



Nevin KOCAMAN ^{1, a}

¹ Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-6682-6345

ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2022; 36 (2): 175 - 179
http://www.fusabil.org

Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Rat Karaciğer Dokularında TRPM2 ve TRPM7 İyon Kanallarının İncelenmesi*

Amaç: Diabetes Mellitus yaşam boyu devam eden mortalitesi ve morbiditesi yüksek kronik metabolik bir hastalıktır. Bu çalışmada streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde karaciğer dokusunda oksidatif hasar ile ilişkili olduğu bilinen TRPM2 ve TRPM7 iyon kanallarının, hastalığın fizyopatolojisi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 21 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kontrol grubu, tampon grubu ve diyabetik grup olarak 3 gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edildikten sonra karaciğer dokuları rutin histolojik takip serilerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitlere avidin-biyotin peroksidaz metodu uygulanarak TRPM2 ve TRPM7 iyon kanallarının immünreaktivitesi değerlendirildi.

Bulgular: TRPM2 ve TRPM7 ekspresyonu kontrol ve tampon gruplarında benzerdi. Diyabetik karaciğer dokularında kontrol grubuna kıyasla TRPM2 ve TRPM7 ekspresyonlarının arttığı görüldü.

Sonuç: TRPM2 ve TRPM7 iyon kanallarının, diyabetik karaciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklere aracılık edebileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Streptozotosin, diyabetes mellitus, TRPM2, TRPM7, immunohistokimya

Investigation of TRPM2 and TRPM7 Ion Channels in Rat Liver Tissues Caused Diabetes by Streptozotocin

Objective Diabetes Mellitus is a chronic metabolic disease with high lifetime mortality and morbidity. In this study, it was aimed to determine the effects of TRPM2 and TRPM7 ion channels, which are known to be associated with oxidative damage in liver tissue, on the physiopathology of the disease in a streptozotocin-induced diabetes model.

Materials and Methods: In the study, 21 male Wistar Albino rats were divided into 3 groups as control group, buffer group and diabetic group. At the end of the experiment, after the rats were decapitated under anesthesia, their liver tissues were subjected to routine histological follow-up series and embedded in paraffin blocks. The immunoreactivity of TRPM2 and TRPM7 ion channels was evaluated by applying the avidin-biotin peroxidase method to the sections taken from paraffin blocks with a thickness of 4–6 µm.

Results: TRPM2 and TRPM7 expression were similar in the control and buffer groups. TRPM2 and TRPM7 expressions were increased in diabetic liver tissues compared to the control group.

Conclusion: It was thought that TRPM2 and TRPM7 ion channels may mediate histopathological changes in diabetic liver tissue.

Key Words: Streptozotocin, diabetes mellitus, TRPM2, TRPM7, immunohistochemistry

Giriş

Diyabetes mellitus, insülin eksikliği veya insülinin etkisizliği sonucu gelişen; beraberinde karbonhidrat, yağ ve protein metabolizma düzensizliklerinin eşlik ettiği hiperglisemi ile seyreden kronik metabolik bir sendromdur. Deney hayvanlarında diyabetin modellenmesi ve komplikasyon mekanizmalarının araştırılması yönündeki çalışmalar önemli ve güncel bir konudur. Streptozotosin deneysel diyabet oluşturmak için en sık kullanılan ajanlardandır (1). Potansiyel tümör supresor olarak tanımlanan bir protein olan melastatinden adını alan TRPM alt grubunun birçok üyesi kalsiyuma geçirgendir ve kalsiyumla aktive olan proteinlerdir. Bu gruba ait 8 protein tanımlanmış olup bu kanallarındaki değişimler fizyolojik fonksiyonları etkileyerek, patolojik süreçlerin oluşumuna yol açabilir (2-4). Bu çalışmada amacımız, ülkemizde ve dünyada oldukça sık olarak görülen diyabetin karaciğer üzerine etkilerinin TRPM2 ve TRPM7 iyon kanalları ile ilişkili olup olmadığını ortaya koymak ve terapötik bir hedef olarak belirlemektir.

Geliş Tarihi : 11.10.2021
Kabul Tarihi : 15.06.2022

Yazışma Adresi Correspondence

Nevin KOCAMAN
Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

drnkocaman@gmail.com

* 1. Gastrointestinal Araştırma Kongresi, 10 Mart 2018, Malatya/Türkiye

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan daha önce etik onayı alınmış 2012/87 protokol nolu projeye ait karaciğer dokuları için 25.08.2021 tarih ve 13 sayılı karar ile doku etiği alınarak yapıldı.

