

TRPM4-ioncsatornák vizsgálatának farmakológiai lehetőségei

Dienes Csaba Bálint^{1,2}, Kovács Zsigmond Máté^{1,2}, Óvári József^{1,3},
Szentandrassy Norbert^{1,4}

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola, Debrecen

³Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Doktori Iskola, Debrecen

⁴Debreceni Egyetem, FOK, Alapozó Orvosi Ismeretek Intézet, Debrecen



A főszerkesztő
video-összefoglalója

Levelezési cím:

Dr. Dienes Csaba Bálint, e-mail: dienes.csaba@med.unideb.hu

A tranziens receptorpotenciál melasztatin-4 a TRPM-fehérjecsald egyedülálló tagja. A TRPM5-höz hasonlóan Ca^{2+} -érzékeny és csak egyértékű kationokra permeábilis. Sok szervben, széles körben expresszálddik és a membránpotenciál és a Ca^{2+} -homeosztázis szabályozásával számos funkcióval is bír mind az ingerlékeny, mind a nem ingerelhető sejtekben. Az áttekintés a TRPM4 farmakológiai modulációját tárgyalja az ioncsatorna egy régebbi, gyakrabban használt, valamint két újabb, potenciálisan szelektívebb inhibitorának összehasonlításával és leírásával. A TRPM4 egyre nagyobb figyelmet kap és valószínűleg a jövőben is a kutatások témája lesz.

Kulcsszavak: TRPM4, CBA, 9-phenanthrol, meklofenamát

Pharmacological possibilities of testing TRPM4 ion channels

The Transient Receptor Potential Melastatin 4 is a unique member of the TRPM protein family. Like TRPM5, it is Ca^{2+} -sensitive and permeable only to monovalent cations. It is widely expressed in many organs and has multiple functions in both excitable and non-excitable cells by regulating membrane potential and Ca^{2+} homeostasis. This review discusses the pharmacological modulation of TRPM4 by comparing and describing one older, more commonly used inhibitor of the ion channel and two newer, potentially more selective inhibitors. TRPM4 is receiving increasing attention and is likely to be a topic of future research.

Keywords: TRPM4, CBA, 9-Phenanthrol, Meclofenamate

Bevezetés

A tranziens receptorpotenciál (TRP)-csatornákat *Drosophilában* fedezték fel, amikor a fototranszdukciónban szerepet játszó fehérje szerkezetét írták le (1). A TRP-család 28 tagja szekvencia-homológiájuk alapján hat alcsaládra osztható. Ezek közé tartozik a TRP Kanonikus (TRPC1-7), Vanilloid (TRPV1-6), Melasztatin (TRPM1-8), Ankyrin 1 (TRPA1), Muco-lipin (TRPML1- 3) és a Policisztin (TRPP2, TRPP3

és TRPP5) (2). A tranziens receptorpotenciál melasztatin (TRPM) alcsalád nyolc tagja (TRPM1–8) szekvenciájuk hasonlósága alapján négy párt alkot (3). Ezek közül egy pár a TRPM4 és a TRPM5, amelyek a csatorna többi tagjával ellentétben csak monovalens kationokra permeábilisak (4), a TRPM4 esetében a következő sorrenddel: $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ (5, 6). A TRPM4 egyik aktivátora az intracelluláris Ca^{2+} (7).

A TRPM4 az ingerképzésben

A TRPM4 megtalálható a pacemaker-szövetekben, gátlása dózisfüggő módon csökkenti a szívfrekvenciát (8). Nyulak izolált sinoatrialis sejtjein a 9-phenanthrol enyhén csökkenti a diasztolés depolarizációt és a spontán szívfrekvenciát, az akciós potenciál (AP) más paramétereinek befolyásolása nélkül (8).

A TRPM4 a pitvari elektrofiziológiában

A TRPM4-fehérje expressziója hasonló mértékű volt pitvarfibrilláció jelenlétében és annak hiányában is (9). A TRPM4 farmakológiai gátlása reverzibilis és dózisfüggő módon csökkenti az AP időtartamát vad típusú állatokból izolált pitvari sejteken, amit TRPM4-génkiütött (KO) állatokban nem tapasztaltak (10). Az angiotenzin-II növelte a TRPM4-expressziót immortalizált patkány pitvari HL-1 szívizomsejtekben (11). A TRPM4 aktivitása szintén megnőtt a CaMKII δ -val való funkcionális összekapcsolást követően a HL-1 myocytákban (12).

