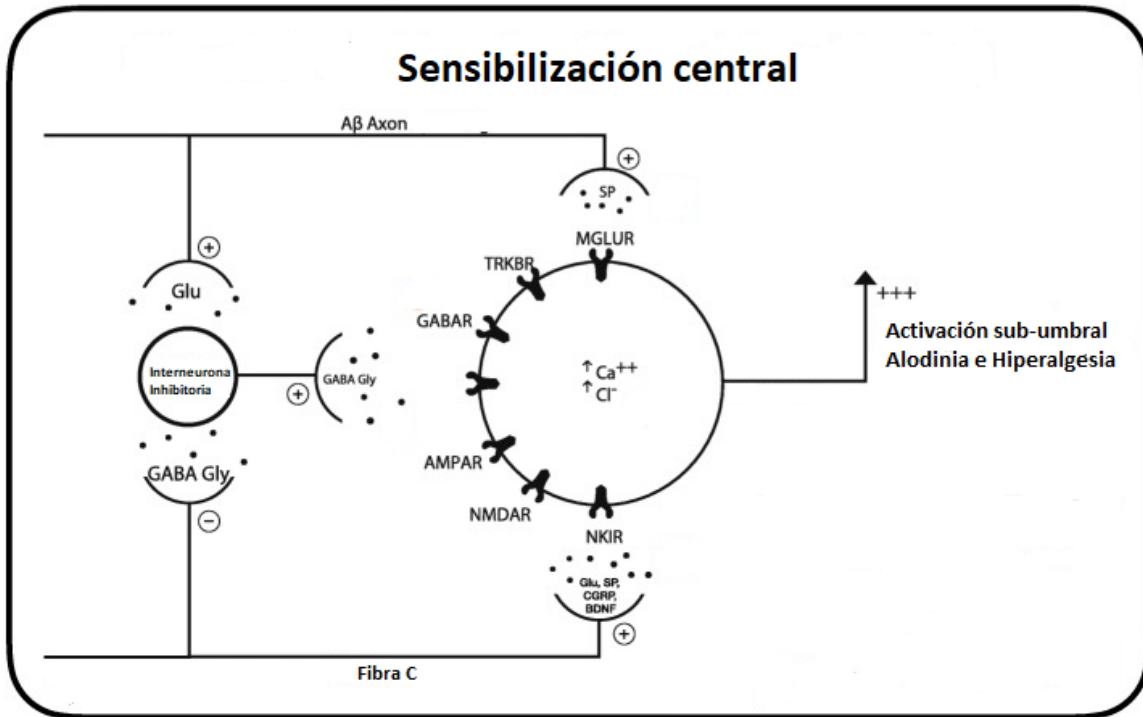


Figura 13. Muestra el mecanismo de hiperalgnesia y alodinia. Después de una lesión en el nervio, o la estimulación repetitiva de la fibra c periférica, ocurre una sensibilización central por varios mecanismos, incluyendo cambios en la cinética de los receptores, cambios en el potencial de membrana y la transformación fenotípica de fibras aferentes Aβ. Tomado y adaptado de (Caylor, 2019)

Mutaciones

Diversos estudios han implicado a los canales de sodio dependientes de voltaje en síndromes llamados canalopatías. Estas patologías tienen varios orígenes, pero, en general, se deben a una disfunción en las propiedades intrínsecas de alguno de los canales iónicos. Las variaciones o mutaciones de los canales iónicos deben ser estudiadas detenidamente ya que pueden ser una herramienta de estudio importante para entender las propiedades biofísicas de dichos canales.

Esta nueva línea de investigación ha sido utilizando distintas técnicas, una de estas es denominada mutagénesis dirigida o mutagénesis dirigida al sitio donde se realiza un cambio específico en los aminoácidos que conforman el ADN.

Uno de estos estudios fue realizado por Salinas y colaboradores en 2011, quienes utilizaron la técnica de mutagénesis dirigida para generar un cambio puntual en el residuo W756 del dominio II de la apertura externa del canal de sodio $Na_v 1.4$, porción rica en triptófano, generando la mutación denominada W756C, en que se cambió un triptófano por una cisteína cambiando así las propiedades biofísicas del canal (Salinas-Stefanon, 2011). En un estudio anterior se había demostrado que la primaquina, un fármaco utilizado para tratar la malaria, produce un bloqueo de los canales de sodio dependiente de la concentración (Orta-Salazar, 2002). Después de una serie de experimentos utilizando ovocitos para la expresión del canal con la mutación dirigida y la técnica de fijación de voltaje, se encontró que la primaquina no tenía efecto en el canal mutado debido a que el cambio de los aminoácidos podría estar modificando el sitio donde se une la primaquina. Con el uso de herramientas computacionales y los resultados anteriores se infiere que el efecto de la primaquina en los canales de sodio es regulado por el residuo 756 de triptófano en la cavidad externa del canal (Figura 14) (Salinas-Stefanon, 2011).

Estos resultados y muchos otros demuestran el poder de las herramientas biomoleculares para el estudio de los canales y el poder de las mutaciones para la

exploración de patologías que se cree son causadas por alguna disfunción en algún canal iónico.

Los canales Na_v 1.7 y 1.8 han causado interés entre la comunidad científica debido a la acumulación de evidencia científica respecto a su papel en los trastornos relacionados con el dolor, y la facilidad que tienen para poder ser estudiados de forma aislada en sistemas heterólogos de expresión o en las neuronas donde son nativos (Han C. E.-H., 2015; Cheng X. D.-H., 2008).

La evidencia de las mutaciones en las isoformas Na_v 1.6 y 1.9 apenas comienza a surgir, pero no son por eso menos importantes estas mutaciones que las mutaciones de Na_v 1.7 y 1.8. En la Tabla 3 se muestran algunas de las mutaciones de los canales de sodio dependientes de voltaje, el efecto que tienen las mutaciones sobre los canales y las patologías con que se les ha relacionado.

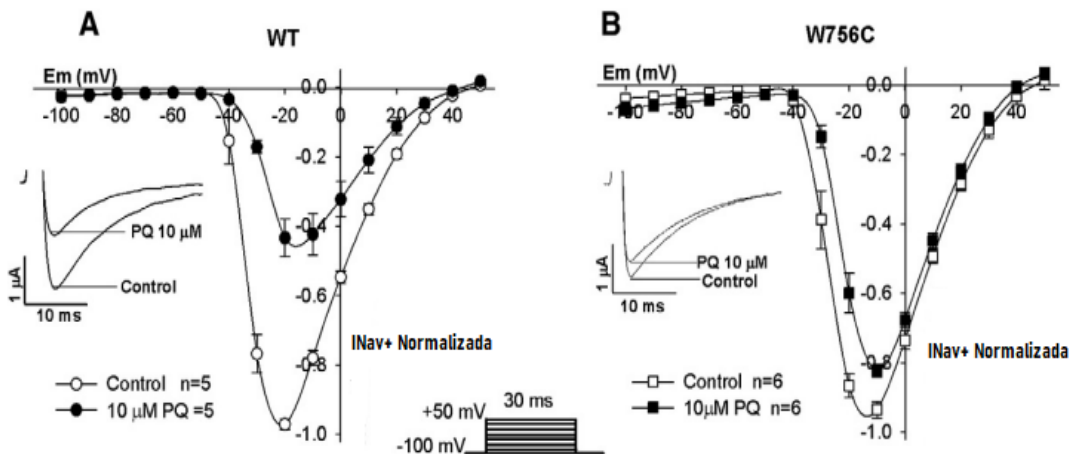


Figura 14. Muestra la relación corriente-voltaje del canal Nav 1.4 normal (WT) y del canal mutado (W756C). Se observa la relación promedio de corriente-voltaje en ovocitos antes (\circ) y después (\bullet) de agregar a la solución $10 \mu M$ de primaquina (PQ). Se debe notar que PQ tiene muy poco efecto en la corriente del canal W756C. Tomado y modificado de (Salinas-Stefanon, 2011).