Örneklem büyüklüğü, G*Power sürüm 3.1.9.2 (Universität Kiel, Almanya) hesaplama yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. %80 güç, 0.05 istatistiksel anlamlılık düzeyi ve etki büyüklüğü 0.6 (cohen's d) ile her grup için örneklem büyüklüğü 7 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada ortalama ağırlıkları 250 g olan 8-10 haftalık 21 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar 3 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (n=7); Deney hayvanlarına deney süresi olan 8 hafta boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

Tampon grubu (n=7); Sıçanlara tek doz 0.1 M sodyum sitrat tamponu intraperitoneal (i.p) uygulandı.

Diyabet grubu (n=7); Sıçanlara 50mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0.1 M sodyum-sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözdürülerek i.p uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan incelendi ve kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi.

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda anestezi altında dekapite edildikten sonra karaciğer dokuları hızla çıkarılıp % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilip rutin histolojik takip serilerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında alınan kesitlere avidin-biyotin peroksidaz metodu uygulanarak TRPM2 ve TRPM7 iyon kanallarının immünreaktivitesi değerlendirildi. Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu.

İstatistiksel Analiz: Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS 22 istatistik paket programı kullanıldı. Normal dağılımın tespiti için Shapiro-Wilk normallik analizi yapıldı. Normal dağılıma uymayan ikili bağımsız grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi, ikili bağımlı grup karşılaştırmasında Wilcoxon signed-rank testi yapıldı. İki'den fazla bağımsız grup karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi yapıldı. Kruskal-Wallis testi sonrasında grupların ikili karşılaştırılması amacıyla Post hoc Dunn's testi yapıldı. Normal dağılıma uymayan sürekli değerışkenler median (min-max) olarak ifade edildi. Tüm testlerde p< 0.05 değerı istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Klinik Bulgular: Tüm gruplardaki sıçanların başlangıç ve final vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde; kontrol ve tampon gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi (p<0.05). Bununla birlikte, DM grubunda sıçanların vücut ağırlıkları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak izlendi (p<0.05), (Tablo 1).

Biyokimyasal Bulgular: *Kan glukoz miktarları:* Tüm gruplardaki sıçanların başlangıç ve final kan glukoz miktarları değerlendirildiğinde; Kontrol ve Tampon gruplarındaki sıçanların kan glukoz miktarlarında başlangıca göre bir değerışiklik gözlenmedi. Bununla birlikte, DM grubunda sıçanların kan glukoz miktarları başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi (p<0.05), (Tablo 2).

İmmünohistokimyasal Bulgular: İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda kontrol grubu (TRPM2 Şekil 1a), (TRPM7 Şekil 1d) ile karşılaştırıldığında tampon grubunda TRPM2 (Şekil 1b) ve TRPM7 (Şekil 1e) immünreaktivitesi sırasıyla (p=1.00/p=0.934) benzer olarak izlenirken, DM grubunda, TRPM2 (Şekil 1c) ve TRPM7 (Şekil 1f) immünreaktivitesinin sırasıyla (p=0.035/p=0.036) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi (Tablo 3, Şekil 1).

Tablo 1. Başlangıç ve final vücut ağırlıkları

	Başlangıç vücut ağırlıkları (g) Median (min-max)	Final vücut ağırlıkları (g) Median (min-max)	P*
Kontrol	249.25 (223.62-268.47)	279.99 (263.20-302.45)	0.028
Tampon	243.59(228.95-275.36)	278.49 (265.45-312.25)	0.028
DM	251.38 (238.69-271.259)	202.08 (126.45-211.55)	0.028

Değerler Median (min-max)olarak verilmiştir. * Wilcoxon signed-rank test

Tablo 2. Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan glukoz değerleri (mg/dl)

