



Аналіз активності c-kit імунопозитивних альфа-клітин підшлункової залози при екзогенних впливах та ендогенно сформованій патології

Т. В. Іваненко *

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Є низка факторів, що змінюють популяцію ендокриноцитів і їхню секреторну активність залежно від різних умов та експериментально сформованих патологій. Так, переривчаста гіпоксична гіпоксія, експериментально сформована патологія – цукровий діабет, генетично сформована патологія – артеріальна гіпертензія мають прямий вплив на ендокриноцити підшлункової залози зі своїм патофізіологічним механізмом. У цьому контексті цікавим є аналіз стану прогеніторного потенціалу альфа-клітин залежно від умов життєдіяльності організму, впливів і патологічних станів, що в ньому виникають.

Мета роботи – визначення активності проліферативного фактора c-kit в альфа-клітинах при екзогенних факторах: переривчастій гіпоксичній гіпоксії, а також ендогенно сформованій патології – артеріальній гіпертензії та цукровому діабеті.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на підшлунковій залозі щурів лінії SHR та Wistar. Глюкагон і c-kit в острівцях підшлункової залози визначали імунофлуоресцентним методом. Реакцію імунофлуоресценції вивчали флуоресцентним мікроскопом Axiolmager-M2.

Результати. Аналіз показника c-kit позитивних альфа-клітин у щурів, хворих на цукровий діабет, показав його підвищення вп'ятеро. Це можна пояснити тим, що виникнення гіперглікемії при цукровому діабеті характеризується не тільки підвищеним рівнем глюкози в крові внаслідок недостатнього вироблення інсуліну, але й шляхом збільшення кількості альфа-клітин, їхньої активної проліферації та можливого трансдиференціювання з бета-клітин. У щурів лінії SHR кількість c-kit позитивних альфа-клітин знижувалась, а отже такі зміни не стільки пов'язані з порушенням модуляції транскрипційного фактора, скільки з участю нейрогенних механізмів. Зниження c-kit позитивних альфа-клітин у тварин із гіпоксичною гіпоксією можна пояснити трансдиференційними (ремоделювальними) змінами, що спрямовані на пригнічення проліферативних процесів в альфа-ендокриноцитах.

Висновки. Збільшення показника c-kit позитивних альфа-клітин у хворих на цукровий діабет щурів пояснюється тим, що виникнення гіперглікемії при цукровому діабеті характеризується не тільки підвищеним рівнем глюкози в крові внаслідок недостатнього вироблення інсуліну, але й шляхом збільшення кількості альфа-клітин, їхньої активної проліферації та можливого трансдиференціювання з бета-клітин. Зниження показника кількості c-kit позитивних альфа-клітин у щурів лінії SHR може свідчити про те, що ці зміни не стільки пов'язані з порушенням модуляції транскрипційного фактора, скільки з участю саме нейрогенних механізмів. Зниження c-kit позитивних альфа-клітин у тварин із гіпоксичною гіпоксією можна пояснити спрямованими на пригнічення проліферативних процесів в альфа-ендокриноцитах трансдиференційними (ремоделювальними) змінами.

Ключові слова: щури лінії SHR, щури лінії Wistar, підшлункова залоза, панкреатичний острівцевець, ендокриноцит, імунофлуоресценція, глюкагон, c-kit.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2023. Т. 16, № 1(41). С. 47–52

Analysis of the activity of c-kit immunopositive alpha-cells of the pancreas in exogenous infusions and endogenously formed pathology

T. V. Ivanenko

There are a number of factors and agents that change the population of endocrinocytes and their secretory activity depending on various conditions and experimentally formed pathologies. These include the impact of intermittent hypoxic hypoxia; experimentally formed pathology (diabetes); genetically formed pathology (arterial hypertension), direct effect on endocrinocytes of the pancreas with their own pathophysiological mechanism. In this context, it is interesting to analyze the state of the progenitor potential of alpha cells depending on the living conditions of the organism, its effects, and developing pathological conditions in it.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/273223>

UDC 616.379-018.1-092

DOI: [10.14739/2409-2932.2023.1.273223](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273223)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2023; 16 (1), 47–52

Key words: SHR rats, Wistar rat, pancreas, pancreatic islet, endocrinocyte, immunofluorescence, glucagon, c-kit.

