

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Doubková

Cirkadiánní rytmy v buňkách pankreatu
Circadian rhythms in pancreatic cells

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. PharmDr. Alena Sumová, DSc.

Praha, 2025

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Při sepisování práce jsem použila umělou inteligenci či nástroje jí podporované a to konkrétně ChatGPT ke zlepšení přehlednosti a čitelnosti textu.

Poděkování:

Ráda bych tímto poděkovala své školitelce Prof. PharmDr. Aleně Sumové, DSc. za její pomoc a nekonečnou trpělivost, kterou se mnou měla po čas psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která ve mně nepřestala věřit.

Abstrakt

Cirkadiální rytmy regulují fyziologické procesy v těle v souladu s 24hodinovým cyklem dne a noci. Ve pankreatu hrají cirkadiální hodiny rozhodující roli při organizování sekrece hormonů a metabolické homeostáze. Tato práce zkoumá molekulární mechanismy, kterými cirkadiální transkripční a post-transkripční sítě regulují sekreci inzulínu a senzitivitu glukózy v pankreatických β -buňkách. Narušení těchto cirkadiálních mechanismů, ať už geneticky nebo vlivem prostředí, zhoršuje funkci β -buněk a přispívá k patogenezi diabetu mellitu 2. typu. Pochopení těchto molekulárních drah poskytuje nejen vhled do časové regulace funkce pankreatu, ale také zdůrazňuje potenciální cíle pro chronoterapii u metabolických onemocnění.

Klíčová slova: cirkadiální hodiny, hodinové geny, pankreas, Langerhansovy ostrůvky

Abstract

Circadian rhythms regulate physiological processes in the body in accordance with a 24-hour day-night cycle. In pancreas, circadian clock plays a critical role in orchestrating hormone secretion and metabolic homeostasis. This work explores the molecular mechanisms by which circadian transcriptional and post-transcriptional networks regulate insulin secretion and glucose sensitivity in pancreatic β -cells. Disruption of these circadian mechanisms, whether genetically or environmentally induced, impairs β -cell function and contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes. Understanding these molecular pathways not only provides insight into the temporal regulation of pancreatic function, but also highlights potential targets for chronotherapy in metabolic diseases.

Key words: circadian clock, clock genes, pancreas, Langerhans islets

Seznam zkratek

ADP = Adenosindifosfát

ATP = Adenosintrifosfát

bHLH = Basic helix-loop-helix

BMAL1 = Basic helix-loop-helix ARNT-like protein 1

CBP = CREB-binding protein

CCGs = Hodinami řízené geny (Clock controlled genes)

ChIP-seq = Imunoprecipitační sekvenování chromatinu

CK1 δ/ϵ = Kasein-kináza 1 δ/ϵ

CLOCK = Circadian Locomotor Output Cycles Kaput

CRY = Kryptochrom

Dbp = D-box binding protein

D-box = DNA-binding box

E4BP4 = E4-binding protein 4

E-box = Enhancer box

Fbx1 = F-box and leucin repeat protein

GCK = Glukokináza

GLUT = Glukózový transportér

GHS-R = Growth hormone secretagogue receptor / ghrelinový receptor

GSIS = Glucose-stimulated insulin secretion

HDAC3 = Histone deacetylase 3

H3K4Me1 = Monomethylation of lysine 4 on histone H3 protein subunit

H3K27Ac = Acetylation of lysine 27 on histone H3 protein subunit

INS = Inzulinový gen

IR = Inzulinový receptor

KATP = draselné kanály citlivé na koncentraci ATP

Madd = MAP kinase-activating death domain

mRNA = messenger RNA

NCoR1 = nuclear receptor corepressor 1

Nf13 = Nuclear factor, interleukin 3 regulated

NPAS2 = Neuronal PAS domain protein 2

Nr1d1 = nuclear receptor subfamily 1 group D member 1

Nr1d2 = nuclear receptor subfamily 1 group D member 2

PAS = Per-ARNT-SIM doména

PDX1 = insulin promoter factor 1

PER = Period

PP = pankreatický polypeptid

p300 = E1A binding protein p300

Rev-erb = receptor reverse-erb

RNA = Ribonukleová kyselina

Ror = RAR-related orphan receptor

RORE = ROR response element

RT-PCR = Real-time PCR / Kvantitativní polymerázová řetězová reakce

SCN = Suprachiasmatické jádro

Snap25 = Synaptosomal-Associated Protein, 25kDa

SRC-1 = steroid receptor coactivator 1

SSTR = somatostatinový receptor

Stx1a / 4a = Syntaxin 1a / 4a

THRAP3 = Thyroid hormone receptor-associated protein 3

T2 DM = diabetes mellitus 2. typu

Vamp = Vesicle-associated membrane protein

WHO = světová zdravotnická organizace (World health organization)