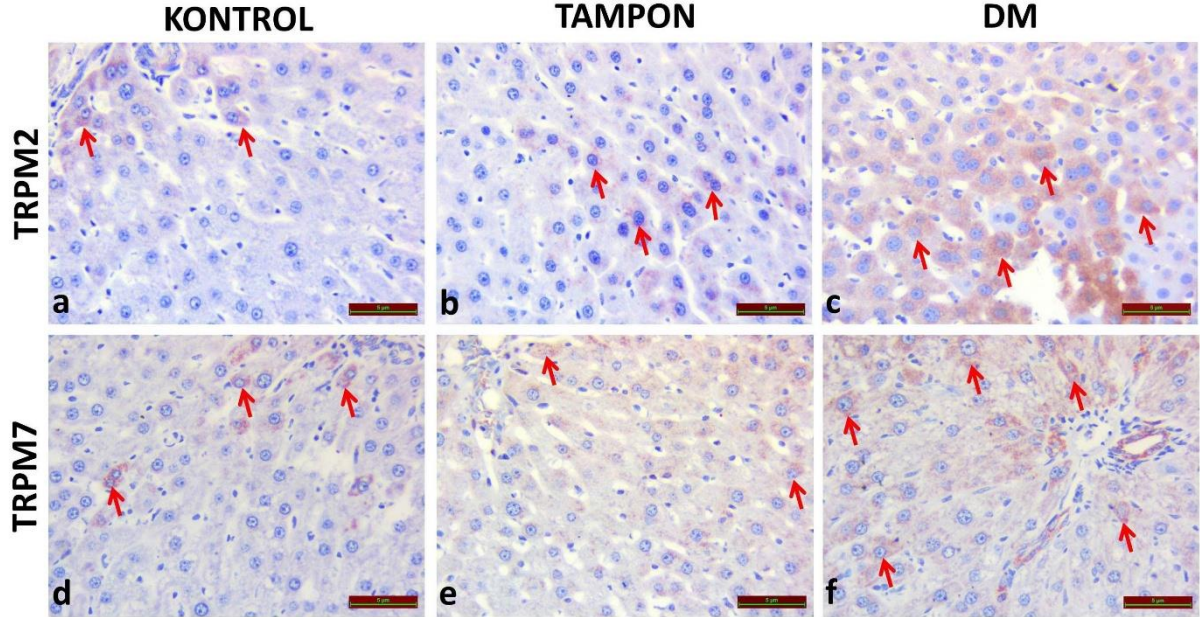
	Başlangıç kan glukoz değerleri (mg/dL) Median (min-max)	Final kan glukoz değerleri (mg/dL) Median (min-max)	P*
Kontrol	112.00 (89.00-124.00)	100.00 (88.00-119.00)	0.207
Tampon	107.00 (88.00-121.00)	99.00 (88.00-120.00)	0.093
DM	99.50 (87.00-114.00)	461.00 (398.00-496.00)	0.028

Değerler Median (min-max)olarak verilmiştir. * Wilcoxon signed-rank test

Tablo 3. TRPM2 ve TRPM7 İmmünreaktivitesi histoskoru

	TRPM2 İmmünreaktivitesi histoskoru	TRPM7 İmmünreaktivitesi histoskoru
	Median (min-max)	Median (min-max)
Kontrol	0.25 (0.20-0.30)	0.15 (0.10-0.30)
Tampon	0.25 (0,10-0,40)	0.10 (0.10-0.45)
DM	0.90 (0.80-1.80) ^a	0.90 (0.80-1.20) ^a
P*	0.012	0.009

Değerler median, min-max olarak verilmiştir. ^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığına, (p<0.05) *Kruskal-Wallis Test



Şekil 1. Gruplar arası TRPM2 ve TRPM7 immünoreaktivitesi. İmmün pozitif hücreler (Kırmızı ok).

Tartışma

TRP kanalları, çeşitli iç ve dış uyaranlar için hücrel sensörler olarak işlev gören kanallardır (5). Tanımlanmış 28 memeli TRP kanalı izoformu olup bunlardan en az 19'u (TRPC'nin tümü, TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPP1, TRPP2'ler ve TRPM5 hariç tüm TRPM'ler) vasküler endotel hücrelerden ekspres edilir (6, 7). Bu kanallar arasında, TRPC1, -C4, -C6 ve -M7, endotel bariyer disfonksiyonu ve bozulmuş anjiyojenik süreçlerle bağlantılıdır (8). TRPC3, -C4, -M2 ve -M7 oksidatif hasar ve hücre ölümünden sorumlu izotiplerdir (7, 9).