Canal	Mutación	Efecto	Patología
Na _v 1.6	Met136Val (Tanaka, 2016)	Aumento en la corriente resurgente, aumento en la densidad de corriente máxima.	Neuralgia trigeminal
Na _v 1.6	AAV-Cre Knockout (Chen L. H.-H., 2018)	Disminución de la alodinia por SNL, disminución de la excitabilidad de neuronas DRG.	Neuropatía dolorosa
Na _v 1.7	S241T (Lampert, 2006)	Cambio hiperpolarizante en la activación, retraso en la desactivación, aceleración en el tiempo de llegada al pico máximo.	Eritromelalgia
Na _v 1.7	I146T, T1464I (Fertleman, 2006)	M1627K, Inactivación alterada con corrientes persistentes y un cambio despolarizante en el estado estable de la inactivación.	Trastorno paroxístico de dolor extremo
Na _v 1.7	I739V (Han C. H.-H., 2012)	Perjudica la inactivación lenta del canal en las neuronas DRG y del ganglio cervical superior, provocando hiperexcitabilidad en la primera e hipoexcitabilidad en la última.	Neuropatía de fibras pequeñas
Na _v 1.8	Leu554Pro/ Ala304Thr (Faber, 2012)	Aumenta la respuesta del canal a la despolarización y se produce hiperexcitabilidad en neuronas DRG (disminución en la corriente umbral, aumento en la frecuencia de disparo y actividad espontánea).	Neuropatía de fibras pequeñas
Na _v 1.9	Arg222His (Han C. Y.-H., 2017)	Cambio hiperpolarizante y aceleración de la activación del canal, aumento de la excitabilidad de las neuronas DRG.	Neuropatía de fibras pequeñas
Na _v 1.9	Arg225Cys (Zhang X. Y., 2013)	Aumenta la actividad eléctrica y genera hiperexcitabilidad de las neuronas DRG.	Trastorno de dolor episódico autosómico dominante
Na _v 1.9	Leu811Pro (Leipold, 2013)	Cambios en la dependencia de activación y desactivación del canal por aprox. -30mV, interfiere con el cierre y la inactivación del canal.	Insensibilidad congénita al dolor

Tabla 3. Algunas mutaciones de los canales de sodio Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 relacionadas con el dolor neuropático.

Canales de sodio y la neuropatía dolorosa

Los canales de sodio dependientes de voltaje tienen un papel crucial en la propagación de la señal en células excitables, incluyendo a las terminaciones nerviosas libres (Deuis, 2013). Como se explicó anteriormente, existen 9 isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje expresados en diferentes tipos celulares; sin embargo, solo se hablará de 4 isoformas que probablemente tengan

un rol importante en las vías del dolor y contribuyen al desarrollo del dolor neuropático.

El canal de sodio Na_v 1.6 se expresa en células DRG de diámetro grande y mediano, fibras $A\beta$ y $A\delta$, y en tejido cerebelar e hipocampal (Chatelier, 2010). No se tiene claro el papel del canal Na_v 1.6 en las vías del dolor o en el dolor neuropático, aunque experimentos utilizando oxaliplatino (fármaco utilizado para inducir por frío disestesias y parestesias, como la alodinia por frío) mostraron que la actividad de este canal podría influir en el desarrollo de alodinia, que es uno de los mecanismos fisiopatológicos del dolor neuropático. Apoyando el papel crucial del canal, se ha demostrado, *in vitro*, que el oxaliplatino promueve corrientes eléctricas resurgentes mediadas por Na_v 1.6, y que los efectos del fármaco en las fibras A no existen en animales *knockout* para canales Na_v 1.6 (Sittl, 2012).

En la ligadura de médula espinal (SNL), modelo de dolor neuropático, existe actividad espontánea anormal de las neuronas mielinizadas, lo que es esencial para el desarrollo del dolor neuropático y otras patologías. En estudios en que se bloquea el canal Na_v 1.6 de forma local con RNAs inhibitorios pequeños antes de SNL, se encontró que el *knockdown* ayuda a la reducción del dolor disminuyendo de forma efectiva la actividad espontánea de las fibras y el dolor mecánico (Figura 15) (Xie, 2015) .

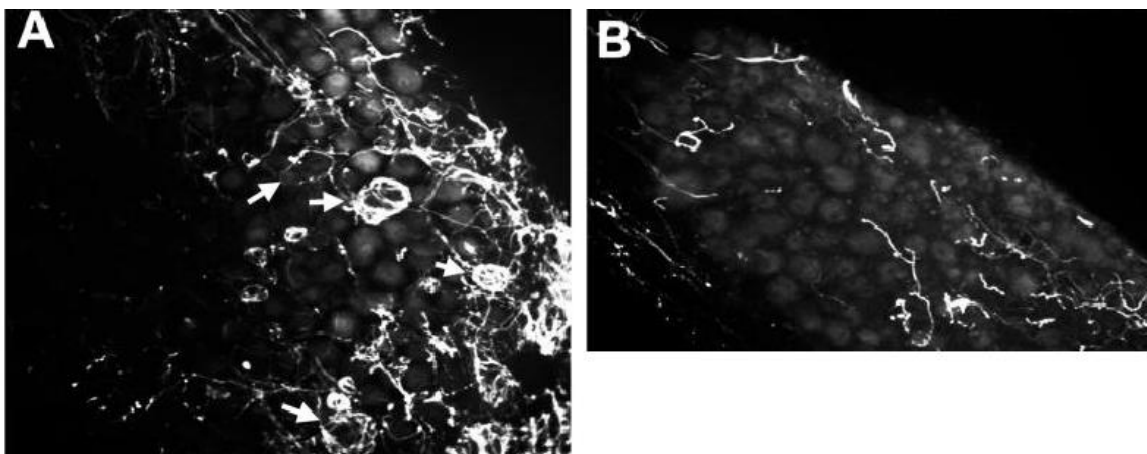


Figura 15. El efecto de Na_v 1.6 con si-RNA en neuronas DRG tomadas de L5. Las secciones de DRG fueron marcadas con tirosina hidroxilasa después de 4 días de SNL; como se muestra en la imagen A, se forman arborizaciones en las neuronas, y en la imagen B se observa la reducción de estas arborizaciones. Tomada y adaptada de (Xie, 2015).

El papel del canal Na_v 1.7 en la neuropatía dolorosa aún no ha sido identificado. Por un lado, aun cuando es conocido que los canales de sodio dependientes de voltaje presentan un incremento en su regulación, lo que genera actividad ectópica nerviosa anormal, se ha reportado una disminución de los niveles de RNA mensajero del canal Na_v 1.7 después de la ligadura de médula espinal, lo que sugiere que el canal Na_v 1.7 no es importante en la generación de actividad ectópica nerviosa (Kim, 2002).