A TRPM4 szerepe a szív ingerületvezetésében

A TRPM4 mRNS-szintje humánban a Purkinje-sejtek szöveiteiben a legmagasabb (13). A TRPM4 mutációit a szív ingerületvezetési zavaraiért teszik felelőssé (14). Egyik elsőként azonosított mutáció egy 7. pozícióban történő aminosavváltás volt glutamátról lizinre (E7K), amely csökkent endocitózis és megemelkedett TRPM4-áramdenzitás révén funkcionyeréshez vezet (13). Az I. típusú familiáris szívblokk egyik oka a progresszív autoszomális domináns E7K-mutáció. Az E7K-mutánsok csatornáiban a nyitott állapotot a preferált, mivel megemelkedett a feszültség- és a Ca²⁺-érzékenységük (15). Az E7K-mutáns TRPM4-csatorna denzitásának növekedése fokozatosan csökkenti az AP vezetési sebességét, ami teljes vezetési blokkban csúcsondik ki (15). A TRPM4 mutációit nagy számban mutatták ki *Brugada-szindrómás* betegekben is (16).

A TRPM4 a kamrai elektrofiziológiában

A TRPM4 a szív többi részéhez képest nagyon kis mértékben expresszálódik a kamrákban. A TRPM4 mRNS-expressziója a humán szívben legalacsonyabb a bal kamrában volt (13). A TRPM4 az AP morfológiájához is hozzájárul, legalábbis egerekben. TRPM4 KO egerekben kimutatták, hogy a bal kamrai papilláris AP-k hossza szignifikánsan rövidebb a vad típusúaknál (17). β -adrenerg stimuláció során megnövekedett az L-típusú Ca²⁺-áram által közvetített Ca²⁺-belépés hajtóereje, ami fokozott kontraktilitáshoz vezetett (17), ez pedig együtt jár az adenil-cikláz aktiválásával (18). A TRPM4 az állóképességi edzéssel indukált jótékony kardiális remodellingben is részt vesz (19).

A TRPM4 szerepe a szív hipertrofiájában és a szívelégtelenségben

Spontán hipertóniás patkányok kamrai szívizomsejtjeiben magasabb TRPM4-expressziót mutattak ki, mint a

kontrollként vizsgált Wistar-Kyoto-patkányok szöveteiben (20).

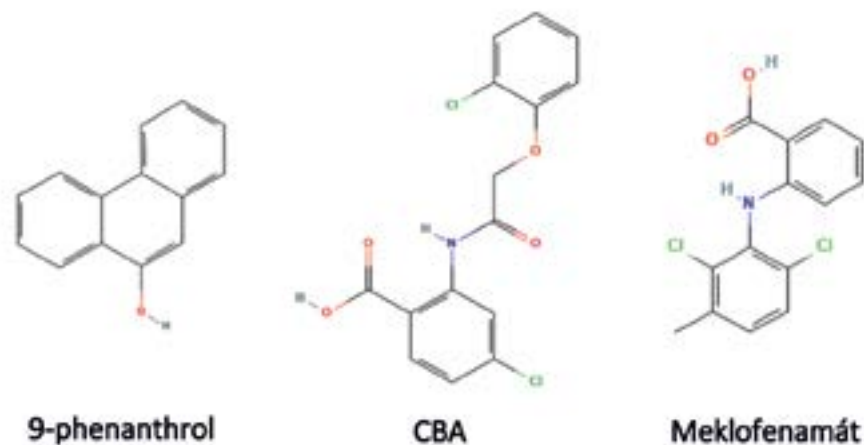
A TRPM4 egerekben védő szereppel bír hipertóniás hipertrofiában, valamint szívelégtelenségben is. A TRPM4 KO-egerek fokozott katekolaminfelszabadulásuk miatt hipertóniásak (21). Kamrai sejtekben a β -adrenerg stimulációra fokozott inotróp választ adtak, a vad típusúakkal szemben (17). TRPM4 KO-egerekben az angiotenzin-II indukált szívizom-hipertrofia a vad típusú egerekhez képest kifejezettebb volt (22). Felnőtt TRPM4 KO-egerekben a bal kamra excentrikus hipertrofiája, vagyis a kamra méretének és a kamrafal vastagságának növekedése együttesen volt kimutatható a kontroll, vad típusúakhoz képest (23).