TRPM2 ve TRPM7 kanalları başta beyin ve kemik iliği olmak üzere böbrek, bağırsak, karaciğer, akciğer, testis gibi pek çok dokuda tespit edilmiştir. TRPM2 ve TRPM7 kanalları ya direkt olarak plazma zarındaki Ca²⁺ giriş kanalları gibi davranarak ya da sitozolik serbest Ca²⁺ kanallarında değişime yardımcı olarak etkilerini gösterirler. Metabolizma sonucu üretilen serbest oksijen radikalleri TRPM2 ve TRPM7 kanallarını aktive eder. Bu kanalların aktivasyonu hücre içi Ca²⁺ iyonu artışına, bu da hücre ölümüne kadar varabilen çeşitli patofizyolojik olayların başlamasına sebep olmaktadır (10, 11). Günümüz dünyasında en önemli sağlık sorunlarından

biri olarak kabul edilen diyabetes mellitus (DM), kardiyovasküler, serebrovasküler ve nefrotik komplikasyonları ile mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. DM'ün karaciğerde hepatosit hasarı, inflamasyon ve fibrozis ile ilişkisi bilinmekte olup bu değişikliklere, hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres aracılık etmektedir (12, 13). Hepatosit hasarı, hepatik yıldız hücrelerini aktive etmekten sorumlu tutulan Kupffer hücrelerinden inflamatuvar sitokinlerin salınmasını indükler. Fibrozis, doku hasarına yanıt olarak gelişir ve esas olarak hepatik stellat hücreler tarafından salgılanan ekstraselüler matriks birikimine neden olur (14). Karaciğer fibrozisi karmaşık bir patolojik süreçtir. Çeşitli patolojilerin neden olduğu yaralar tekrar tekrar iyileşir, yara izleri oluşturur ve sonunda karaciğer fibrozisine dönüşür. Karaciğer fibrozisi kontrol altına alınmazsa, karaciğer sirozuna ve hatta karaciğer kanserine yol açabilir. Uygun tedaviler karaciğer fibrozis sürecini yavaşlatabilir. Bu nedenle, karaciğer fibrozis tedavisi son derece önemlidir ve karaciğer fibrozisi için yeni terapötik hedefler bulmak acildir (15). Hepatik stellat hücrelerin aktivasyonu ve proliferasyonunun, hepatik fibrozis oluşumu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe etmek, karaciğer fibrozisini

hafifletmede önemli bir adımdır. Karaciğer hasarına neden olan önemli bir faktör, dinlenme durumundaki hepatik stellat hücrelerinin aktive edilmiş miyofibroblastlara dönüştürülmesidir. Sonrasında gelişen kolajen birikimi, belirgin yara izlerine yol açar (16). Bu sebeple, hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonunu veya proliferasyonunu inhibe etmek ve ekstraselüler matriks oluşumunu bloke etmek, terapötik müdahale için anahtar stratejilerdir (17). Bununla birlikte, fibrojenizi yönlendiren moleküler mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır. Şu anda birkaç anti-fibrotik terapötik strateji, etkili olmasına rağmen gelecekte karaciğer hasarının tedavisi için etkili hedefler bulmak hala güncel bir konudur. TRPM2, TRPM7 iyon kanalları sayısız hastalık modelinde karşımıza çıkan etkili moleküllerdir (18-20).

Bizim çalışma bulgularımız diyabetik sıçan karaciğer dokularında TRPM2 ve TRPM7 ekspresyonunun arttığını gösterdi. Bu durum literatür bilgileriyle örtüşmekte olup diyabete bağlı karaciğer patolojilerine yönelik bir bulgu olabilir. TRPM2, hücre ölümü, sitokin üretimi, oksidatif stres ve hatta fibrozis dahil olmak üzere çeşitli fizyopatolojik süreçlerde yer almaktadır. Örneğin, oksidatif stresin neden olduğu hücre ölümünde TRPM2 kanallarının aktivasyonu önemli bir faktördür (21). Önceki bir çalışmada yazarlar TRPM2 ekspresyonunun, sıçan kardiyak fibroblastlarında hipoksi tarafından indüklenen, insan fibroblastlarında tip I kollajene benzer şekilde bir birikime neden olarak, kardiyak fibrozise katkı sağladığını gösterdiler (22). TRPM2 inhibisyonunun, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozu hafifleterek iskemik akut böbrek hasarını önlemede etkili olduğu ve inflamatuvar yanıtı inhibe ederek, iskemi/reperfüzyona bağlı akut böbrek hasarını iyileştirdiğini gösterdi (23). TRPM 7 ise iyon kanalı ve kinaz olarak ikili işlevleri olan bir zar proteinidir. Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonlarının akışını düzenleyerek çeşitli hücrelerin aktivasyonuna ve çoğalmasına katkı sağlamaktadır (24). TRPM7 kanalları; hücre çoğalması, hayatta kalma,