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Cirkadiánní rytmy	2
2.1 Molekulární mechanismy cirkadiánních hodin	2
2.2 Centrální a periferní hodiny.....	5
3. Pankreas	6
3.1 Alfa buňky	6
3.2 Beta buňky	6
3.3 Delta buňky.....	8
3.4 Epsilon buňky	8
3.5 PP-buňky	9
3.6 Acinární buňky	9
3.7 Duktální buňky	10
4. Cirkadiánní regulace endokrinní sekrece v pankreatu	12
4.1 Sekrece inzulínu	13
4.1.1 Regulace transkripce	13
4.1.2 Alternativní sestřih (splicing).....	14
4.1.3 Pomocné cirkadiánní smyčky a epigenetická modulace.....	14
4.2 Citlivost na glukózu.....	15
4.2.1 Regulace exprese GLUT2 a GCK.....	15
4.2.2 Narušení rytmické exprese faktorů citlivosti na glukózu.....	16
4.3 Cirkadiánní regulace exokrinního pankreatu.....	16
5. Důsledky narušení cirkadiánního rytmu u pankreatických buněk	17
5.1 Diabetes 2. typu	17
6. Závěr	19
7. Seznam použité literatury.....	20

1. Úvod

Cirkadiánní rytmy – endogenní biologické hodiny, které synchronizují životní procesy organismu s přirozeným střídáním dne a noci. Vědomí, že každý orgán a každá buňka mají své vlastní časové nastavení, nám otevírá fascinující pohled na dynamiku životních procesů na molekulární úrovni (Zheng et al., 1999). Tato práce je zaměřena na jeden specifický aspekt tohoto složitého mechanismu – vliv cirkadiánních rytmů na funkce pankreatu, který je klíčovým orgánem v regulaci metabolismu.

Pankreas, nebo slinivka břišní, je mnohem víc než jen "továrna" na inzulin. Jeho endokrinní buňky, zvláště β -buňky v Langerhansových ostrůvcích, představují sofistikovaný systém, který pečlivě reguluje hladinu glukózy v krvi a udržuje metabolickou rovnováhu. Výzkumy v posledních dekádách ukazují, že tento systém funguje v těsné souhře s cirkadiánními rytmy, které ovlivňují expresi klíčových genů a metabolických drah (*Chan et al., 2022). Rytmy řízené hodinovými geny, nejen ovlivňují produkci a sekreci hormonů, ale také podmiňují schopnost buněk reagovat na změny v prostředí, například na přísun živin či hormonální signály (*Fagiani et al., 2022).

Stresující moderní životní styl, noční práce nebo nepravidelné stravovací návyky mohou tyto rytmy narušit a způsobit vážné zdravotní problémy. Epidemiologické studie například ukazují, že narušení cirkadiánního rytmu je spojeno se zvýšeným rizikem metabolických onemocnění, jako je diabetes mellitus 2. typu, obezita či metabolický syndrom (*Chan et al., 2022). Pochopení toho, jak jsou molekulární hodiny integrovány do funkcí pankreatu, tak představuje významný krok k prevenci a léčbě těchto poruch.

Nejprve budou popsány základní principy cirkadiánních regulací, od centrálních hodin v suprachiasmatickém jádře hypothalamu (SCN) po periferní oscilátory. Následně bude popsáno, jak tyto mechanismy ovlivňují pankreas na molekulární úrovni – od exprese genů a produkce hormonů až po důsledky jejich narušení. Lepší pochopení těchto procesů může přispět k vývoji nových terapeutických přístupů, včetně chronoterapie či cílených intervencí na cirkadiánní úrovni (*Fagiani et al., 2022).