*E-mail: ivanenko.tv@zsmu.zp.ua

Received: 10.01.2023 // Revised: 31.01.2023 // Accepted: 15.02.2023

The aim of the work is to determine the activity of the proliferative factor c-kit in alpha cells under exogenous factors – intermittent hypoxic hypoxia and endogenously formed pathology – arterial hypertension and diabetes.

Materials and methods. The study was conducted on the pancreas of SHR and Wistar rats. Glucagon and c-kit in pancreatic islets were determined by the immunofluorescence method. The immunofluorescence reaction was studied with an Axiolmager-M2 fluorescence microscope.

Results. Analysis of the c-kit positive alpha-cell index in rats with diabetes showed a 5-fold increase. This was explained by the fact, that the development of hyperglycemia in diabetes mellitus was characterized not only by an increased level of glucose in the blood due to insufficient insulin production but also due to an increase in the number of alpha cells, their active proliferation and possible transdifferentiation from beta cells. The number of c-kit positive alpha cells in SHR rats decreased. This may indicate that these changes were not so related to a violation of the modulation of the transcription factor, but to the participation of neurogenic mechanisms. The decrease in c-kit positive alpha cells in animals with hypoxic hypoxia can be explained by transdifferentiation (remodeling) changes, aimed at suppressing proliferative processes in alpha endocrinocytes.

Conclusions. The increase in the number of c-kit positive alpha cells in rats with diabetes is explained by the fact, that the development of hyperglycemia in diabetes is characterized not only by an increased level of glucose in the blood due to insufficient insulin production but also by an increase in the number of alpha cells, their active proliferation and possible transdifferentiation from beta cells. A decrease in the number of c-kit positive alpha cells in SHR rats may indicate that these changes are not so much related to a violation of the modulation of the transcription factor, but to the participation of neurogenic mechanisms. The decrease in c-kit positive alpha cells in animals with hypoxic hypoxia can be explained by transdifferentiation (remodeling) changes, aimed at suppressing proliferative processes in alpha endocrinocytes.

Key words: SHR rats, Wistar rat, pancreas, pancreatic islet, endocrinocyte, immunofluorescence, glucagon, c-kit.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2023; 16 (1), 47–52

Нині визначено низку факторів, що змінюють популяцію ендокриноцитів і їхню секреторну активність залежно від різних умов та експериментально сформованих патологій. Так, гіпоталамічні особливості та механізми центральної регуляції, вплив переривчастої гіпоксичної гіпоксії, експериментально сформована патологія (цукровий діабет 1 та 2 типів, гестаційний діабет, пренатальний стрес, ожиріння, метаболічний синдром), генетично сформована патологія (артеріальна гіпертензія) мають прямий вплив на ендокриноцити підшлункової залози зі своїм патофізіологічним механізмом.

Абсолютно невивченою залишається активність генів-регуляторів [1], що беруть участь у визначенні та регуляції кількості типів ендокриноцитів підшлункової залози, а також зв'язки метаболічної регуляції, дисфункції енергетичного метаболізму при різних екзогенних факторах та ендогенно сформованій патології.

Відомо, що механізм диференціювання ендокриноцитів у дорослому віці схожий до такого у періоді ембріогенезу, продовжує регулювати їхню кількість за такими самими принципами, коли з протокових клітин за участю проліферативного фактора c-kit [2] утворюються нові форми ендокриноцитів, що підтверджено в попередніх дослідженнях [3].

У сучасній науковій літературі є відомості, що свідчать: подібно до активних форм альфа-, бета- і дельта-ендокриноцитів відбувається закладення і так званих прогеніторних мультигормональних ендокриноцитів [4], які в процесі життєдіяльності організму та впливу на нього патогенних факторів можуть трансформуватися в альфа-, бета-клітини або формувати альфа-бета-клітину з одночасною секрецією глюкагону й інсуліну.

Тому гіпотетично можна вважати: екзогенні чинники, як-от гіпоксична гіпоксія та ендогенно сформована патологія (артеріальна гіпертензія, цукровий діабет), впливають на рівень експресії генів проліферації клі-

тин-попередників, що надалі визначає щільність популяції тих чи інших ендокриноцитів у підшлунковій залозі, які й викликають науковий інтерес.