Por otro lado, existen evidencias de un aumento en la regulación del canal en axones ciegos de neuromas humanas dolorosas; además, se encontraron altos los niveles de MAPK y de ERK1/2. Esto sugiere que la modulación de Na_v 1.7 a partir de MAPK activado puede ser importante en el desarrollo de dolor neuropático y aporta al desarrollo de neuroma en los humanos (Black J. A., 2008). En cultivos de neuronas DRG, se demostró que la inhibición de ERK1/2 causa un cambio en la despolarización en la activación por voltaje de Na_v 1.7; es probable que la modulación por ERK1/2 contribuya a la habilidad del canal Na_v 1.7 para amplificar corrientes subumbrales por medio de la reducción de la activación por voltaje, promoviendo el aumento en la respuesta neuronal y la descarga ectópica (Stamboulian, 2010).

En modelos de dolor inducido por carragenano en ratas (un compuesto utilizado para inducir inflamación) el mRNA de Na_v 1.7 contribuye al aumento de la corriente de sodio sensible a TTX, la figura 16 muestra los resultados de un análisis de microdensitometría que muestra la actividad inmunofluorescente de los canales Na_v 1.3, 1.7 y 1.8 después de la aplicación de carragenano y en el grupo control (Black J. L., 2004).

Los resultados contradictorios de los experimentos sugieren que ciertos estados de neuropatía dolorosa no son dependientes de la participación del canal de sodio dependiente de voltaje Na_v 1.7, lo que resalta la importancia de conocer los mecanismos que influyen en el desarrollo de esta patología.

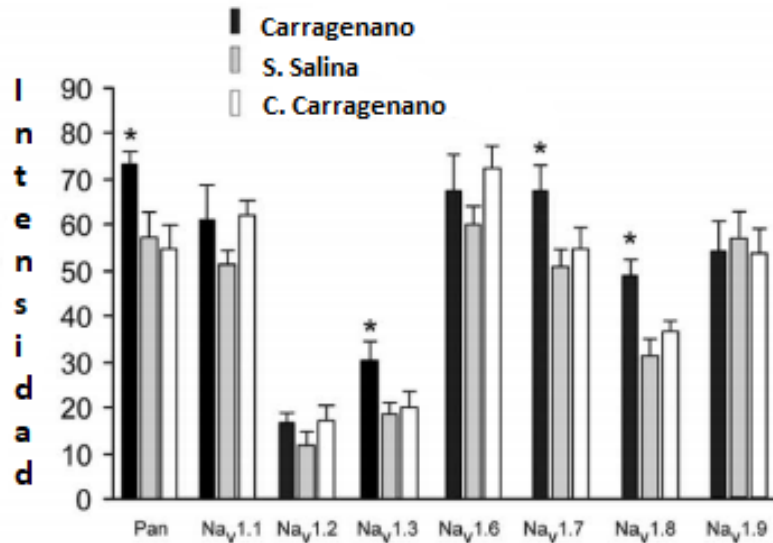


Figura 16. Análisis cuantitativo de microdensitometría muestra que las señales inmunofluorescentes de los canales Na_v 1.3, 1.7 y 1.8 se encuentran más reguladas en neuronas DRG pequeñas que fueron inyectadas con carragenano en 150 μ l de solución salina en la extremidad posterior derecha que las inyectadas con solución salina en la extremidad posterior izquierda (carragenano contralateral), aparte se utilizó un grupo control al que solo se le inyectó solución salina. La diferencia entre las demás isoformas no es significativa. Tomado y adaptado de (Black J. L., 2004).

Los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.8 se encuentran expresados mayormente en nociceptores, y median corrientes de sodio sensibles a TTX, así como corrientes de activación e inactivación lentas. La expresión de este canal es crucial, ya que, en ausencia de Na_v 1.8, la capacidad de generar potenciales de acción se ve reducida; esto es consistente con la hipoalgesia que es observada en la respuesta a estímulos nocivos mecánicos y térmicos en ratas *knockout* para Na_v 1.8 (Duan, 2016).

Las funciones del canal también pueden ser atenuadas usando oligonucleótidos anti-sentido para interrumpir la síntesis del canal Na_v 1.8 en las neuronas DRG lumbares; de esto resulta una reducción del 50 % en la expresión de la proteína. Esto demuestra que este tratamiento provoca un efecto anti-alodinia y anti-hiperalgesia (Lai J. G., 2002). En un *knockdown* similar con un SNL,

se mostró que el dolor neuropático puede ser revertido, (Figura 17) (Porreca, 1999).

Los resultados de estas investigaciones demuestran la necesidad de la expresión de los canales de sodio dependientes de voltaje Na_v 1.8 para el desarrollo de la neuropatía dolorosa. Se ha encontrado evidencia experimental de una redistribución de canales Na_v 1.8 en el nervio ciático en el modelo de constricción crónica por ligadura del nervio ciático a la altura de los muslos. El aumento en la regulación de la inmunorreactividad se correlaciona con el aumento de potenciales de acción del corriente resistente a TTX a la velocidad de conducción de las fibras C (Figura 18) (Gold, 2003).

La conclusión más importante sobre estos experimentos que tienen como objetivo encontrar y analizar el papel del canal Na_v 1.8, es que una lesión en el sistema nervioso necesita otro mecanismo como la redistribución de los canales Na_v 1.8 para el desarrollo y la prolongación de la neuropatía dolorosa.

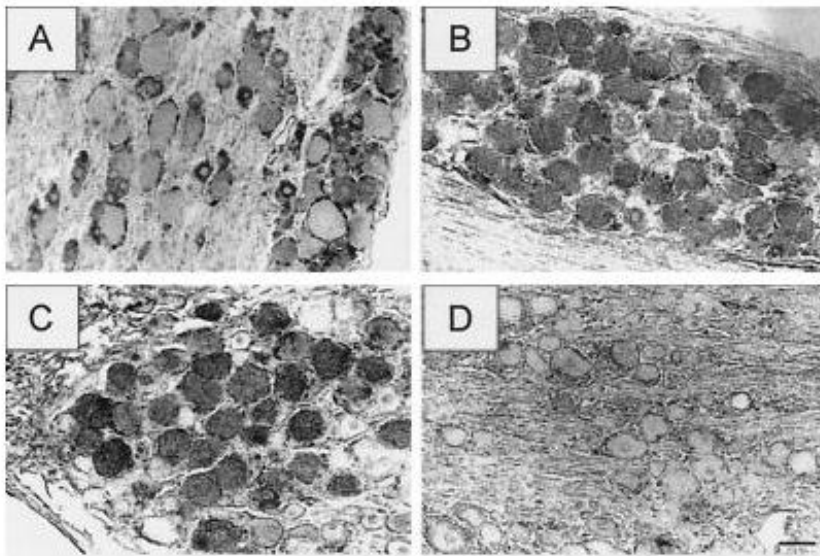


Figura 17. Análisis inmunohistoquímico (peroxidasa-diaminobencidina) del marcaje de anticuerpos PN3 de las células L4 DRG de animales normales y SNL, 7 días después de la cirugía. A) Los animales normales muestran un marcaje predominante de las células DRG de diámetro pequeño. B) Después de SNL, en animales que recibieron solución salina por 48 hrs, se observa un aumento en el número de células DRG de gran diámetro expresando PN3. C) En animales tratados con oligonucleótidos incompatibles por 48 hrs hay un patrón similar al control tratado con solución salina. D) Animales tratados con oligonucleótidos antisentido por 48 hrs muestran una disminución en el marcaje de células DRG pequeñas y grandes. Tomado y adaptado de (Porreca, 1999).