2. Cirkadiánní rytmy

Cirkadiánní rytmy představují přirozené, endogenně řízené oscilace biologických procesů, které se opakují s periodou přibližně 24 hodin. Tyto rytmy jsou přítomné u většiny živých organismů, od mikroorganismů až po člověka, a umožňují synchronizaci s cyklickými změnami v prostředí, jako je střídání dne a noci. (Czeisler et al., 1999) Typickým rysem cirkadiánních rytmů je jejich schopnost oscilovat i při absenci vnějších podnětů, což dokazuje jejich endogenní charakter (Welsh et al., 2004).

Exogenní faktory, známé jako zeitgebery (vnější podněty synchronizující cirkadiánní rytmy), například světlo, teplota nebo načasování příjmu potravy, slouží k seřizování těchto rytmů, aby odpovídaly aktuálnímu prostředí. (Hart et al., 2021; Hoogerwerf et al., 2007) Světlo, jakožto nejsilnější zeitgeber, ovlivňuje činnost suprachiasmatického jádra (SCN) v hypotalamu. (Shigeyoshi et al., 1997) SCN je sídlem centrálních hodin savčího organismu (Sujino et al., 2003). Příkladem vlivu vnějšího faktoru je hodinový gen *Per2*, jehož oscilace může být ovlivněna faktory jako jsou forskolin, dexametazon nebo teplotní změny. (Pulimeno et al., 2013)

2.1 Molekulární mechanismy cirkadiánních hodin

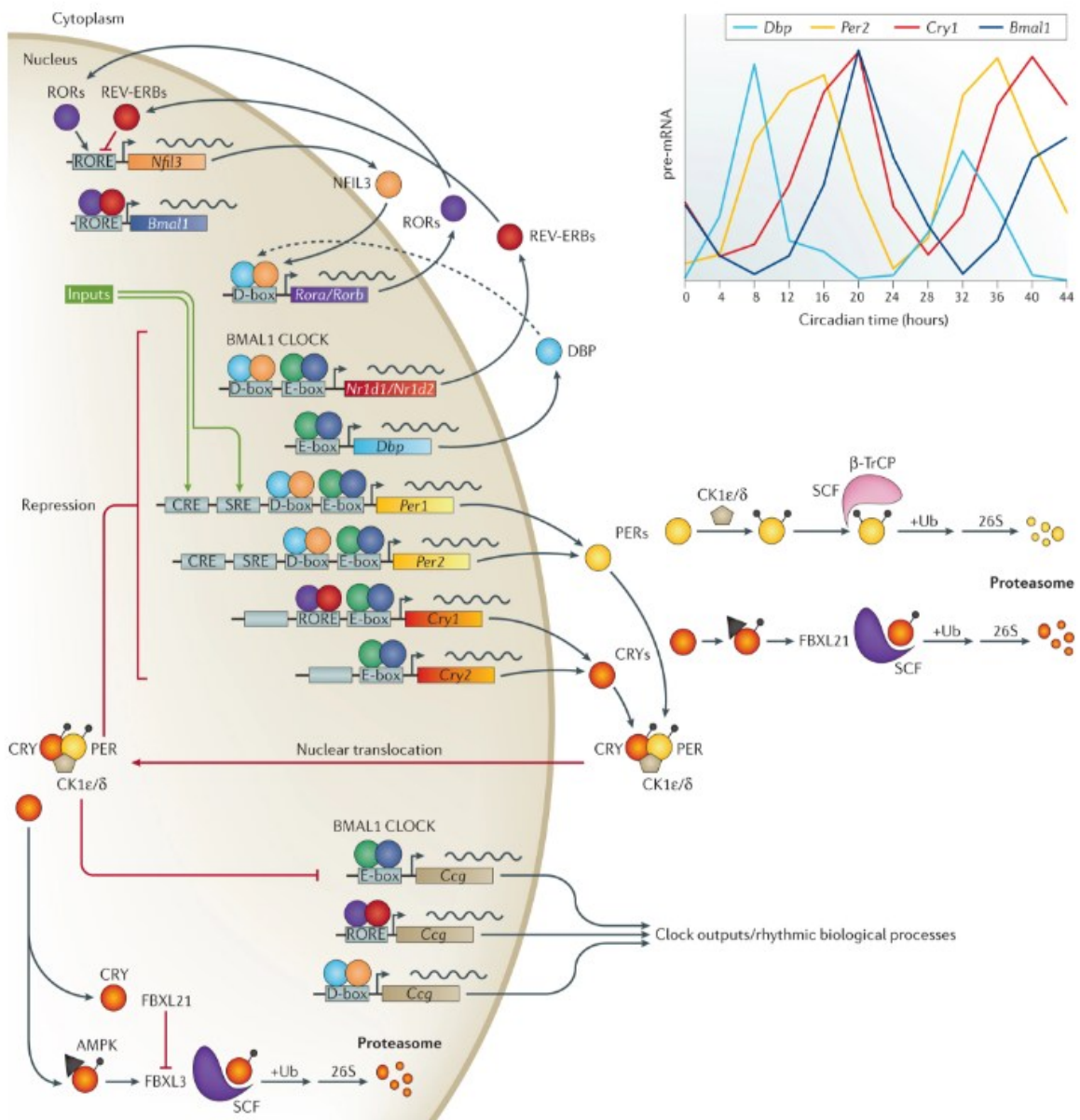
Na molekulární úrovni jsou cirkadiánní rytmy řízeny souborem genů a jejich proteinových produktů, které vytvářejí zpětnovazebné regulační smyčky (viz Obr.1) (Lee et al., 2011).