A TRPM4 aktiválása

A TRPM4-áramot endogén és exogén vegyületek is növelhetik. Egyes vegyületek közvetlenül a csatorna fehérjéjére; mások más kötőhelyen hatnak, és közvetve növelik a TRPM4-áramot. Elsőként magát az intracelluláris Ca²⁺-ot kell megemlíteni (6). Ezenkívül az intracelluláris térből a foszfatidil-inozitol 4,5-biszfoszfát (PIP2) (és rokonvegyületei) (7, 24, 25) és a kalmodulin (26, 27) aktiválják a TRPM4-et. További aktivátor még a dekanadát (28), a 3,5-bis(trifluor-metil)pirazol-származék (BTP2) (más néven YM-58483) (29), a H₂O₂ (30), szöveti plazminogén-aktivátor (tPA) (31), az U73122 (a foszfolipáz-C inhibitora) (32), valamint az adenosin-trifoszfát-függő K⁺ (K_{ATP}) csatornaaktivátor diazoxid (27). Végül, de nem utolsósorban a protein-kináz C (PKC) által indukált foszforiláció is növeli a TRPM4-áramot (26).

A TRPM4 gátlása

Számos vegyület blokkolja a TRPM4-áramot. Ezek közül néhány endogén molekula, mint például az adenosin-trifoszfát (ATP) (és rokonvegyületei) (33), a nitrogén-oxid (NO) (34) és a spermin (33). Mások exogén vegyületek, köztük a kinin (35), az MPB-104 (36), a nem szteroid gyulladáscsökkentő flufenaminsav (FFA) (37), az antidiabetikus glibenklamid (4), az antimycoticus klotrimazol (38), kloridcsatorna-blokkolók (mint például a difenil-amin-2-karbonsav (DPC), 3',5-diklór-difenil-amin-2-karbonsav (DCDPC) és az 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzoesav – NPPB) (39), valamint a 9-phenanthrol (39) (1. ábra). E vegyületek szelektivitása sok esetben meglehetősen gyenge, ami újabb és újabb vegyületek keresését és tesztelését teszi szükségessé. Ilyen nemrégiben kifejlesztett szerek a 4-klór-2-[[2-(2-klór-fenoxi)acetil]amino]benzoesav (CBA) (1. ábra), a 4-klór-2-(1-naftiloxi-acetamido)benzoesav (NBA) és a 4-klór-2-(2-(2-(4-klór-2-metilfenoxi)propanamido)benzoesav (LBA) (40, 41). Egy közelmúltban megjelent tanulmány kimutatta, hogy egy nem szteroid gyulladáscs-



1. ÁBRA. A 9-phenanthrol, a CBA, valamint a meklofenamát szerkezeti képlete

csökkentő hatóanyag, a meklofenamát (1. ábra) szintén alkalmas lehet a csatorna gátlására és ezáltal annak vizsgálatára (42). Ezenkívül, különösen *in vivo* vizsgálatokban, specifikus M4P, M4M és M4M1 antitesteket használtak a TRPM4 blokkolására (43, 44) vagy kis interferáló RNS-t (siRNS) alkalmaztak a TRPM4 elnémítására (45). Ez utóbbi megközelítést *in vitro* is alkalmazták (46). A következőkben néhány jelentős gátlószerezrel kapcsolatos ismereteket tekintjük át.

9-phenanthrol

Az egyik legszélesebb körben használt TRPM4-gátlószerez a 9-phenanthrol (IUPAC név: phenanthren-9-ol). *Grand és munkatársai* 2008-ban írták le a 9-phenanthrolt (36), *Guinamard és munkatársai* pedig a hatóanyag specifitását tárgyalták, és foglalták össze a simaizomra, a szívre és a neuronális aktivitásra gyakorolt hatásait (36). A TRPM4 hozzájárul a sejthalálhoz és az angiogenezishez is (39). A 9-phenanthrol IC_{50} értéke 17-20 μM tartományban volt mind a teljes sejttes, mind az inside-out patch mérések során, hatása pedig reverzibilis és feszültségtől független volt (36). Érdekes módon sokkal kisebb IC_{50} (1,7 nM) értéket jelentettek humán zsírszövetből származó őssejttesekben, de a hatóanyagot előkezelésben használták (47). A 9-phenanthrol által kiváltott TRPM4-gátlás reverzibilis volt, bár e hatás megszüntetése nehezebb, mint a flufenaminsav esetén (48). A 9-phenanthrol reverzibilisen csökkentette az akciós potenciál (AP) időtartamát egér pitvari szívműködésben, az IC_{50} 21 μM volt (10). Frissen izolált patkány agyi artériás simaizomsejttesekben a TRPM4-csatornák kissé érzékenyebbek bizonyultak a 9-phenanthrolra (IC_{50} : 11 μM) (49). Még 100 μM 9-phenanthrol sem volt hatással a TRPM5 csatornára (36). Ezzel szemben a 9-phenanthrol 10 μM -os IC_{50} értékkel gátolta a szarvasmarha szív cAMP-függő protein kinázát és a miozin könnyűlánc kinázát (50). Bár 10 μM 9-phenanthrol nem változtatta meg a primer cardiomyocyták feszültségkapcsolt Ca^{2+} - és K^{+} -csatornáit, 100 μM -nál 47, illetve 43%-