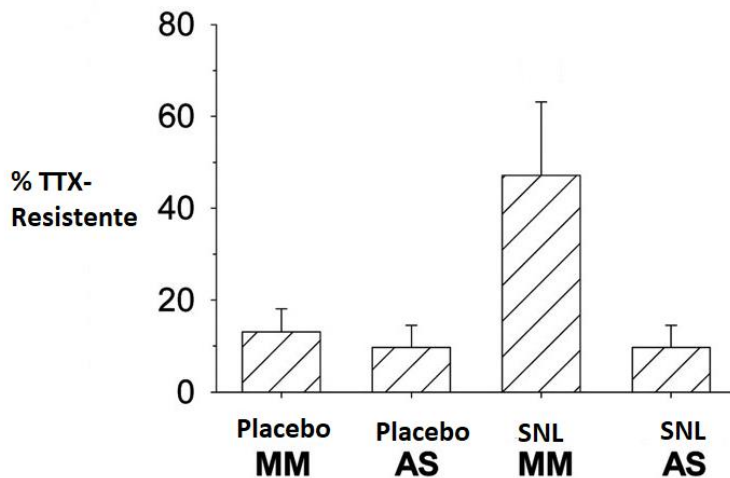


Figura 18. Gráfica de barras que muestra que la conducción resistente a TTX es dependiente de Na_v 1.8. Los oligonucleótidos antisentido no muestran efecto en la conducción de los animales con cirugía placebo, pero sí en los animales que fueron tratados con SNL, en los que atenuaron de forma significativa la conducción resistente a TTX. Tomado y adaptado de (Gold, 2003)

Con relación al canal de sodio dependiente de voltaje Na_v 1.9, por medio de experimentos realizados con distintas técnicas como la modelación computacional, se encontró que media una corriente persistente con una activación cercana a -70 mV, lo que podría hacer que tenga como función modular el potencial de reposo en nociceptores y su respuesta a estímulos subumbrales (Herzog R. C., 2001).

Otros experimentos que utilizaron oligonucleótidos anti-sentido para la inhibición de la expresión de Na_v 1.9, mostraron que no hay efecto del canal en la hiperalgesia térmica o la hipersensibilidad mecánica asociadas al dolor neuropático (Porreca, 1999). Y en experimentos realizados en modelos de neuralgia trigeminal por constricción crónica del nervio infraorbital (CCI-ION) se mostró una disminución en la regulación de la expresión de Na_v 1.9 a comparación de ratas control (Figura 19) (Xu W. Z., 2016).

La evidencia que apoya el papel de este canal en la hiperalgesia inflamatoria proviene de experimentos en que la guanosina trifosfato (GTP) y su análogo hidrolizado (GTP γ S) aumentaron la corriente mediada por Na_v 1.9. Los

resultados de estos experimentos sugieren que el aumento de la corriente se debe a una fosforilación, probablemente comenzada por moduladores de la inflamación como PGE₂ (prostaglandina E₂) o GDNF (factor neurotrófico derivado de células gliales) (Figura 20) (Fjell, 1999).

En modelos de neuropatía dolorosa por diabetes se ha mostrado una desregulación de la expresión de los canales Na_v 1.9 debida a una síntesis anormal de GDNF y otros factores neurotróficos que funcionan como moduladores de las funciones del canal durante la neuropatía dolorosa (Craner, 2002). Sin embargo, su rol en la generación y desarrollo de la neuropatía dolorosa aún no es tan claro.

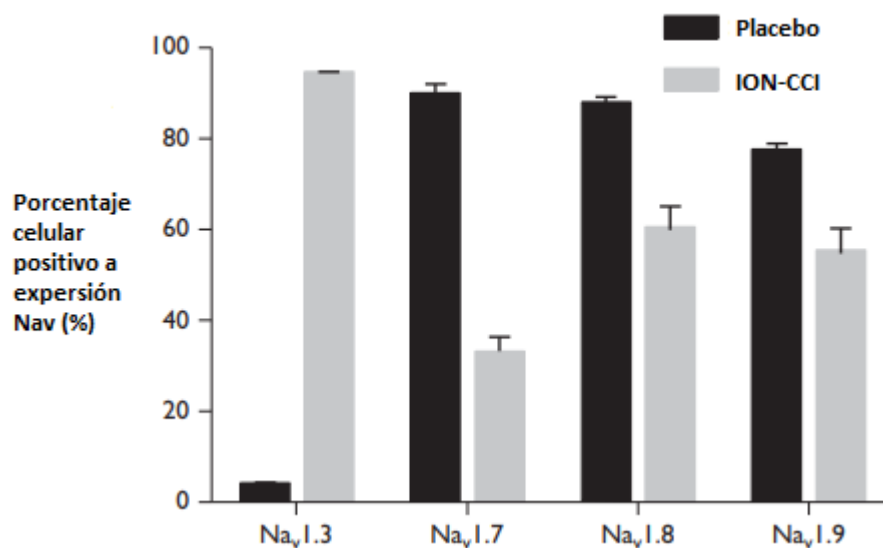


Figura 19. La gráfica de barras muestra el porcentaje de células positivas a NeuN que mostraron la expresión de los canales Na_v 1.3, 1.7, 1.8 y 1.9 en secciones de ganglio trigeminal de animales con cirugía placebo y animales con ION-CCI. El porcentaje de células que expresan los canales Na_v 1.9 se ve reducido en el modelo ION-CCI. Tomado y adaptado de (Xu W. Z., 2016).

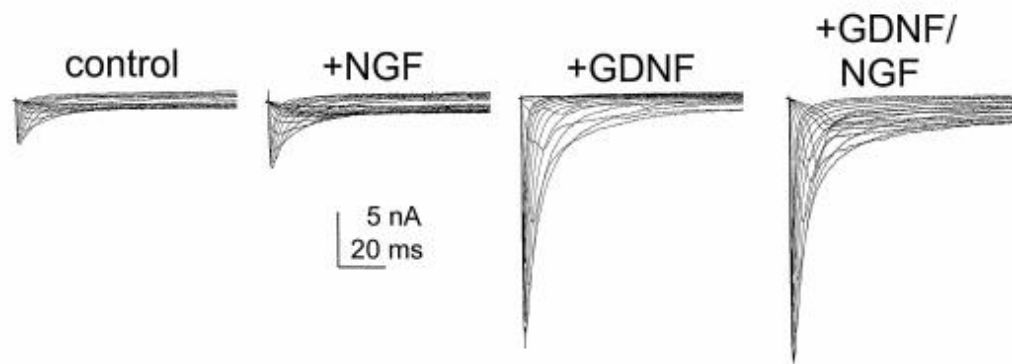


Figura 20. Las corrientes resistentes a TTX muestran un aumento cuando se le aplica GDNF. Se muestran la corriente TTX resistente control, con NGF, con GDNF y con GDNF más NGF. Tomada y adaptada de (Fjell, 1999).

Tratamiento

En el tratamiento de la neuropatía dolorosa existen distintas terapias, tanto farmacológicas como físicas. La primera opción de tratamiento con fármacos es el uso de antidepresivos, inhibidores de recaptación selectivos a serotonina (SSNRI) y norepinefrina, anticonvulsivos y lidocaína tópica. La segunda línea de fármacos incluye opioides, aunque debido a sus efectos secundarios no se prescribe en grandes cantidades. Por último, la tercera línea de fármacos incluye antiepilépticos como el citalopram (Tabla 4) (Xu L. Z., 2016).