Hodinové geny *Bmal1* (Basic helix-loop-helix ARNT-like protein 1) a *Clock* (Circadian locomotor output cycles kaput) hrají nezaměnitelnou roli v cirkadiánní regulaci. Proteiny těchto hodinových genů patří do bHLH-PAS rodiny transkripčních faktorů. Na rozdíl od *Clock*, jehož paralogem je *NPAS2* (Neuronal PAS domain protein 2) (Landgraf et al., 2016), či jiných hodinových genů, *Bmal1* jako jediný nemá funkční paralog, tudíž jeho deplece vede k zastavení cirkadiánních hodin (Bunger et al., 2000). Nicméně některé studie diskutují důležitost *Bmal2* jako potenciálního paralogu *Bmal1* (Dantas-Ferreira et al., 2024; Shi et al., 2010). Protein CLOCK funguje také jako histonacetyláza, je tedy schopen acetylovat histony, tím pozměnit uspořádání chromatinu a usnadnit transkripci. (Doi et al., 2006) Narušení exprese těchto genů může vést k poruchám metabolismu jako je například obezita nebo diabetes. (Marcheva et al., 2010; Rudic et al., 2004; Turek et al., 2005)

Hodinové geny *Per* (Period) známe u savců ve třech variantách *Per1*, *Per2* a *Per3*. (Pendergast et al., 2012; Zheng et al., 2001) Všechny tyto varianty sdílí podobné struktury, kterými jsou

PAS a konzervované C-terminální domény. (Hennig et al., 2009) Hodinové geny *Cry* (Cryptochrome) z rodiny kryptochromů byly u savců popsány ve dvou variantách, a to *Cry1* a *Cry2*. (Börding et al., 2019). Tyto geny taktéž hrají důležitou roli v cirkadiánní regulaci a narušení jejich exprese může znamenat metabolická onemocnění (Bur et al., 2009; Cheon et al., 2013).

Mezi další geny důležité v cirkadiánní regulaci patří například *Nr1d1* a *Nr1d2* (nuclear receptor subfamily 1 group D member 1, 2), které kódují jaderné receptory Rev-erb α a Rev-erb β , dalšími geny jsou *Ror* (RAR-related orphan receptor), *Nfil3* (Nuclear factor, interleukin 3 regulated) a *Dbp* (D-box binding protein).



Obrázek 1: Schéma mechanismu zpětnovazebných smyček viz kapitola, převzato od Takahashi et al. 2017

První zpětnovazebnou smyčku tvoří transkripční faktory CLOCK, BMAL1, PER a CRY. Transkripční faktory CLOCK a BMAL1 se pojí pomocí PAS domény a vytváří tak heterodimerní komplex CLOCK:BMAL1. Komplex CLOCK:BMAL1 tvoří pozitivní regulátory této zpětnovazebné smyčky. Tento komplex se v jádře během dne váže na E-box úsek promotoru genů *Per* a *Cry*, kde zahajuje transkripci. (Gekakis et al., 1998; King et al., 1997) Transkripční faktory PER a CRY společně v cytosolu tvoří heterodimerní komplex PER:CRY. Tento komplex je následně fosforylován kasein-kinázou CK1 δ/ϵ a translokován do jádra, kde se během noci váže na CLOCK:BMAL1 komplex na E-box úseku promotoru, tím potlačuje vlastní transkripci a tvoří negativní regulátory této zpětnovazebné smyčky. (Lee et al., 2001, 2011)