os csökkenést idézett elő ezekben a csatornában (48). Ezzel szemben kimutattuk, hogy már 3-30 μM 9-phenanthrol is jelentősen csökkentett számos K^{+} -áramot natív cardiomyocytákban (51). A 9-phenanthrol blokkolta a szív nátriumcsatornáit, és dózisfüggően gátolta a nyúl kamrai sejtek késői és csúcs nátriumáramait 18 és 71 μM -os IC_{50} értékekkel (52). Az endotélsejttes $KCa_{3.1}$ csatornáit 20 μM 9-phenanthrol feltehetően közvetlen csatornahatás révén aktiválta (53). A 9-phenanthrol 12 μM IC_{50} értékkel gátolta a TMEM16A-indukált áramot patkány artériás simaizomsejttesekben és módosította a csatorna kapuzását is, ami arra utal, hogy a 9-phenanthrol nem a TMEM16A pórusát blokkolja (54). Továbbá a 9-phenanthrol 340 nm-en autofluoreszkál, ami azonban 10 μM koncentráció esetén is csak 6 nM intracelluláris Ca^{2+} -szint változásnak felel meg (55). A 9-phenanthrol (ha csak az intracelluláris oldalról alkalmazzuk) 30 μM -nál gátolta a humán, de aktiválta a humán embrionális vesesejttesekben (TsA-201) stabilan overexpresszált egér TRPM4-csatornákat (56). Ezek az eredmények rávilágítanak arra, hogy bár a 9-phenanthrol jó és hatásos TRPM4-gátló, más csatornákra is hatással van. Ezt figyelembe kell venni az alkalmazásakor, különösen a szűk „terápiás ablak” miatt.

CBA

A közelmúltban került kifejlesztésre a CBA (IUPAC név: 4-chloro-2-[[2-(2-chlorophenoxy)acetyl]amino]benzoic acid), ami egy potenciálisan jobb szelektivitású hatóanyag (40). A CBA a 9-phenanthrolhoz képest reverzibilisebb és mintegy 15-ször erősebb TRPM4-áram-gátlást vált ki. Ráadásul a CBA még hatékonyabban csökkenti az endogén TRPM4-áramokat, mint az expresszált sejtek TRPM4 áramát (IC_{50} értékek: 1,1, illetve 1,8 μM). Ezen túlmenően, még 10 μM -nál is, ahol legalább 90%-os TRPM4-áramgátlás volt kimutatható, a CBA alig befolyásolt más fontos ioncsatornákat ($Kv_{11.1}$, TRPM5, GABA-A receptor- $\alpha 1$ -alegység, NMDA-receptor, L-típusú kalciumcsatorna) a specifikus antagonistá

1. TÁBLÁZAT. A három legújabb TRPM4-gátlószer összehasonlítása

	9-phenanthrol	CBA	Meklofenamát
Első publikáció éve	2008	2019	2022
IC ₅₀ (TRPM4)	17-20 μM	1,1-1,8 μM	3,4 μM
Szelektivitási vizsgálatok (vastagon szedettekre hatott)	TMEM16A , I _{to1} , I _{Kr1} , I _{Ks1} , I _{CaL} , I _{K1}	I _{to1} , I _{Na} , I _{ate} , I _{Kr1} , I _{Ks1} , I _{Val} , I _{K1}	I _{Na} , I _{CaL} és NCX
Szöveti vizsgálatok	Patkány agyi erek simaizma, neuron, humán zsírszöveti őssejt, egér pitvari szívízom, kutya kamrai szívízom, szarvasmarha-szív, nyúl kamrai szív	Prosztata nyirokcsomó-karcinóma (LNCaP), kutya cardiomyocyta	HEK-293T, egér cardiomyocyta