Альфа-клітини панкреатичних ostrivciv становлять другу за кількістю після бета-клітин популяцію ендокриноцитів підшлункової залози [5,6]. Умовне протистояння двох гормонів – глюкагону та інсуліну, що синтезуються ендокринним компонентом підшлункової залози, формує нормальний рівень глікемії в організмі. Саме синтез глюкагону альфа-клітинами є, з одного боку, вагомим регулятором гомеостазу глюкози, а з іншого, – проблемним фактором підвищення глікемії до патологічних показників при низці захворювань (цукровий діабет, гіпертонічна хвороба, метаболічний синдром тощо). Так, невід'ємною частиною лікування цукрового діабету є глюкагон-супресивна терапія [7,8]. У цьому контексті цікавим є аналіз стану прогеніторного потенціалу альфа-клітин залежно від умов життєдіяльності організму, впливів на нього та патологічних станів, що виникають.

Мета роботи

Визначення активності проліферативного фактора c-kit в альфа-клітинах при екзогенних факторах: переривчастій гіпоксичній гіпоксії, а також ендогенно сформованій патології – артеріальній гіпертензії та цукровому діабеті.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 15 білих щурах лінії Вістар і 5 щурах лінії SHR, яких поділили на 4 групи по 5 тварин у кожній. Тварини 1 групи склали контрольну (інтактну) групу. Щурам 2 групи одноразово внутрішньоочеревинно вводили стрептозоцин (Sigma-Chemical, США) у дозі 50 мг/кг, розчинений в 0,5 мл 0,2 М цитратного буфера рН = 4,5. Тварини 3 групи – щури лінії SHR зі спадковою артеріальною гіпертензією. Щурам 4 групи протягом 15

днів проводили 6-годинні гіпоксичні тренування: на 1–5 день в умовах барокамери імітували підйом на висоту 1–5 км над рівнем моря, а останні 10 днів – 6 км над рівнем моря.

Для чистоти досліду та лабораторного підтвердження виникнення цукрового діабету в щурів 2 групи через 2 тижні після введення стрептозотоцину визначали концентрацію глюкози в крові за допомогою глюкометра GlucoCard-II (Японія). Систолічний артеріальний тиск вимірювали за допомогою системи неінвазивної реєстрації Blood Pressure Analysis Systems TM BP2000 Series II (Visitech Systems, USA). Після декапітації експериментальних тварин під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) виконували забір підшлункової залози, яку фіксували в розчині Буена (20 годин), після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт (McCormick, США). Серійні гістологічні зрізи підшлункової залози завтовшки 5 мкм депарафінували та демаскували у цитратному буферному розчині (pH = 9,0) у РТ-модулі (Thermo Scientific, США). Глюкагон і маркер прогеніторних клітин c-kit в альфа-клітинах виявляли імунофлуоресцентним методом за допомогою антитіл виробництва Santa Cruz Biotechnology (США). Суміш антитіл, кон'югованих із флуорохромами FITC (глюкагон) або AlexaFluor-546 (c-kit) інкубували у розведенні 1:200 (волога камера, T = +4 °C, 24 години). Відмиті у фосфатному буфері зрізи фіксували в суміші фосфатного буфера та гліцерину (9/1). Контроль специфічності зв'язування антитіл здійснили аналогічно, крім інкубації з первинними антитілами.

Імунофлуоресцентну реакцію вивчали на флуоресцентному мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Німеччина), що обладнаний камерою AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Німеччина), застосували високоемісійні світлофільтри 38NE та 43NE (Carl Zeiss, Німеччина). Кількісний аналіз імунофлуоресцентної реакції здійснили за допомогою системи цифрового аналізу зображення AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Німеччина) за методикою, що описана раніше [9].

Концентрацію глюкагону та c-kit в альфа-клітинах панкреатичних острівців вимірювали у відносних одиницях імунофлуоресценції (Оіф), а за параметрами площі імунофлуоресценції визначали відсоток c-kit імунопозитивних альфа-клітин. Досліджували не менше ніж 5 см² сумарної площі зрізів підшлункової залози у кожної тварини.

Результати

Визначення концентрації глюкози в крові експериментальних тварин показало суттєве її підвищення в щурів 2 групи з експериментальним цукровим діабетом, а також зниження до еуглікемічного рівня у тварин 4 групи з гіпоксичними тренуваннями (табл. 1). У 1 і 3 групах зберігалася нормоглікемія. Контрольне вимірювання артеріального тиску підтвердило спадкову артеріальну гіпертензію в щурів лінії SHR. В інших групах патологічні зміни систолічного тиску не виявлені (табл. 1).