Další regulační smyčka hraje roli v regulaci exprese hodinových genů jako je například *Bmal1*. Je to smyčka zahrnující jaderné receptory Rev-erb a Ror, které se na cílovém genu váží na RORE (ROR response element), regulační sekvenci v oblasti promotoru. V závislosti na tom, zda se váže Rev-erb či Ror dochází k aktivaci či inhibici transkripce hodinového genu. (Sato et al., 2004)

Vazbou Rev-erb α či Rev-erb β na RORE dochází k inhibici transkripce hodinového genu za pomoci korepresorů NCoR1 (nuclear receptor corepressor 1) a HDAC3 (histone deacetylase 3). (Preitner et al., 2002) Vazbou Ror α , Ror β či Ror γ dochází k aktivaci transkripce hodinového genu. (Sato et al., 2004) Na koaktivaci se podílí SRC-1 (steroid receptor coactivator 1) a p300/CBP. (Lee et al., 2010) Koaktivátory a korepresory ovlivňují transkripci acetylací či deacetylací histonů a tím ovládají rozvolnění chromatinu a jeho přístupnost RNA-polymeráze II. (Etchegaray et al., 2003) Transkripce genu *Rev-erb* je ovlivněna komplexem transkripčních faktorů CLOCK:BMAL1. (Triqueneaux et al., 2004)

Třetí regulační smyčka tvoří třetí vlnu cirkadiánní regulace. Důležitou roli zde zastává D-box (DNA-binding box) nacházející se na úseku promotoru regulovaného genu. O vazbu na D-box kompetují transkripční faktory, které buď aktivují nebo inhibují transkripci. (Mitsui et al., 2001)

Pozitivní regulace je zajištěna proteiny, mezi které patří například DBP. (Mitsui et al., 2001) Exprese *Dbp* je hodinově řízena pomocí CLOCK:BMAL1 komplexu, který se váže na E-box úsek jeho promotoru. (Ripperger and Schibler, 2006) Tyto pozitivní regulátory aktivují transkripci za pomoci koaktivátorů jako je například p300/CBP. (Lee et al., 2010) Negativní regulaci má na starosti transkripční faktor E4BP4 neboli NFIL3. NFIL3 kompetuje s DBP o

vazbu na D-box, po navázání funguje jako represor transkripce. Exprese *Nfil3* je také cirkadiálně regulována ale s opačnou fází. (Mitsui et al., 2001)

Hodinově řízené geny (CCGs) jsou geny jejichž exprese je ovlivňována cirkadiálními hodinami, samy se ale na cirkadiální regulaci nepodílí. CCGs představují výstup cirkadiálního systému, tyto geny jsou tkáňově specifické a podílejí se na fyziologických procesech jako je sekrece hormonů a metabolismus. (Panda et al., 2002) Exprese CCGs může být ovlivněna přímo navázáním komplexu CLOCK:BMAL1 na E-box úsek jejich promotoru či pomocí remodelace chromatinu acetylací histonů hodinovým proteinem CLOCK. Mezi další faktory ovlivňující expresi CCGs patří inhibice transkripce pomocí PER:CRY či Rev-erb nebo regulace pomocí třetí zpětnovazebné smyčky (viz kapitola 2.1). (*Takahashi, 2017)

Posttranslační modifikace, jako je fosforylace nebo ubikvitinace, hrají klíčovou roli v regulaci stability a aktivity těchto proteinů. Příkladem je gen *Fbxl21*, paralog genu *Fbxl3*, který je zodpovědný za degradaci CRY proteinů v jádře (Busino et al., 2007). Loss-of-function mutací *Fbxl3* došlo k prodloužení periody, zatímco mutace *Fbxl21* má za následek její zkrácení (Yoo et al., 2013). Protein FBXL21 má vyšší afinitu k CRY v jádře a zároveň nižší efektivitu polyubikvitinace a tím chrání CRY v jádře před FBXL3. V cytosolu ale pomalu degraduje CRY protein (Yoo et al., 2013). Tato studie poukazuje na to, že cirkadiální perioda je ovlivňována rovnováhou mezi soutěžícími ubikvitinligázami a jejich kompartmentací.