kötődés csökkenés alapján megítélve (40). Ezzel szemben munkacsoportunk kimutatta, hogy kutya bal kamrai sejtekben 10 μM CBA 20, illetve 47%-kal csökkentette a tranziens kifelé irányuló K⁺ (I_{to1}) és késői Na⁺-áramokat (57). Amellett, hogy a CBA TRPM4-blokkoló, kémiai chaperonként is működik, amely csökkenti a TRPM4 endoplazmatikus retikulum-asszociált degradációját (40). A CBA hatékonyságát a prosztata nyirokcsomó-karcinóma sejtek (LNCaP) endogén TRPM4 áramára igazolták (58). Meg kell jegyezni, hogy *Ozhathil* és *munkatársai* eredményeivel ellentétben a gátlás csak részben volt reverzibilis, ráadásul még 10 μM CBA jelenlétében is csak 70-80%-os volt a TRPM4-áram gátlása (58).

Meklofenamát

Egy nemrég megjelent tanulmányban írták le először, a meklofenamát [IUPAC név: 2-[(2,6-dichloro-3-methylphenyl)amino]benzoic acid] TRPM4-csatornákra gyakorolt hatását (42). A meklofenamátot korábban izomfájdalom, ízületi gyulladás és dysmenorrhoea kezelésére használták (59, 60). A nem szteroid gyulladásgátlók (NSAID) antranilsav-származékok (vagy fenamát) osztályának tagja, az FDA 1980-ban hagyta jóvá. Az osztály többi tagjához hasonlóan ciklooxygenáz (COX) gátló, megakadályozza a prosztaglandinok képződését (59). Talliumalapú szűréssel 2560 biológiailag aktív és szerkezetileg változatos vegyület vizsgálata során TRPM4-gátló aktivitással rendelkező vegyületeként találták a meklofenamátot és hatását TRPM4-et expresszáló HEK-293T-sejtekben végzett teljes sejtes patch clamp mérésekkel igazolták (42). A meklofenamát dóziszfüggő módon gátolta a TRPM4-et, az IC₅₀ érték 3,4 μM volt. Ezzel szemben a meklofenamát 36 μM-os IC₅₀ értékkel gátolta csak az I_{Na}-ot; (10-szer nagyobb IC₅₀ érték), míg 500 μM meklofenamát sem gátolta teljes mértékben az I_{CaL}-t. 10 μM meklofenamát vad típusú egerekből származó szívízomsejtek AP-jára gyakorolt hatását is vizsgálták. Az AP 50%-os repolarizációjához szükséges időtartam (APD50) és a nyugalmi membránpotenciál kissé csökkent, míg az összes többi AP-tulajdonság (beleértve az amplitúdót, az AP-csúcs eléréséhez szükséges időt, a korai depolarizáció legnagyobb meredekségét, és az APD90) változatlan maradt. A meklofenamát *in vivo* elnyomja a koffein-indukált ritmuszavarokat a katekolaminerg polimorfizmusos kamrai tachikardiás egerekben (42) (1. táblázat).

Következtetés

Bár a TRPM4-et a 21. század elején írták le, egy, a különböző szövetekben előforduló Ca²⁺-aktivált, nem specifikus kationos áramról már jóval korábban beszámoltak. Azóta óriási mennyiségű ismeretanyag halmozódott fel, de még mindig vannak megoldásra váró problémák. Például a jelenleg használt inhibitorok még mindig nem elég szelektívek, ezért új megközelítéseket dolgoznak ki a szelektivitási problémák kiküszöbölésére. A jelenlegi kutatások során a TRPM4 expressziójának és/vagy funkciójának elnémitását is gyakran használják a TRPM4 szerepének tisztázására. Ezek a molekuláris biológiai megközelítések jelenleg specifikusabbnak tűnnek, de alkalmazásuk bonyolultabb az aktiváló vagy gátló vegyületek alkalmazásához képest. A TRPM4 ígéretes terápiás célpont lett a központi idegrendszeri sérülésekben, és a jövőben más állapotok kezelésében is szerepet kaphat.

Nyilatkozat

A szerzők kijelentik, hogy az összefoglaló közlemény megírásával kapcsolatban nem áll fenn velük szemben pénzügyi vagy egyéb lényeges összeütközés, összeférhetetlenségi ok, amely befolyásolhatja a közleményben bemutatott eredményeket, az abból levont következtetéseket vagy azok értelmezését.