Otro tipo de tratamiento con el que se está tratando a pacientes que tienen neuropatía dolorosa y sus derivados son las toxinas. Las toxinas son compuestos que junto con otras moléculas forman parte de los venenos. Las neurotoxinas pueden tener efectos excitatorios o inhibitorios en el sistema nervioso. Entre las dianas descritas están los canales Na_v , los cuales pueden ser regulados por sustancias como las neurotoxinas, fármacos, etc. (Klint, 2012).

Se han encontrado toxinas en serpientes, arañas, escorpiones, caracoles conos y anémonas marinos, avispas, ranas, pulpos y plantas como el acónito. Estas toxinas tienen distintas estructuras y efectos moduladores en los canales, y han sido clasificadas en bloqueadoras de poro (se unen al poro de conducción iónica, lo que inhibe el paso de iones) y modificadores de compuerta (interactúan con los segmentos que modulan la apertura o la inactivación del canal) (Tabla 5) (Cardoso, 2018).

Existen toxinas que han mostrado tener efectos que ayudan a la terapia contra el dolor neuropático, y tienen como diana a los canales Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9, y que también podrían ser útiles para el estudio de estas isoformas en patologías (ver Tabla 5).

Por último, recientemente se han generado nuevas líneas de investigación que utilizan fármacos con la intención de localizar el sitio donde se unen y el efecto que tienen en el canal iónico que se está estudiando. Un ejemplo de estos

es el uso de primaquina para el estudio de canales de sodio dependientes de voltaje.

La primaquina es un fármaco utilizado para el tratamiento de la malaria provocada por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale*, aunque se han reportado diversos efectos secundarios asociados a el bloqueo reversible de canales de sodio dependientes de voltaje. Aunque este fármaco bloquea la corriente de distintas isoformas como Na_v 1.2, 1.4, 1.5 y 1.7, aún no se sabe con exactitud el efecto que tiene la primaquina sobre estas y otras isoformas de los canales (Figura 21) (Salinas-Stefanon, 2011).

Aunque es un fármaco utilizado en una enfermedad no relacionada con la neuropatía dolorosa, el uso de la primaquina para el estudio de los canales de sodio dependientes de voltaje es interesante debido a su efecto en varias isoformas pertenecientes a esta familia de canales, como el canal Na_v 1.7, aunque aún no se sabe cómo participa en el desarrollo de la neuropatía dolorosa, existe evidencia de que este canal está involucrado. Existen otros fármacos como la lidocaína, lacosamida, fenitoína, etc., que también modulan a isoformas de los canales de sodio.

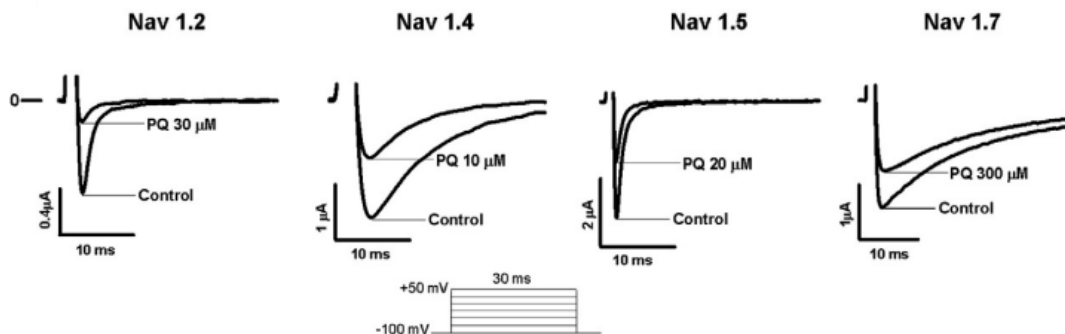


Figura 21. Muestra el efecto modulador de la primaquina en diferentes isoformas y a diferentes concentraciones. Los ovocitos fueron despolarizados entre -100 mV y +50 mV, desde un potencial de retención de -100 mV en incrementos de 10 mV. Las corrientes mostradas son de -20 mV antes y después de la perfusión de varias concentraciones de primaquina. Tomado y adaptado de (Salinas-Stefanon, 2011).

Tipo de droga	Patología	Efectos secundarios
Antidepresivos tricíclicos	DPN, PHN, postinfarto central	dolor Ganancia de peso, retención urinaria, visión borrosa, adicción.

SSNRI	DPN	Nausea, mareos.
Anticonvulsivos	DPN, PHN, SFNS, dolor fantasma, dolor neuropático mixto	Mareos, edema periférico.
Lidocaína tópica	Alodinia, PHN	Erupción cutánea
Opioides	Dolor neuropático	Nausea, mareos, constipación, adicción.
Tramadol	Dolor neuropático	Epilepsia, mareos, nausea, vómitos.

Tabla 4. Muestra las drogas utilizadas para el tratamiento de neuropatía dolorosa y sus derivados. DPN (neuropatía periférica dolorosa), PHN (neuralgia postherpética) y SFSN (neuropatía de fibras sensoriales pequeñas). Tomado y adaptado de (Xu L. Z., 2016)

Toxina	Canal	Patología
TTX	Na _v 1.6 y 1.7	Neuropatía dolorosa, neuropatía inducida por quimioterapia y dolor por inflamación
ProTx-II	Na _v 1.7	Neuropatía dolorosa diabética.
HwTx-IV	Na _v 1.7	Dolor por inflamación
μ-TRTX-HI1a	Na _v 1.8	Dolor neuropático y dolor por inflamación
μO-MrVIB	Na _v 1.8	Alodinia e hiperalgesia
TsVII	Na _v 1.9	Neuropatía dolorosa
μO-MrVIB	Na _v 1.9	Neuropatía dolorosa

Tabla 5. Muestra toxinas que están siendo utilizadas para el tratamiento de dolor crónico. Adaptada de (Cardoso, 2018; Ekberg, 2006).

Conclusiones

El descubrimiento del papel de los canales iónicos dependientes de voltaje en las vías del dolor se convirtió en el inicio de una era en que se puedan utilizar fármacos dirigidos a estos canales para el control y la abolición de estas patologías.

En este trabajo se realizó el análisis de las isoformas 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9 de los canales de sodio y se discutió acerca de su importancia en el dolor neuropático. Se puede inferir que, a pesar de que se han realizado experimentos durante muchos años, aún no se sabe el papel exacto de estas isoformas dentro de los mecanismos que promueven el desarrollo del dolor neuropático.

Sin embargo, lo que con seguridad se puede establecer, es que las propiedades biofísicas de cada isoforma de los canales de sodio, así como su modulación pueden tener participación en la actividad eléctrica del sistema nervioso, lo que los hace candidatos a estudios futuros para la delimitación de su participación en las vías de señalización del dolor y las patologías relacionadas con el mismo.

En conclusión, aunque no se ha delimitado exactamente el papel de los canales de sodio voltaje dependientes Na_v 1.6, 1.7, 1.8 y 1.9, sí se ha mostrado que se expresan en neuronas que participan en la transmisión de señales nocivas y que podrían estar implicados en el desarrollo de la neuropatía dolorosa modulando la señal.