2.2 Centrální a periferní hodiny

Cirkadiální systém savců je hierarchicky organizován. SCN, lokalizované v předním hypotalamu, funguje jako hlavní oscilátor, který synchronizuje rytmy jednotlivých orgánů a tkání. (Sujino et al., 2003) Informace o světelných podmínkách jsou do SCN přenášeny prostřednictvím retinohypotalamické dráhy. (Moore and Lenn, 1972). Na základě těchto signálů SCN řídí periferní hodiny umístěné například v játrech, srdci, pankreatu a dalších tkáních (Son et al., 2008; Stokkan et al., 2001).

Periferní hodiny jsou schopné autonomních oscilací (Koronowski et al., 2019; Welsh et al., 2004), ale jejich synchronizace s denní dobou je zajištěna humorálními a neurálními signály z SCN. (Harmar et al., 2002; Kalsbeek et al., 1996). Příkladem významného synchronizačního mechanismu je načasování příjmu potravy, které upravuje cirkadiální rytmy v metabolicky aktivních orgánech, jako jsou játra a pankreas (Rudic et al., 2004)

3. Pankreas

Slinivka břišní neboli pankreas je důležitý orgán, který díky své exokrinní a endokrinní funkci hraje roli při trávení i metabolismu. Pankreas je uložen v dutině břišní a anatomicky je možné ho rozdělit na hlavu, krk, tělo a ocas. Funkčně můžeme pankreas rozdělit na část exokrinní a endokrinní. Exokrinní část má svoji roli při trávení. V této části najdeme duktální a acinární buňky, které jsou zodpovědné za produkci trávicích enzymů. Tyto enzymy, například amylázy, lipázy, nebo proteázy, jsou nezbytné pro rozklad a vstřebání živin při trávení. Kdežto endokrinní část má své místo při metabolismu. Buňky této části se shlukují do Langerhansových ostrůvků. Mezi tyto buňky patří alfa, beta, delta, epsilon a PP buňky. (Heller et al., 2005; *Pandiri, 2013)

Langerhansovy ostrůvky jsou shluky buněk s endokrinní funkcí oddělené od okolní tkáně vazivovým obalem. U myši můžeme pozorovat uspořádání buněk ve středu s beta buňkami. Alfa buňky spolu s ostatními typy buněk bychom u myšičího modelu našli spíše na periférii. Pro ostrůvky lidského pankreatu toto uspořádání ale neplatí. U člověka jsou beta buňky rozptýlené po ostrůvku mezi ostatními buňkami. (Brissova et al., 2005)

3.1 Alfa buňky

Alfa buňky jsou acidofilní buňky s endokrinní funkcí shlukující se v Langerhansových ostrůvcích. Zastoupení alfa buněk v Langerhansových ostrůvcích může být různé, v případě ostrůvků myši se jedná o cca 10–30 %, u člověka se nachází v zastoupení okolo 35 %, podle některých studií se mohou nacházet v zastoupení až 65 %. (Brissova et al., 2005)

Hlavní rolí alfa buněk je produkce hormonu glukagonu. (Sutherland and de Duve, 1948) Glukagon je peptidický hormon, podílející se na udržení stálé hladiny glukózy a obecné regulaci energetického metabolismu. V cílových buňkách navázáním na receptor glukagonu (GCGR) spřažený s trimerním G-proteinem aktivuje signální dráhu, která ovlivňuje enzymy různých metabolických drah, a tak ovlivňuje energetický metabolismus nebo hladinu glukózy. (Rodbell et al., 1971; Zhang et al., 2017) Má za následek například transkripci genů pro enzymy fosfoenolpyruvátcarboxykinázu. Tento enzym se podílí na glukoneogenezi. (Christ et al., 1988)

3.2 Beta buňky

Beta buňky jsou bazofilní buňky nacházející se v endokrinní části pankreatu. Tyto buňky s endokrinní funkcí najdeme nejen jako součást Langerhansových ostrůvků, nachází se i

samostatně nebo jako beta buněčné shluky podél větších cév pankreatu. Jejich zastoupení v Langerhansových ostrůvcích myši je okolo 80 %. U člověka se běžně uvádí zastoupení okolo 60-80 %, některé studie uvádí menší poměr okolo 50 %. (Brissova et al., 2005; Hara et al., 2006)