Імунофлуоресцентне забарвлення тканини підшлункової залози сприяло виявленню глюкагону, який є мар-

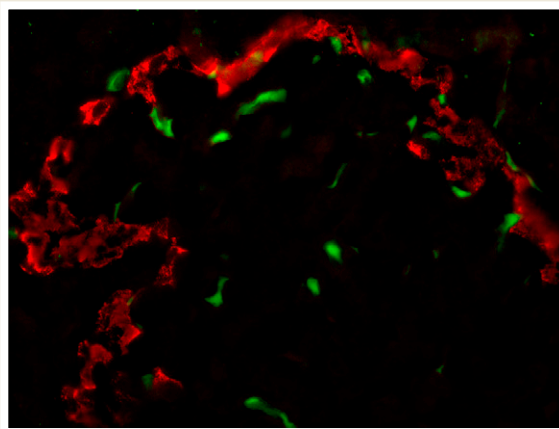


Рис. 1. Панкреатичний острівець підшлункової залози щура, імунофлуоресцентне дослідження: червоний спектр флуоресценції показує класичний периферичний розподіл альфа-клітин в острівці; зелений спектр флуоресценції пов'язаний з експресією c-kit позитивних клітин. Збільшення $\times 400$.

Таблиця 1. Показники рівня глюкози та систолічного артеріального тиску у тварин експериментальних груп

Експериментальні групи	Концентрація глюкози, ммоль/л	сАТ, мм рт. ст.
1 група – інтактні	3,94 ± 0,09	105,0 ± 1,1
2 група – експериментальний цукровий діабет	17,69 ± 1,10	108,0 ± 1,5
3 група – спадкова артеріальна гіпертензія	4,73 ± 0,10	155,7 ± 0,9
4 група – гіпоксична гіпоксія	2,90 ± 0,10	123,4 ± 2,1

кером альфа-клітин, а також проліферативного фактора c-kit (рис. 1).

Порівняння показників контрольної (інтактної) групи тварин із даними щурів, у яких виник експериментальний стрептозотоциновий цукровий діабет, показало: концентрація глюкагону та c-kit в альфа-клітинах значущо не відрізняється. Втім, привертає увагу третій важливий показник – відсоток c-kit позитивних альфа-клітин у дослідній групі. Його аналіз показав, що в щурів, хворих на цукровий діабет, кількість c-kit позитивних альфа-клітин збільшилась у 7 разів (табл. 2).

Наступний етап досліджень – порівняння наведених параметрів в інтактній групі тварин зі щурами лінії SHR. Дослідження показало, що концентрація глюкагону та c-kit в альфа-клітинах дещо вища за контрольні показники. Вочевидь, у таких випадках у гіпертензивних щурів слабо виражений або редукований паракринний ефект інсуліну, що має пригнічувати секрецію глюкагону в панкреатичних острівцях [7].

Науковий інтерес викликав також показник відсотка c-kit позитивних альфа-клітин у щурів лінії SHR. Його аналіз показав, що в щурів лінії SHR кількість c-kit позитивних альфа-клітин істотно знижувалася (табл. 2).

Таблиця 2. Характеристика концентрації глюкагону та c-kit в альфа-клітинах (M ± m)

Експериментальні групи	Глюкагон, Оіф	c-kit, Оіф	Кількість c-kit-імунопозитивних альфа-клітин, %
1 група – інтактні	1,110 ± 0,003	1,080 ± 0,003	3,773 ± 1,006
2 група – експериментальний цукровий діабет	1,095 ± 0,01 ^{1,3}	1,072 ± 0,008 ³	12,703 ± 3,579 ^{1,3,4}
3 група – спадкова артеріальна гіпертензія	1,235 ± 0,004 ^{1,2,4}	1,127 ± 0,013 ^{1,2,4}	0,216 ± 0,092 ^{1,2,4}
4 група – гіпоксична гіпоксія	1,084 ± 0,003 ^{1,3}	1,077 ± 0,002 ³	2,875 ± 0,373 ^{2,3}

Достовірність відмінностей $p < 0,05$ – 1: щодо контролю; 2: щодо групи експериментального цукрового діабету; 3: групи артеріальної гіпертензії; 4: групи гіпоксичної гіпоксії.