El canal Na_v 1.6 análisis en modelos mostraron que podría participar en la alodinia, la cual es un síntoma de la neuropatía dolorosa, y en ratas *knockdown* para el canal Na_v 1.6 mostro una disminución en la actividad espontánea de las fibras. Evidencia encontrada del papel del canal Na_v 1.7 es un tanto contradictoria ya que se encontró una disminución en los niveles de expresión de este canal después de realizar un SNL, por otro lado, otros experimentos mostraron un aumento de MAPK y ERK $\frac{1}{2}$ lo que contribuye al aumento de la respuesta neuronal y la actividad ectópica.

La información sobre el canal $Na_v 1.8$ permite concluir que la ausencia de expresión de este canal disminuye la capacidad de generación de potenciales de acción y la redistribución observada después de la constricción del nervio ciático aumenta la corriente de este canal. En el caso particular de $Na_v 1.9$, los resultados son inconclusos debido a que en algunos experimentos la expresión del canal no participa en la patología, pero en otros casos se ha encontrado que este canal está sobreexpresado.

Bibliografía

- Abbott, C. M. (2011). Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the U.K. *Diabetes Care*, 34:2220–2224.
- Akopian, A. N. (1999). The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways. *Nature neuroscience*, 2(6), 541–548.
- Akopian, A. S. (1996). A tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel expressed by sensory neurons. *Nature*, 379: 257–262.
- Aman, T. G.-C. (2009). Regulation of Persistent Na Current by Interactions between β Subunits of Voltage-Gated Na Channels. *Journal of Neuroscience*, 29(7):2027-2042.
- Armstrong, C. B. (1977). Inactivation of the sodium channel.II.Gating current experiments. *Journal of General Physiology* , 70(5):567-590.
- Armstrong, C. H. (1998). Voltage-Gated Ion Channels and Electrical Excitability. *Neuron*, 20(3):371-380.
- Arning, K. B. (2009). Evaluation of symptom heterogeneity in neuropathic pain using assessments of sensory functions. *Neurotherapeutics*, 6: 738–48.
- Backonja, M. (2003). Defining neuropathic pain. *Anesthesia and analgesia*, 97, 785-790.
- Bagal, S. K. (2015). Voltage gated sodium channels as drug discovery targets. *Channels* , 9(6), 360–366.
- Bagnéris, C. N. (2015). Structural model of the open-closed-inactivated cycle of prokaryotic voltage-gated sodium channels. *The Journal of general physiology*, 145(1), 5–16.
- Baron, R. (2006). Mechanisms of disease: neuropathic pain- a clinical perspective. *Nature clinical practice neurology*, 2(2), 95–106. .
- Basbaum, A. B. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139: 267-284.
- Biggs, J. E. (2008). Effect of SB-750364, a specific TRPV1 receptor antagonist, on injury-induced ectopic discharge in the lingual nerve. *Neuroscience letters*, 443(1), 41–45.
- Black, J. A. (2008). Multiple sodium channel isoforms and mitogen-activated protein kinases are present in painful human neuromas. . *Annal of neurology*, 64(6), 644–653.

- Black, J. L. (2004). Changes in the expression of tetrodotoxin-sensitive sodium channels within dorsal root ganglia neurons in inflammatory pain. *Pain*, 108:237—247.
- Blair, N. B. (2002). Roles of Tetrodotoxin (TTX)-Sensitive Na⁺ Current, TTX-Resistant Na⁺ Current, and Ca²⁺ Current in the Action Potentials of Nociceptive Sensory Neurons. *Journal of Neuroscience*, 22(23):10277-10290.
- Borsook, D. (2012). Neurological diseases and pain. *Brain: a journal of neurology*, 135; 320-344.
- Brakenbury, W. J. (2011). Na⁺ Channel β subunits: overachievers of the ion channel family. *Frontiers in Pharmacology*, 2:53.
- Burchiel, K. (1980). Abnormal impulse generation in focally demyelinated trigeminal roots. *Journal of neurosurgery*, 53(5), 674—683.
- Caldwell, J. S. (2000). Sodium channel Nav1.6 is localized at nodes of Ranvier, dendrites, and synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 97 (10) 5616-5620.
- Cardoso, F. C. (2018). Sodium channels and pain: from toxins to therapies. *British journal of pharmacology* , 175(12), 2138—2157.
- Catterall, W. A. (2012). Voltage-Gated sodium channels at 60: Structure, function, and pathophysiology. *Journal of Physiology*, 590:2577-2589.
- Catterall, W. A. (2005). International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. . *Pharmacological reviews*, 57:397-409.
- Catterall, W. A.-D. (2020). Structure and Pharmacology of Voltage-Gated Sodium and Calcium Channels. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 60, 133—154.
- Caylor, J. R. (2019). Spinal cord stimulation in chronic pain: evidence and theory for mechanisms of action. . *Bioelectronic medicine*, 5(1).
- Charalambous, K. &. (2011). NaChBac: the long lost sodium channel ancestor. *Biochemistry*, 50(32), 6742—6752.
- Chatelier, A. Z. (2010). Biophysical characterisation of the persistent sodium current of the Nav1.6 neuronal sodium channel: a single-channel analysis. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 460(1), 77—86.
- Chen, L. H.-H.-H. (2018). Conditional knockout of Nav1.6 in adult mice ameliorates neuropathic pain. *Cientific reports*, 8(1), 3845.

- Chen, Y. Y. (2008). Functional properties and differential neuromodulation of Na(v)1.6 channels. *Molecular and cellular neurosciences*, 38(4), 607–615.
- Cheng, X. D.-H. (2008). Mutation I136V alters electrophysiological properties of the Na(v)1.7 channel in a family with onset of erythromelalgia in the second decade. *Molecular pain*, 4,1.
- Cheng, X. D.-H. (2010). Mutations at opposite ends of the DIII/S4-S5 linker of sodium channel Na V 1.7 produce distinct pain disorders. . *Molecular pain*, 6, 24.
- Coates, M. D.-S.-V. (2019). Impact of the NaV1.8 variant, A1073V, on post-sigmoidectomy pain and electrophysiological function in rat sympathetic neurons. *Journal of neurophysiology*, 122(6), 2591–2600.
- Colloca, L. L. (2017). Neuropathic pain. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17002.
- Coward, K. A. (2001). Plasticity of TTX-sensitive sodium channels PN1 and brain III in injured human nerves. . *Neuroreport*, 12(3), 495–500.
- Craner, M. J. (2002). Changes of sodium channel expression in experimental painful diabetic neuropathy. *Annals of neurology*, 52(6), 786–792.
- Cummins, T. D.-H. (1999). A novel persistent tetrodotoxin-resistant sodium current in SNS-null and wild-type small primary sensory neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.*, 19(24), RC43.
- Cummins, T. D.-H. (2004). Electrophysiological Properties of Mutant Nav1.7 Sodium Channels in a Painful Inherited Neuropathy. *Journals of Neuroscience*, 24(38): 8232-8236.
- Deuis, J. R. (2013). An animal model of oxaliplatin-induced cold allodynia reveals a crucial role for Nav1.6 in peripheral pain pathways. *Pain*, 154(9), 1749–1757.
- Dib-Hajj, S. B. (2002). NaN/Nav1.9: a sodium channel with unique properties. *Trends in Neuroscience*, 25, 253–259.
- Dib-Hajj, S. B. (2015). NaV1.9: a sodium channel linked. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(9), 511–519. .
- Dib-Hajj, S. C. (2010). Sodium channels in normal and pathological pain. *Annual Reviews Neuroscience*, 33: 325-347.
- Dib-Hajj, S. T. (1999). Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Letters*, 462: 117–120.