Primární funkcí beta buněk je produkce inzulínu, který se uvolňuje v reakci na zvýšení hladiny glukózy v krvi a který má vliv na její snížení. (Brissova et al., 2005)

Cílové buňky mají na svých membránách tyrozin-kinázové receptory (IR), na které se inzulín naváže. Navázáním inzulínu dojde k aktivaci kaskády reakcí, která má za následek vystavení glukózových transportérů GLUT4 a umožnění vstupu glukózy do buněk. Inzulín je po navázání na receptory ihned degradován. Za degradaci je zodpovědný enzym inzulínáza, v případě jater je to glutathion-inzulín-transhydrogenáza. (*Lee and Pilch, 1994)

3.2.1 Mechanismus produkce inzulínu

Inzulín je peptidický hormon, který se podílí na udržování glykémie.

Expresí genu *Ins* vzniká prekurzor inzulínu preproinzulín, z něho následně v drsném endoplazmatickém retikulu proinzulín. Proinzulín je tvořen dvěma inzulínovými řetězci, A a B, spojenými C-peptidem a disulfidickými můstky. V Golgiho aparátu dochází k úpravě proinzulínu. C-peptid je odštěpen od zbytku struktury, čímž vzniká inzulín, který je následně skladován v sekrečních granulích beta buněk. Sekrece inzulínu je závislá převážně na hladině glukózy v krvi. (Fu et al., 2013*; Nolan et al., 1971)

Glukóza se dostává do beta buněk pomocí glukózových přenašečů, nejčastěji se jedná o GLUT 2. V mitochondrii beta buňky následně dochází k metabolismu glukózy, tj. ke glykolýze, za vzniku ATP / ADP, což mění jeho poměr uvnitř buňky. Na cytoplazmatické membráně beta buněk jsou umístěny draselné kanály citlivé na koncentraci ATP (KATP). Tyto kanály jsou za normálního stavu otevřené, umožňují proudění kationtů draslíku ven z buňky a tím udržují negativní membránový potenciál. Zvýšení koncentrace ATP v buňce má tedy za následek uzavření KATP a tím pádem i depolarizaci membrány. (Cook and Hales, 1984; Thorens, 2015*) Depolarizace membrány zajistí otevření napěťově ovládaných vápníkových kanálů. Kationty vápníku tedy mohou volně proudit dovnitř buňky. Zvýšení intracelulární koncentrace vápenatých iontů spustí exocytózu sekrečních váček obsahujících inzulín. Tím se inzulín dostává do krevního oběhu. (Ammälä et al., 1993)

Při vysoké hladině glukózy v krvi mohou mít na produkci inzulínu vliv také například aminokyseliny, mastné kyseliny nebo hormony, které ji ještě posílí. Produkce inzulínu je regulována mimo jiné na základě zpětné vazby pro udržení homeostázy. Při nadbytku glukózy v krvi je sekrece inzulínu stimulována, při nedostatku glukózy v krvi je sekrece inzulínu naopak inhibována. Sekrece inzulínu může být jinak ovlivňována i na základě potřeb metabolismu nebo dostupnosti živin. Ovlivnit ji mohou například hormony jako je glukagon, somatostatin nebo amylin. (*Fu et al., 2013; Strowski et al., 2000; Suba et al., 2024)

3.3 Delta buňky

Delta buňky se spolu s alfa a beta buňkami vyskytují v endokrinní části pankreatu, konkrétně v Langerhansových ostrůvcích. Nachází se v podstatně menším zastoupení, v buňkách myši zastupují do 15 %, v buňkách člověka do 20 %. (Brissova et al., 2005)

Primární funkcí pankreatických delta buněk je produkce hormonu somatostatinu. Somatostatin je peptidický hormon inhibující sekreci řady hormonů trávicího traktu. Mezi takové hormony patří například inzulín nebo glukagon. Svým vlivem na sekreci těchto hormonů somatostatin zabraňuje výraznému kolísání hladiny glukózy v krvi a napomáhá její stabilizaci. (Strowski et al., 2000) Mimo inhibici sekrece těchto hormonů somatostatin ovlivňuje také sekreci trávicích šťáv nebo motilitu trávicího traktu. (Tomita, 2009) Somatostatin není hormon produkováný výhradně pankreatickými delta buňkami, k jeho produkci dochází také v hypothalamu. Tam plní funkci neurotransmiteru. (Bartonjo and Lundy, 2022)