Дослідження вже відомих параметрів у групі щурів з гіпоксичною гіпоксією показало: сеанси гіпоксичних впливів не спричиняють істотні зміни концентрації глюкагону та c-kit в альфа-клітинах. Втім, як і при ендогенно сформованих патологіях, суттєві зміни виявили щодо відсотка c-kit позитивних альфа-клітин у дослідній групі, зокрема зниження цього показника щодо інтактної групи тварин (табл. 2).

Обговорення

Виявлене збільшення кількості c-kit позитивних альфа-клітин у щурів, хворих на цукровий діабет, можна пояснити тим, що виникнення гіперглікемії при діабеті характеризується не тільки підвищеним рівнем глюкози в крові внаслідок недостатнього вироблення інсуліну через втрату або дисфункцію бета-клітин острівців підшлункової залози, і доведено у попередніх дослідженнях [10], але і шляхом збільшення кількості альфа-клітин, їхньої активної проліферації та можливого трансдиференціювання з бета-клітин (на це вказує виявлене збільшення c-kit позитивних альфа-клітин). Такі зміни можуть свідчити про «бігормональну теорію» [11], що передбачає співіснування відносної або абсолютної гіпоінсулінемії з відотною гіперглюкагономією в пацієнтів із цукровим діабетом, а також активні компенсаторні (ремоделювальні) впливи організму. Аналіз відомостей фахової літератури показав, що альфа-клітини донорів із діабетом можуть вивільняти і глюкагоноподібний пептид-1, і глюкагон для посилення секреції інсуліну [12].

Крім того, дослідження *in vivo* показали: активація передачі сигналів інсуліну в альфа-клітинах може бути важливим, незалежним від глюкози регулятором секреції глюкагону [13,14]. Справді, в мембрані альфа-клітин визначають високу щільність інсулінових рецепторів [15], а делеція генів, що кодують рецептор інсуліну, може спричинити гіперглікемію та гіперглюкагономію [16].

У цьому контексті можна розглянути й аутоімунне руйнування бета-клітин, зменшення їхньої маси чи порушення секреції можуть бути пов'язані зі збільшенням маси α -клітин та гіперглюкагономією при цукровому діабеті [17].

Дослідження щурів лінії SHR показало підвищення концентрації глюкагону та c-kit в альфа-клітинах щодо контрольних показників. Це підтверджено дослідженнями інших авторів щодо глюкагону [18].

На нашу думку, таке зниження кількості c-kit позитивних альфа-клітин у щурів лінії SHR може свідчити про те, що ці зміни не стільки пов'язані з порушенням модуляції транскрипційного фактора NeuroD1/B2, який реалізує стратегію диференціювання ембріональних ендокриноцитів в окремі лінії α - та β -клітин [19] чи активнішу експресію гена глюкагону в ембріональних ендокриноцитах під впливом транскрипційних факторів Brn-4 [20] та Arx [7], що призводить до переважання α -клітинного фенотипу в острівцях, скільки є поясненням активної роботи механізмів симпатичної та парасимпатичної іннервації панкреатичних острівців, що відіграє важливу роль в індукції секреції глюкагону. Вищий рівень активності симпатичного відділу автономної нервової системи у гіпертензивних щурів лінії SHR може мати стимулювальний ефект на секрецію глюкагону α -клітинами панкреатичних острівців [18], і це пояснює виявлені зміни щодо підвищення концентрації глюкагону та c-kit в альфа-клітинах. Втім, ці нейрогенні механізми можуть вказувати і на причину зниження відсотка c-kit позитивних альфа-клітин як механізму, що не домінує.

У щурів з гіпоксичною гіпоксією відсоток c-kit позитивних альфа-клітин знижувався щодо інтактної групи тварин. Як показали наші попередні дослідження, в лабораторних щурів під впливом гіпоксичних тренувань відбувається активна стимуляція синтезу та секреції інсуліну, площа бета-клітин при цьому достовірно зростає [21]. У цьому зв'язку доречно згадати про прогеніторні мультигормональні ендокриноцити, про які йшлося на початку цієї статті. Саме вплив гіпоксичних тренувань міг спровокувати трансдиференційні (ремоделювальні) зміни, спрямовані на пригнічення проліферативних процесів в альфа-ендокриноцитах. Поліпшити розуміння цих процесів допоможуть аналогічні дослідження з бета-клітинами підшлункової залози.