- Djoughri, L. N. (2003). Sensory and electrophysiological properties of guinea-pig sensory neurones expressing Nav 1.7 (PN1) Na⁺ channel alpha subunit protein. *Journal of physiology.*, 546(2): 565-576.
- Duan, G. H.-H. (2016). A SCN10A SNP biases human pain sensitivity. . *Molecular pain*, 12, 1744806916666083.
- Ducreux, D. A. (2006). Mechanisms of central neuropathic pain: a combined psychophysical and fMRI study in syringomyelia. *Brain*, 128: 963–76.
- Ekberg, J. J. (2006). muO-conotoxin MrVIB selectively blocks Nav1.8 sensory neuron specific sodium channels and chronic pain behavior without motor deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45), 17030–17035.
- Faber, C. G.-H. (2012). Gain-of-function Nav1.8 mutations in painful neuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(47): 19444–19449.
- Fang, F. L. (2021). Decreased microstructural integrity of the central somatosensory tracts in diabetic peripheral neuropathy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.*, dgab158.
- Fertleman, C. R. (2006). SCN9A mutations in paroxysmal extreme pain disorder: allelic variants underlie distinct channel defects and phenotypes. *Neuron*, 52(5), 767–774.
- Finnerup, N. B. (2016). Neuropathic pain. *PAIN*, 157(8), 1599–1606.
- Fjell, J. C.-H. (1999). Differential role of GDNF and NGF in the maintenance of two TTX-resistant sodium channels in adult DRG neurons. . *Brain research. Molecular brain research*, 67(2), 267–282.
- Ford, B. (2010). Pain in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 25 Suppl 1, S98–S103.
- Fraser, S. P. (2005). Voltage-gated sodium channel expression and potentiation of human breast cancer metastasis. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.*, 11(15): 5381–5389.
- Gold, M. S. (2003). Redistribution of Na(V)1.8 in uninjured axons enables neuropathic pain. *he Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(1), 158–166.
- Goldin, A. L. (2000). Nomenclature of Voltage-Gated sodium channels. *Neuron* , 28:365-368.

- Greenspan, D. J. (2014). Allodynia in patients with post-stroke central pain (CPSP) studied by statistical quantitative sensory testing within individuals. *Pain*, 109(3), 357–366.
- Hains, B. S. (2004). Altered sodium channel expression in second-order spinal sensory neurons contributes to pain after peripheral nerve injury. *Journal of neuroscience*, 24: 4832-39.
- Hameed, S. (2019). Nav1.7 and Nav1.8: Role in the pathophysiology of pain. *Molecular Pain*, 15.
- Han, C. E.-H. (2015). Human Na(v)1.8: enhanced persistent and ramp currents contribute to distinct firing properties of human DRG neurons. *Journal of neurophysiology*, 113(9), 3172–3185.
- Han, C. H.-H. (2012). Functional profiles of SCN9A variants in dorsal root ganglion neurons and superior cervical ganglion neurons correlate with autonomic symptoms in small fibre neuropathy. *Brain: a journal of neurology*, 135(Pt 9), 2613–2628.
- Han, C. Y.-H. (2017). Familial gain-of-function Nav1.9 mutation in a painful channelopathy. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 88(3), 233–240.
- Herzog, R. C. (2001). Persistent TTX-resistant Na⁺ current affects resting potential and response to depolarization in simulated spinal sensory neurons. *Journal of Neurophysiology*, 86, 1351-1364.
- Herzog, R. C.-H. (2003). Distinct repriming and closed-state inactivation kinetics of Nav1.6 and Nav1.7 sodium channels in mouse spinal sensory neurons. *Journal of physiology*, 551:741-750.
- Hodgkin, A.L., Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The journal of physiology*, 500-544.
- Huang, J. H.-H. (2014). Gain-of-function mutations in sodium channel Na(v)1.9 in painful neuropathy. *Brain : a journal of neurology.*, 137(Pt 6), 1627–1642.
- IASP, I. A. (1986). Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definition of pain terms. *Pain supplement*, 3, S1-S226.
- Isom, L. (2001). Sodium Channel β subunits: Anything but auxiliary. *The Neuroscientist*, 7(1):42-54.
- Jarecki, B. W. (2008). Paroxysmal extreme pain disorder mutations within the D3/S4-S5 linker of Nav1.7 cause moderate destabilization of fast inactivation. *The journal of physiology*, 586(17), 4137–4153.

- Jensen, T. S.-D. (2011). A new definition of neuropathic pain. *Pain*, 152(10), 2204–2205.
- Julius, D. B. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413:203–210.
- Kim, C. H. (2002). Changes in three subtypes of tetrodotoxin sensitive sodium channel expression in the axotomized dorsal root ganglion in the rat. *Neuroscience letters*, 323(2), 125–128.
- Klint, J. K. (2012). Spider-venom peptides that target voltage-gated sodium channels: pharmacological tools and potential therapeutic leads. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 60(4), 478–491.
- Krishnan, A. V. (2006). Oxaliplatin and axonal Na⁺ channel function in vivo. . *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 12(15), 4481–4484.
- Lai, J. G. (2002). Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel, Nav1.8. *Pain*, 95: 143–152.
- Lai, J. P. (2004). Voltage-gated sodium channels and hyperalgesia. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 371-397.
- Lampert, A. D.-H. (2006). Size matters: Erythromelalgia mutation S241T in Nav1.7 alters channel gating. *The journal of biological chemistry*, 281(47), 36029–36035.
- Lehmann-Horn, F. J.-R. (1999). Voltage-Gated Ion Channels and Hereditary Disease. *Physiological Reviews*, 79(4):1317-1372.
- Leipold, E. L. (2013). A de novo gain-of-function mutation in SCN11A causes loss of pain perception. *Nature genetics*, 45(11), 1399–1404.
- Lipkind, G. &. (2008). Voltage-gated Na channel selectivity: the role of the conserved domain III lysine residue. . *Journal of General Physiology*, 131(6):523-529.
- Loeser, J. D. (1999). Pain: An overview. *London (England)*, 353(9164), 1607–1609.
- Lozeron, P. N. (2002). Symptomatic diabetic and non-diabetic neuropathies in a series of 100 diabetic patients. *Journal of neurology*, 249(5), 569–575.
- Malan, T. M. (2002). Spinal GABA(A) and GABA(B) receptor pharmacology in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology* , 96(5):1161-7.
- Mantegazza, M. C. (2010). Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. *Lancet Neurology*, 9:413-24.