Irodalom

- Montell C, Rubin GM. Molecular characterization of the drosophila trp locus: A putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron* 1989; 2: 1313–1323. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90069-x](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90069-x)
- Chang Y, Schlenstedt G, Flockerzi V, Beck A. Properties of the intracellular transient receptor potential (TRP) channel in yeast, Yvc1. *FEBS Lett* 2010; 584: 2028–2032. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.12.035>
- Jimenez I, et al. TRPM Channels in Human Diseases *Cells* 2020; 9. <https://doi.org/10.3390/cells9122604>
- Guinamard R, et al. Functional characterization of a Ca²⁺-activated non-selective cation channel in human atrial cardiomyocytes. *J Physiol* 2004; 558: 75–83. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063974>
- Xu XZ, Moebius F, et al. Regulation of melastatin, a TRP-related protein, through interaction with a cytoplasmic isoform. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 10692–10697. <https://doi.org/10.1073/pnas.191360198>
- Launay P, et al. TRPM4 is a Ca²⁺-activated nonselective cation channel mediating cell membrane depolarization. *Cell* 2002; 109: 397–407. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00719-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00719-5)
- Demion M, et al. TRPM4, a Ca²⁺-activated nonselective cation channel in mouse sino-atrial node cells. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 531–538. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.11.023>
- Hof T, Simard C, Rouet R, et al. Implication of the TRPM4 nonselective cation channel in mammalian sinus rhythm. *Hear Rhythm* 2013; 10: 1683–1689. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2013.08.014>
- Zhang YH, et al. Evidence for functional expression of TRPM7 channels in human atrial myocytes. *Basic Res Cardiol* 2012; 107.