Висновки

1. Збільшення показника c-kit позитивних альфа-клітин у щурів, хворих на цукровий діабет, пояснюється тим, що виникнення гіперглікемії при цукровому діабеті характеризується не тільки підвищеним рівнем глюкози в крові внаслідок недостатнього вироблення інсуліну, але й шляхом збільшення кількості альфа-клітин, їхньої активної проліферації та можливого трансдиференціювання з бета-клітин.

2. Зниження показника кількості с-кіт позитивних альфа-клітин у щурів лінії SHR може свідчити про те, що ці зміни не стільки пов'язані з порушенням модуляції транскрипційного фактора, скільки з участю саме нейронних механізмів.

3. Зниження с-кіт позитивних альфа-клітин у тварин із гіпоксичною гіпоксією можна пояснити трансдиференційними (ремоделювальними) змінами, що спрямовані на пригнічення проліферативних процесів в альфа-ендокриноцитах.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Відомості про автора:

Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6617-5178](https://orcid.org/0000-0001-6617-5178)

Information about author:

Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Human pancreas development / R. E. Jennings, A. A. Berry, J. P. Strutt et al. *Development*. 2015. Vol. 142, Iss. 18. P. 3126-3137. <https://doi.org/10.1242/dev.120063>
- [2] Cellular and molecular mechanisms coordinating pancreas development / A. Bastidas-Ponce, K. Scheibner, H. Lickert, M. Bakhti. *Development*. 2017. Vol. 144, Iss. 16. P. 2873-2888. <https://doi.org/10.1242/dev.140756>
- [3] Development of the human pancreas from foregut to endocrine commitment / R. E. Jennings, A. A. Berry, R. Kirkwood-Wilson et al. *Diabetes*. 2013. Vol. 62, Iss. 10. P. 3514-3522. <https://doi.org/10.2337/db12-1479>
- [4] Deriving functional human enteroendocrine cells from pluripotent stem cells / K. L. Sinagoga, H. A. McCauley, J. O. Múnera et al. *Development*. 2018. Vol. 145, Iss. 19. P. dev165795. <https://doi.org/10.1242/dev.165795>
- [5] Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy / M. Brissova, M. J. Fowler, W. E. Nicholson et al. *The journal of histochemistry and cytochemistry*. 2005. Vol. 53, Iss. 9. P. 1087-1097. <https://doi.org/10.1369/jhc.5C6684.2005>
- [6] Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes / I. Quesada, E. Tudurí, C. Ripoll, A. Nadal. *The Journal of endocrinology*. 2008. Vol. 199, Iss. 1. P. 5-19. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0290>
- [7] Unger R. H., Cherrington A. D. Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover. *The Journal of clinical investigation*. 2012. Vol. 122, Iss. 1. P. 4-12. <https://doi.org/10.1172/JCI60016>
- [8] The alpha-cell as target for type 2 diabetes therapy / M. Christensen, J. I. Bagger, T. Vilsvoll, F. K. Knop. *The review of diabetic studies : RDS*. 2011. Vol. 8, Iss. 3. P. 369-381. <https://doi.org/10.1900/RDS.2011.8.369>
- [9] Ivanenko T. V., Abramov A. V. Optimization of endocrine pancreas fluorescence analysis using machine methods. *Патологія*. 2022. Т. 19, № 1. С. 24-31. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.254173>
- [10] Порівняльна характеристика популяції ендокриноцитів підшлункової залози у щурів лінії Wistar і SHR зі стрептозотоцин-індукованою діабетом / Ю. М. Колесник, Т. В. Абрамова, Т. В. Іваненко, А. В. Абрамов. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Укр. наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., (Полтава, 11-12 жовт. 2018 р.). Полтава, 2018. С. 44-45.
- [11] Unger R. H., Orci L. The essential role of glucagon in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Lancet*. 1975. Vol. 1, Iss. 7897. P. 14-16. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(75\)92375-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(75)92375-2)