farklılaşma, göç, yapışma, embriyonik gelişim ve nörotransmitter salınımı gibi çeşitli fizyolojik süreçlere de aracılık etmektedir (25). TRPM7'nin inflamatuvar böbrek hasarı sırasında arttığı ve TRPM7 ekspresyonunun inhibe edilmesinin, progresif renal fibrozise karşı koruma sağladığı gösterilen tek taraflı üreter obstrüksiyonu böbreğinde, renal atrofiyi önleyebileceği gösterildi (26, 27). Oksidatif stres kaynaklı hücre hasarında önemli bir role sahip olup TRPM7 ekspresyonunun baskılanmasının, Ca^{+2} alımını azaltarak nöronal sağkalımı artırdığı bilinmektedir. TRPM7'nin hücre ölümüne aracılık etme yeteneğinde birden fazla iyon iletiminin rol oynadığı fikriyle tutarlı olarak, insan embriyonik böbrek hücrelerinde TRPM7'nin aşırı ekspresyonu, ROS üretiminin artmasına neden olan Mg^{+2} ve Ca^{+2} akışını artırmaktadır (28). Son zamanlarda, TRPM7 ekspresyonunun, H_2O_2 tarafından artırıldığı ve TRPM7'in oksidatif stresin bir belirteci olabileceği düşünülmekte olup yapılan çalışmalarda CCl_4 ile indüklenen karaciğer fibrozisinde farelerin karaciğerlerinde TRPM7 ekspresyonunun arttığı gösterilmiş ve TRPM7 için spesifik bir inhibitör kullanılarak anti-tümör, anti-inflamatuvar ve anti-hepatik fibrozis aktivite elde edilebileceği belirtilmiştir (29-31).

Çalışmamız TRPM2 ve TRPM7 ekspresyonunun diyabetik karaciğer dokularında arttığını gösterdi. Bu bulgu TRPM2 ve TRPM7 nin patolojik süreçlerdeki katkısı düşünüldüğünde, diyabete bağlı karaciğer patolojilerini de açıklayabilir ve TRPM2 ve TRPM7 üzerinde bloke edici etkili farmakolojik ajanların karaciğer fibrozisinin tedavisini amaçlayan ileri çalışmalara ışık tutabilir

Sonuç olarak; TRPM2 ve TRPM7'nin karaciğer fibrozisinin tedavisi için bir ilaç hedefi olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle, etkili bir TRPM2 ve TRPM7 inhibitörü arayışı, karaciğer fibrozisinin tedavisinde yeni bir yöntem gibi görünmektedir.

Kaynaklar

1. Erbaş O. Deneysel diyabet modelleri. *Bilim Tıp Dergisi* 2015; 1: 40-42.
2. Farooqi AA, Javeed MK, Javed Z, et al. TRPM channels: same ballpark, different players, and different rules in immunogenetics. *Immunogenetics* 2011; 63: 773-787.
3. Zholos A. Pharmacology of transient receptor potential melastatin channels in the vasculature. *British Journal of Pharmacology* 2010; 159: 1559-1571.
4. Simon F, Varela D, Cabello-Verrugio C. Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell Signal* 2013; 25: 1614-1624.
5. Yao X, Garland CJ. Recent developments in vascular endothelial cell transient receptor potential channels. *Circ Res* 2005; 97: 853-863.
6. Becerra A, Echeverría C, Varela D, et al. Transient receptor potential melastatin 4 inhibition prevents lipopolysaccharide-induced endothelial cell death. *Cardiovasc Res* 2011; 91: 677-684.
7. Miller BA, Zhang W. TRP channels as mediators of oxidative stress. *Adv Exp Med Biol* 2011; 704: 531-544.
8. Kwan HY, Huang Y, Yao X. TRP channels in endothelial function and dysfunction. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 907-914.
9. Chen HC, Su LT, GP Omayra, et al. A key role for Mg^{+2} in TRPM7's control of ROS levels during cell stress. *Biochem* 2012; 445: 441-448.
10. Lange I, Yamamoto S, Partida-Sanchez S, et al. TRPM2 functions as a lysosomal Ca^{+2} release channel in beta cells. *Sci Signal* 2009; 19: 23.
11. Hecquet CM, Malik AB. Role of H_2O_2 activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 619-25.
12. Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, et al. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes Care* 2007; 30: 734-743.
13. Joudaki R, Setorki M. The protective effect of Satureja bachtiarica hydroalcoholic extract on streptozotocin-