- Max, M. B. (2000). Do changes in brain sodium channels cause central pain? *Neurology*, 54(3), 544–545.
- Minett, M. S. (2012). Distinct Nav1.7-dependent pain sensations require different sets of sensory and sympathetic neurons. *Nature communications*, 3, 791.
- Moore, K. K. (2002). Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *Journal of neuroscience*, 22(15):6724-31.
- Mouraux, A. D. (2013). Unmasking the obligatory components of nociceptive event-related brain potentials. *Journal of neurophysiology*, 110(10), 2312–2324.
- Nassar, M. A. (2004). Nociceptor-specific gene deletion reveals a major role for Nav1.7 (PN1) in acute and inflammatory pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, 101(34), 12706–12711.
- Nevin, S. L. (2021). Functional modulation of the human voltage-gated sodium channel Na V 1.8 by auxiliary β subunits. *Channels (Austin)*, 15(1): 79-93.
- Nicholson, B. (2000). Gabapentin Use in Neuropathic Pain Syndromes. *Journal of the peripheral nervous system*, 5(4), 245-255.
- O'Brien, J. M. (2013). Sodium channel SCN8A (Nav1.6): properties and de novo mutations in epileptic encephalopathy and intellectual disability. *Frontiers in Genetics*, 4:213.
- Orta-Salazar, G. B.-S.-S. (2002). Inhibition of cardiac Na⁺ current by primaquine. *British journal of pharmacology*, 135(3), 751–763.
- Osorio N., C. L. (2010). Persistent Nav1.6 current at axon initial segments tunes spike timing of cerebellar granule cells. *Journal of Physiology Annual Review*, 588(4):651-670.
- Partanen, J. V. (2016). Ephaptic transmission from type ii afferents to static γ and β efferents causes complex repetitive discharge: An hypothesis. *Muscle & Nerve*, 53(4), 508–512.
- Pasero, C. (2004). Pathophysiology of neuropathic pain. *Pain Management Nursing*, 5(4), 3-8.
- Payandeh, J. S. (2011). The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. *Nature*, 475(7356), 353–358.
- Peters, C. &. (2014). *Introduction to Sodium Channels*. Rosenthal, Berlin.: Springer.

- Porreca, F. L. (1999). A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels, PN3/SNS and NaN/SNS2, in rat models of chronic pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(14), 7640-7644.
- Pozdnyakov, I. M. (2018). Diversity and evolution of four-domain voltage-gated cation channels of eukaryotes and their ancestral functional determinants. *Scientific Reports*, 8,3539.
- Qu Y, C. R.-S. (2001). Differential modulation of sodium channel gating and persistent sodium currents by the β 1, β 2, and β 3 subunits. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 17:4517–4526.
- Raman, I. M. (1998). Resurgent sodium current and action potential formation in dissociated cerebellar Purkinje neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(12), 4517–4526.
- Rasmussen, P. V. (2004). Symptoms and signs on patients with suspected neuropathic pain. *Pain*, 110: 461-469.
- Rayment, C. e. (2013). Neuropathic cancer pain: prevalence, severity, analgesics and impact from the European Palliative Care Research Collaborative-Computerised Symptom Assessment study. *Palliative Medicine*, 27:714–721.
- Rohl, C. B. (1999). Solution structure of the sodium channel inactivation gate. *Biochemistry*, 38: 855-861.
- Salinas-Stefanon, E. M.-M.-P. (2011). A residue W756 in the P-loop segment of the sodium channel is critical for primaquine binding. *European journal of pharmacology*, 663(1-3), 1–8.
- Schifitto, G. M. (2005). Markers of immune activation and viral load in HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology*, 64(5), 842–848.
- Serra, J. S.-M.-S. (2009). C-nociceptors sensitized to cold in a patient with small-fiber neuropathy and cold allodynia. *Pain*, 147(1-3), 46–53.
- Shen, H. Z. (2017). Structure of a eukaryotic voltage-gated sodium channel at near-atomic resolution. *Science (New York, N.Y.)*, 355(6328), eaal4326.
- Siqueira, S. R. (2009). Abnormal expression of voltage-gated sodium channels Nav1.7, Nav1.3 and Nav1.8 in trigeminal neuralgia. *Neuroscience*, 164(2), 573–577.
- Sittl, R. L. (2012). Anticancer drug oxaliplatin induces acute cooling-aggravated neuropathy via sodium channel subtype Na(V)1.6-resurgent and persistent current. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(17), 6704–6709.

- Smith M. R., S. R. (1998). Functional analysis of the mouse Scn8a sodium channel. *Journal of Neuroscience* , 18:6093–6102.
- Stamboulian, S. C.-H. (2010). ERK1/2 mitogen-activated protein kinase phosphorylates sodium channel Na(v)1.7 and alters its gating properties. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(5), 1637–1647.
- Tanaka, B. S.-H.-H. (2016). A gain-of-function mutation in Nav1.6 in a case of trigeminal neuralgia. *Molecular medicine*, 22, 338–348.
- Tesfaye, S. B. (2013). Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes Care*, 2456-2465.
- Tibbs, G. R. (2016). Voltage-Gated Ion Channels in the PNS: Novel Therapies for Neuropathic Pain? *Trends in pharmacological science*, 37(7), 522–542.
- Todd, A. (2010). Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(12):823-36.
- Ulfenius, C. L. (2006). Spinal NMDA receptor phosphorylation correlates with the presence of neuropathic signs following peripheral nerve injury in the rat. *Neuroscience Letters*, 399: 85–90.
- Usunoff, K. G. (2006). Functional neuroanatomy of pain. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*, 184, 1–115.
- van Hecke, O. A. (2014). Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. *Pain*, 155(4), 654–662.
- Wang, J. O. (2018). Molecular expression of multiple Nav1.5 splice variants in the frontal lobe of the human brain. *International journal of molecular medicine*, 41(2), 915–923.
- Woolf, C. (1992). Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature* , 355(6355):75-8.
- Woolf, C. (2010). What is this thing called pain? *The journal of clinical investigation* , 120(11):3742–3744.
- Xie, W. S. (2015). Local knockdown of the Nav1.6 sodium channel reduces pain behaviors, sensory neuron excitability, and sympathetic sprouting in rat models of neuropathic pain. *Neuroscience*, 291, 317-330.
- Xu, L. Z. (2016). Advances in the Treatment of Neuropathic Pain. *Advances in experimental medicine and biology*, 904, 117–129.
- Xu, W. Z. (2016). Changes in the expression of voltage-gated sodium channels Nav1.3, Nav1.7, Nav1.8, and Nav1.9 in rat trigeminal ganglia following chronic constriction injury. *Neuroreport*, 27: 929–934.

- Yamagishi, T. L. (2001). Molecular architecture of the voltage-dependent Na channel: functional evidence for alpha helices in the pore. *Journal of General Physiology*, 118:171-82.
- Yang, N. H. (1995). Evidence for voltage-dependent S4 movement in sodium channels. . *Neuron*, 15: 213-218.
- Yang, Y. W. (2004). Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *Journal of medical genetics*, 41(3), 171–174.
- Yarov-Yarovoy, V. D. (2012). Structural basis for gating charge movement in the voltage sensor of a sodium channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, 109(2), E93–E102.
- Yu, F. W. (2003). Overview of the voltage-gated sodium channel family. *Genome biology*, 4:207.
- Zhang, F. X. (2013). Shellfish toxins targeting voltage-gated sodium channels. *Marine drugs.*, 11(12), 4698–4723.
- Zhang, M. M. (2013). Pharmacological fractionation of tetrodotoxin-sensitive sodium currents un rat dorsal root ganglion neurons by μ -conotoxins . *British journal of pharmacology*, 169(1), 102-114.
- Zhang, X. Y. (2013). Gain-of-function mutations in SCN11A cause familial episodic pain. *American journal of genetics*, 93(5), 957–966.
- Zhorov, B. S. (2016). Computational Structural Pharmacology and Toxicology of Voltage-Gated Sodium Channels. *Current topics in membranes*, 78, 117–144.