- [12] Paracrine control of α -cell glucagon exocytosis is compromised in human type-2 diabetes / M. Omar-Hmeadi, P. E. Lund, N. R. Gandasi et al. *Nature communications*. 2020. Vol. 11, Iss. 1. P. 1896. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15717-8>
- [13] Insulin signaling in alpha cells modulates glucagon secretion in vivo / D. Kawamori, A. J. Kurpad, J. Hu et al. *Cell metabolism*. 2009. Vol. 9, Iss. 4. P. 350-361. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.02.007>
- [14] Growth factor signalling in the regulation of α -cell fate / D. Kawamori, M. Akiyama, J. Hu et al. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2011. Vol. 13, Suppl. 1. P. 21-30. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01442.x>
- [15] Elliott A. D., Ustione A., Piston D. W. Somatostatin and insulin mediate glucose-inhibited glucagon secretion in the pancreatic α -cell by lowering cAMP. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2015. Vol. 308, Iss. 2. P. E130-E143. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00344.2014>
- [16] Patel Y. C., Amherdt M., Orci L. Quantitative electron microscopic autoradiography of insulin, glucagon, and somatostatin binding sites on islets. *Science*. 1982. Vol. 217, Iss. 4565. P. 1155-1156. <https://doi.org/10.1126/science.6126003>
- [17] Paracrine GABA and insulin regulate pancreatic alpha cell proliferation in a mouse model of type 1 diabetes / A. L. Feng, Y. Y. Xiang, L. Gui et al. *Diabetologia*. 2017. Vol. 60, Iss. 6. P. 1033-1042. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4239-x>
- [18] Абрамова Т. В., Колесник Ю. М. Особенности организации популяции альфа-клеток в поджелудочной железе у крыс со спонтанной гипертензией (SHR). *Патологія*. 2017. Т. 14, № 2. С. 124-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.2.109249>
- [19] Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice / F. J. Naya, H. P. Huang, Y. Qiu et al. *Genes & development*. 1997. Vol. 11, Iss. 18. P. 2323-2334. <https://doi.org/10.1101/gad.11.18.2323>
- [20] Hussain M. A., Miller C. P., Habener J. F. Brn-4 transcription factor expression targeted to the early developing mouse pancreas induces ectopic glucagon gene expression in insulin-producing beta cells. *The Journal of biological chemistry*. 2002. Vol. 277, Iss. 18. P. 16028-16032. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107124200>
- [21] Іваненко Т. В. Влияние гипоксических тренировок на функцию бета-клеток панкреатических островков [The effect of hypoxic training on pancreatic islet beta cell function]. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2011. Т. 11, Вып. 4. С. 82-84.

References

- [1] Jennings, R. E., Berry, A. A., Strutt, J. P., Gerrard, D. T., & Hanley, N. A. (2015). Human pancreas development. *Development*, 142(18), 3126-3137. <https://doi.org/10.1242/dev.120063>
- [2] Bastidas-Ponce, A., Scheibner, K., Lickert, H., & Bakhti, M. (2017). Cellular and molecular mechanisms coordinating pancreas development. *Development (Cambridge, England)*, 144(16), 2873-2888. <https://doi.org/10.1242/dev.140756>
- [3] Jennings, R. E., Berry, A. A., Kirkwood-Wilson, R., Roberts, N. A., Hearn, T., Salisbury, R. J., Blaylock, J., Piper Hanley, K., & Hanley, N. A. (2013). Development of the human pancreas from foregut to endocrine commitment. *Diabetes*, 62(10), 3514-3522. <https://doi.org/10.2337/db12-1479>
- [4] Sinagoga, K. L., McCauley, H. A., Múnera, J. O., Reynolds, N. A., Enriquez, J. R., Watson, C., Yang, H. C., Helmrich, M. A., & Wells, J. M. (2018). Deriving functional human enteroendocrine cells from pluripotent stem cells. *Development*, 145(19), dev165795. <https://doi.org/10.1242/dev.165795>
- [5] Brissova, M., Fowler, M. J., Nicholson, W. E., Chu, A., Hirshberg, B., Harlan, D. M., & Powers, A. C. (2005). Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 53(9), 1087-1097. <https://doi.org/10.1369/jhc.5C6684.2005>
- [6] Quesada, I., Tudurí, E., Ripoll, C., & Nadal, A. (2008). Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *The Journal of endocrinology*, 199(1), 5-19. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0290>
- [7] Unger, R. H., & Cherrington, A. D. (2012). Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover. *The Journal of clinical investigation*, 122(1), 4-12. <https://doi.org/10.1172/JCI60016>