- <https://doi.org/10.1007/s00395-012-0282-4>
10. Simard C, Hof T, Keddache Z, et al. The TRPM4 non-selective cation channel contributes to the mammalian atrial action potential. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 59: 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.01.019>
 11. Hu Y, et al. Uncovering the arrhythmogenic potential of TRPM4 activation in atrial-derived HL-1 cells using novel recording and numerical approaches. *Cardiovasc Res* 2017; 113: 1243–1255. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx117>
 12. Hu Y, et al. Pathological activation of CaMKII induces arrhythmogenicity through TRPM4 overactivation. *Pflügers Arch – Eur J Physiol* 2021; 473: 507–519. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02507-w>
 13. Kruse M, et al. Impaired endocytosis of the ion channel TRPM4 is associated with human progressive familial heart block type I. *J Clin Invest* 2009; 119: 2737–2744. <https://doi.org/10.1172%2FJCI38292>
 14. Amarouch MY, El Hilaly J. Inherited Cardiac Arrhythmia Syndromes: Focus on Molecular Mechanisms Underlying TRPM4 Channelopathies. *Cardiovasc Ther* 2020; 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6615038>
 15. Hu Y, et al. Theoretical Investigation of the Mechanism by which a Gain-of-Function Mutation of the TRPM4 Channel Causes Conduction Block. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 8513. <https://doi.org/10.3390/ijms22168513>
 16. Liu H, et al. Molecular Genetics and Functional Anomalies in a Series of 248 Brugada Cases with 11 Mutations in the TRPM4 Channel. *PLoS One* 2013; 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054131>
 17. Mathar I, et al. Increased β -adrenergic inotropy in ventricular myocardium from *Trpm4*^{-/-} mice. *Circ Res* 2014; 114: 283–294. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302835>
 18. Uhl S, Mathar I, Vennekens R, et al. Adenylyl cyclase-mediated effects contribute to increased Isoprenaline-induced cardiac contractility in TRPM4-deficient mice. *J Mol Cell Cardiol* 2014; 74: 307–317. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.06.007>
 19. Gueffier M, et al. The TRPM4 channel is functionally important for the beneficial cardiac remodeling induced by endurance training. *J Muscle Res Cell Motil* 2017; 38: 3–16. <https://doi.org/10.1007/s10974-017-9466-8>
 20. Guinamard R, Demion M, Magaud C, et al. Functional expression of the TRPM4 cationic current in ventricular cardiomyocytes from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2006; 48: 587–594. <https://www.ahajournals.org/doi/pdf/10.1161/01.HYP.0000237864.65019.a5>
 21. Mathar I, et al. Increased catecholamine secretion contributes to hypertension in TRPM4-deficient mice. *J Clin Invest* 2010; 120: 3267–3279. <https://doi.org/10.1172/jci41348>
 22. Kecskés M, et al. The Ca²⁺-activated cation channel TRPM4 is a negative regulator of angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Basic Res Cardiol* 2015; 110. <https://doi.org/10.1007/s00395-015-0501-x>
 23. Demion M, et al. *Trpm4* Gene Inactivation Leads to Cardiac Hypertrophy and Electrophysiological Alterations. *PLoS One* 2014; 9: e115256. <https://doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0115256>
 24. Nilius B, et al. The Ca²⁺-activated cation channel TRPM4 is regulated by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *EMBO J* 2006; 25: 467–478. <https://doi.org/10.1038%2Fsj.emboj.7600963>
 25. Zhang Z, Okawa H, Wang Y, et al. Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate rescues TRPM4 channels from desensitization. *J Biol Chem* 2005; 280: 39185–39192. <https://doi.org/10.1074/jbc.m506965200>
 26. Nilius B, et al. Regulation of the Ca²⁺ sensitivity of the nonselective cation channel TRPM4. *J Biol Chem* 2005; 280: 6423–6433. <https://doi.org/10.1074/jbc.m411089200>
 27. Woo SK, Kwon MS, Ivanov A, et al. The sulfonylurea receptor 1 (Sur1)-transient receptor potential melastatin 4 (Trpm4) channel. *J Biol Chem* 2013; 288: 3655–3667. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.428219>
 28. Nilius B, Prenen J, Janssens A, et al. Decavanadate modulates gating of TRPM4 cation channels. *J Physiol* 2004; 560: 753–765. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.070839>
 29. Takezawa R, et al. A pyrazole derivative potently inhibits lymphocyte Ca²⁺ influx and cytokine production by facilitating transient receptor potential melastatin 4 channel activity. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1413–1420. <https://doi.org/10.1124/mol.105.021154>
 30. Simon F, et al. Hydrogen peroxide removes TRPM4 current desensitization conferring increased vulnerability to necrotic cell death. *J Biol Chem* 2010; 285: 37150–37158. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.155390>
 31. Gerzanich V, Kwon MS, Woo SK, et al. SUR1-TRPM4 channel activation and phasic secretion of MMP-9 induced by tPA in brain endothelial cells. *PLoS One* 2018; 13: e0195526. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195526>
 32. Leitner MG, et al. Direct modulation of TRPM4 and TRPM3 channels by the phospholipase C inhibitor U73122. *Br J Pharmacol* 2016; 2555–2569. <https://doi.org/10.1111/bph.13538>
 33. Nilius B, Prenen J, Voets T, et al. Intracellular nucleotides and polyamines inhibit the Ca²⁺-activated cation channel TRPM4b. *Pflügers Arch Eur J Physiol* 2004; 448: 70–75. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00424-003-1221-x>
 34. Suh SH, Watanabe H, Droogmans G, et al. ATP and nitric oxide modulate a Ca²⁺-activated non-selective cation current in macrovascular endothelial cells. *Pflügers Arch Eur J Physiol* 2002; 444: 438–445. <https://doi.org/10.1007/s00424-002-0825-x>