- induced diabetes through modulating glucose transporter 2 and 4 expression and inhibiting oxidative stress. *Pharm Biol* 2019; 57: 318-327.
14. Kumar V, Mahato RI. Delivery and targeting of miRNAs for the treatment of liver fibrosis. *Pharmaceutical Research* 2015; 32: 341-361.
 15. Pang Y, Kartsonaki C, Turnbull I, et al. Diabetes, plasma glucose, and incidence of fatty liver, cirrhosis, and liver cancer: A prospective study of 0.5 million people. *Hepatology* 2018; 68: 1308-1318.
 16. Jian W. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *Gastroenterol* 2000; 35: 665-672.
 17. Yu F, Ji S, Su L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells inhibit activation of hepatic stellate cells in vitro and ameliorate rat liver fibrosis in vivo. *Formos Med Assoc* 2015; 114: 130-138.
 18. Yamamoto S, Shimizu S, Kiyonaka S, et al. TRPM2-mediated Ca^{2+} influx induces chemokine production in monocytes that aggravates inflammatory neutrophil infiltration. *Nat Med* 2008; 14: 738-747.
 19. Yonezawa R, Yamamoto S, Takenaka M, et al. TRPM2 channels in alveolar epithelial cells mediate bleomycin-induced lung inflammation. *Free Radical Biology and Medicine* 2016; 90: 101-113.
 20. Cai S, Wu L, Yu S, et al. Carvacrol alleviates liver fibrosis by inhibiting TRPM7 and modulating the MAPK signaling pathway. *European Journal of Pharmacology* 2021; 898: 173982.
 21. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, et al. LTRPC2 Ca^{2+} permeable channel activated by changes in redox state predisposes to cell death *Mol. cell* 2002; 9: 163 -173.
 22. Takahashi K, Sakamoto K, Kimura J. Hypoxic stress induces transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel expression in adult rat cardiac fibroblasts. *Pharmacol. science* 2012; 118: 186-197.
 23. Eraslan E, Tanyeli A, Polat E, et al. 8-Br-cADPR, a TRPM2 ion channel antagonist, inhibits renal ischemia-reperfusion in jury. *J Cell Physiol* 2019; 234: 4572-4581.
 24. Sun H, Leng T, Zhao Z, et al. Role of TRPM7 Channels in Hyperglycemia-Mediated Injury of Vascular Endothelial Cells. *Plos One* 2013; 8: 11.
 25. Huguet F, Calvez ML, Benz N, et al. Function and regulation of TRPM7, as well as intracellular magnesium content, are altered in cells expressing F508-CFTR and G551D-CFTR. *Cell Mol Life Sci* 2016; 73: 3351-3373.
 26. Suzuki S, Penner R, Fleig A. TRPM7 contributes to progressive nephropathy. *Sci Rep* 2020; 10: 2333.
 27. Wang Y, Chen L, Wang K, et al. Suppression of TRPM2 reduces renal fibrosis and inflammation by blocking TGF- β 1-regulated JNK activation Author links opens overlay panel. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019; 120: 109556.
 28. Hong DK, Choi BY, Kho AR, et al. Carvacrol attenuates hippocampal neuronal death after global cerebral ischemia via inhibition of transient receptor potential melastatin 7. *Cells* 2018; 7: 231.
 29. Baldoli E, Castiglioni S, Maier JA. Regulation and function of TRPM7 in human endothelial cells: TRPM7 as a potential novel regulator of endothelial function. *Plos One* 2013; 8: 59891.
 30. Cai S, Wu L, Yuan S, et al. Carvacrol alleviates liver fibrosis by inhibiting TRPM7 and modulating the MAPK signaling pathway. *European Journal of Pharmacology* 2021; 898:173982.
 31. Fang L, Zhan S, Huang C, et al. TRPM7 channel regulates PDGF-BB-induced proliferation of hepatic stellate cells via PI3K and ERK pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; 272: 713-725.