- [8] Christensen, M., Bagger, J. I., Vilsbøll, T., & Knop, F. K. (2011). The alpha-cell as target for type 2 diabetes therapy. *The review of diabetic studies: RDS*, 8(3), 369-381. <https://doi.org/10.1900/RDS.2011.8.369>
- [9] Ivanenko, T. V., & Abramov, A. V. (2022). Optimization of endocrine pancreas fluorescence analysis using machine methods. *Pathologia*, 19(1), 24-31. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.254173>
- [10] Kolesnyk, Yu. M., Abramova, T. V., Ivanenko, T. V., & Abramov, A. B. (2018). Porivnialna kharakterystyka populatsii endokrynotsytiv pidshlunkovoi zalozy u shchuriv linii W1STAR i SHR zi streptozototsyn-indukovanyim diabetom [Comparative characteristics of the pancreatic endocrinocyte population in W1STAR and SHR rats with streptozotocin-induced diabetes]. *Intehratyvni mekhanizmy patolohichnykh protsesiv: vid eksperymentalnykh doslidzhen do klinichnoi praktyky*. Materials of the VII Plenum of the Ukrainian Scientific Society of Pathophysiologists] (pp. 44-45). [in Ukrainian].
- [11] Unger, R. H., & Orci, L. (1975). The essential role of glucagon in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Lancet*, 1(7897), 14-16. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(75\)92375-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(75)92375-2)
- [12] Omar-Hmeadi, M., Lund, P. E., Gandasi, N. R., Tengholm, A., & Barg, S. (2020). Paracrine control of α -cell glucagon exocytosis is compromised in human type-2 diabetes. *Nature communications*, 11(1), 1896. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15717-8>
- [13] Kawamori, D., Kurpad, A. J., Hu, J., Liew, C. W., Shih, J. L., Ford, E. L., Herrera, P. L., Polonsky, K. S., McGuinness, O. P., & Kulkarni, R. N. (2009). Insulin signaling in alpha cells modulates glucagon secretion in vivo. *Cell metabolism*, 9(4), 350-361. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.02.007>
- [14] Kawamori, D., Akiyama, M., Hu, J., Hambro, B., & Kulkarni, R. N. (2011). Growth factor signalling in the regulation of α -cell fate. *Diabetes, obesity & metabolism*, 13 Suppl 1, 21-30. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01442.x>
- [15] Elliott, A. D., Ustione, A., & Piston, D. W. (2015). Somatostatin and insulin mediate glucose-inhibited glucagon secretion in the pancreatic α -cell by lowering cAMP. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 308(2), E130-E143. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00344.2014>
- [16] Patel, Y. C., Amherdt, M., & Orci, L. (1982). Quantitative electron microscopic autoradiography of insulin, glucagon, and somatostatin binding sites on islets. *Science*, 217(4565), 1155-1156. <https://doi.org/10.1126/science.6126003>
- [17] Feng, A. L., Xiang, Y. Y., Gui, L., Kaltsidis, G., Feng, Q., & Lu, W. Y. (2017). Paracrine GABA and insulin regulate pancreatic alpha cell proliferation in a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia*, 60(6), 1033-1042. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4239-x>
- [18] Abramova, T. V., & Kolesnyk, Yu. M. (2017). Osobennosti organizatsii populyatsii al'fa-kletok v podzheludochnoi zheleze u krys so spontannoi gipertenzii (SHR) [Features of the alpha-cell population organization in pancreas of spontaneously hypertensive rats (SHR)]. *Pathologia*, 14(2), 124-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.2.109249>
- [19] Naya, F. J., Huang, H. P., Qiu, Y., Mutoh, H., DeMayo, F. J., Leiter, A. B., & Tsai, M. J. (1997). Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice. *Genes & development*, 11(18), 2323-2334. <https://doi.org/10.1101/gad.11.18.2323>
- [20] Hussain, M. A., Miller, C. P., & Habener, J. F. (2002). Brn-4 transcription factor expression targeted to the early developing mouse pancreas induces ectopic glucagon gene expression in insulin-producing beta cells. *The Journal of biological chemistry*, 277(18), 16028-16032. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107124200>
- [21] Ivanenko, T. V. (2011). Vliyaniye gipoksicheskikh trenirovok na funktsiyu beta-kletok pankreaticheskikh ostrovkov [Effect of hypoxic training on functioning of pancreatic islet beta-cells]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk ukrainskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii*, 11(4), 82-84. [in Russian].