 35. Talavera K, et al. The taste transduction channel TRPM5 is a locus for bitter-sweet taste interactions. *FASEB J* 2008; 22: 1343–1355. <https://doi.org/10.1096/fj.07-9591com>
 36. Grand T, et al. 9-Phenanthrol inhibits human TRPM4 but not TRPM5 cationic channels. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1697–1705. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.38>
 37. Guinamard R, Simard C, Del Negro C. Flufenamic acid as an ion channel modulator. *Pharmacol Ther* 2013; 138: 272–284. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.012>
 38. Vennekens R, Nilius B. Insights into TRPM4 function, regulation and physiological role. *Handb Exp Pharmacol* 2007; 179: 269–285. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34891-7_16
 39. Guinamard R, Hof T, Del Negro CA. The TRPM4 channel inhibitor 9-phenanthrol. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 1600–1613. <https://doi.org/10.1111/bph.12582>
 40. Ozthathil LC, et al. Identification of potent and selective small molecule inhibitors of the cation channel TRPM4. *Br J Pharmacol* 2018; 175: 2504–2519. <https://doi.org/10.1111/bph.14220>
 41. Delalande C, et al. Optimizing TRPM4 inhibitors in the MHFP6 chemical space. *Eur J Med Chem* 2019; 166: 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.048>
 42. Vandewiele F, et al. TRPM4 inhibition by meclofenamate suppresses Ca²⁺-dependent triggered arrhythmias. *Eur Heart J* 2022; 43: 4195–4207. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac354>
 43. Chen B, et al. TRPM4-specific blocking antibody attenuates reperfusion injury in a rat model of stroke. *Pflügers Arch – Eur J Physiol* 2019; 471: 1455–1466. <https://doi.org/10.1007/s00424-019-02326-8>
 44. Low SW, et al. Development and characterization of a monoclonal antibody blocking human TRPM4 channel. *Sci Rep* 2021; 11: 10411. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89935-5>
 45. Chen B, et al. Non-Invasive Multimodality Imaging Directly Shows TRPM4 Inhibition Ameliorates Stroke Reperfusion Injury. *Transl Stroke Res* 2019; 10: 91–103. <https://doi.org/10.1007%2Fs12975-018-0621-3>
 46. Flannery RJ, Kleene NK, Kleene SJ. A TRPM4-dependent current in murine renal primary cilia. *Am J Physiol – Ren Physiol* 2015; 309: F697–F707. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00294.2015>
 47. Tran TDN, et al. Histamine-induced Ca²⁺ signalling is mediated by TRPM4 channels in human adipose-derived stem cells. *Biochem J* 2014; 463: 123–134. <https://doi.org/10.1042/bj20140065>
 48. Simard C, Sallé L, Rouet R, Guinamard R. Transient receptor potential melastatin 4 inhibitor 9-phenanthrol abolishes arrhythmias induced by hypoxia and re-oxygenation in mouse ventricle. *Br J Pharmacol* 2012; 165: 2354–2364. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01715.x>
 49. Gonzales AL, Garcia ZI, Amberg GC, et al. Pharmacological inhibition of TRPM4 hyperpolarizes vascular smooth muscle. *Am J Physiol – Cell Physiol* 2010; 299: 1195–1202. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00269.2010>
 50. Wang BH, Ternal B, Polya GM. Specific Inhibition of Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase by the Antimalarial Halofantrine and by Related Phenanthrenes. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1994; 375: 527–536. <https://doi.org/10.1515/bchm3.1994.375.8.527>
 51. Veress R, et al. Transient receptor potential melastatin 4 channel inhibitor 9-phenanthrol inhibits K⁺ but not Ca²⁺ currents in canine ventricular myocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 2018; 96: 1022–1029. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0049>
 52. Hou J, et al. The transient receptor potential melastatin 4 channel inhibitor 9-phenanthrol modulates cardiac sodium channel. *Br J Pharmacol* 2018; 175: 4325–4337. <https://doi.org/10.1111/bph.14490>
 53. Garland CJ, et al. TRPM4 inhibitor 9-phenanthrol activates endothelial cell intermediate conductance calcium-activated potassium channels in rat isolated mesenteric artery. *Br J Pharmacol* 2015; 1(172): 1114–1123. <https://doi.org/10.1111/bph.12985>
 54. Burris SK, Wang Q, Bulley S, et al. 9-Phenanthrol inhibits recombinant and arterial myocyte TMEM16A channels. *Br J Pharmacol* 2015; 172: 2459–2468. <https://doi.org/10.1111/bph.13077>
 55. Burt R, et al. 9-Phenanthrol and flufenamic acid inhibit calcium oscillations in HL-1 mouse cardiomyocytes. *Cell Calcium* 2013; 54: 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2013.06.003>
 56. Arullampalam P, et al. Species-Specific Effects of Cation Channel TRPM4 Small-Molecule Inhibitors. *Front Pharmacol* 2021; 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.712354>
 57. Dienes C, et al. Electrophysiological effects of the transient receptor potential melastatin 4 channel inhibitor 4-chloro-2-(2-chlorophenoxy) acetamido benzoic acid (CBA) in canine left ventricular cardiomyocytes. *Int J Mol Sci* 2021; 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22179499>
 58. Borgström A, et al. Small Molecular Inhibitors Block TRPM4 Currents in Prostate Cancer Cells, with Limited Impact on Cancer Hallmark Functions. *J Mol Biol* 2021; 433: 166665. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.09.024>
 59. Whitehouse M. Drugs to Treat Inflammation: A Historical Overview. in *Frontiers in Medicinal Chemistry* 2012; 4: 707–729. (BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2012). <https://doi.org/10.2174/978160805207310904010707>
 60. De Mello NR, et al. Double-blind study to evaluate efficacy and safety of meloxicam 7.5 mg and 15 mg versus mefenamic acid 1500 mg in the treatment of primary dysmenorrhea. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 3: 667–673. <https://doi.org/10.1111/j.0001-6349.2004.00433.x>