V cílových buňkách se somatostatin váže na somatostatinový receptor (SSTR), který je spřažený s trimerním G-proteinem. Po navázání ovlivňuje buňku různými způsoby v závislosti na typu receptoru a účelu působení. (KOCH and SCHONBRUNN, 1984)

V dalším výzkumu pankreatických delta buněk leží potenciál vývoje technik pro léčbu metabolických a dalších onemocnění.

3.4 Epsilon buňky

Buňky epsilon tvoří výrazně méně zastoupenou a tím pádem i méně prozkoumanou část endokrinního pankreatu. Tyto buňky se společně s již zmíněnými alfa, beta a delta buňkami nachází v Langerhansových ostrůvcích. Menší početní zastoupení v ostrůvku, ale neznamená menší důležitost pro funkci metabolismu. (*Sakata et al., 2019)

Charakteristickou funkcí těchto buněk je produkce a sekrece hormonu ghrelin. Ghrelin je peptidický hormon, který má stejně jako například inzulín nebo glukagon nezaměnitelnou roli

v metabolismu. Ghrelin signalizuje prázdný žaludek a je zodpovědný za pocit hladu, mimo jiné také interaguje s pankreatickými hormony jako je inzulin nebo glukagon. (Dezaki et al., 2004; *Pradhan et al., 2013) Na cílových buňkách se ghrelin váže na ghrelinový receptor (GHS-R) spřažený s trimerním G-proteinem. Navázáním spouští signální kaskádu, kterou reguluje funkci cílové buňky. (*Gross et al., 2023) Hormon ghrelin hraje významnou roli v zajišťování a udržování metabolické homeostázy. Je sekretován v reakci na množství stravy a energie. To, spolu s interagováním s ostatními pankreatickými hormony, z něj dělá nepostradatelnou složku regulace metabolické rovnováhy. Proto narušení jeho produkce či funkce může vést k metabolickým poruchám, například k obezitě nebo diabetu II. typu. (*Pradhan et al., 2013)

3.5 PP-buňky

Podobně jako epsilon buňky, i PP buňky tvoří méně zastoupenou část endokrinního pankreatu a nachází se v Langerhansových ostrůvcích.

Funkcí těchto buněk je produkce pankreatického polypeptidu (PP). Pankreatický polypeptid je peptidický hormon, který se jako ostatní hormony endokrinního pankreatu podílí na regulaci metabolismu. Mezi jeho hlavní funkce patří regulace chuti k jídlu a regulace trávicí soustavy. Mezi další potenciální funkce tohoto hormonu patří regulace metabolismu glukózy nebo třeba lipidů. (Zhu et al., 2023) U zvířat byly provedeny studie, při kterých došlo k inhibici sekrece inzulinu a glukagonu pankreatickým polypeptidem. Tyto studie ukazují potenciál účinků PP na metabolismus glukózy. Mechanismy těchto účinků PP ještě nejsou známy a vyžadují další výzkum. (Aragón et al., 2015; Whiting et al., 2015) Sekrece tohoto hormonu je ovlivněna řadou faktorů. Mezi ty patří množství živin a nervová nebo hormonální stimulace. Hormony nepřímo stimulující sekreci PP jsou cholecystokinin, sekretin a gastrin. (Adrian et al., 1977; Schusdziarra et al., 1986) Na cílových buňkách se PP váže na receptor Y4 spřažený s trimerním G-proteinem. Další výzkumy mechanismů účinku PP by mohly objasnit funkce tohoto hormonu a potenciální terapeutické účinky. (Lin et al., 2009)

3.6 Acinární buňky

Acinární buňky jsou součástí exokrinního pankreatu a hrají důležitou roli při trávení. Hlavní funkcí acinárních buněk je syntéza a sekrece enzymů nápomocných při trávení. Tvarově acinární buňky připomínají pyramidy. Uvnitř buněk se mimo jiné nachází sekreční granule uchovávající trávicí enzymy. Acinární buňky se polarizovaně shlukují do útvarů okolo vzniklého lumenu. Takto vytvořené útvary se nazývají aciny. (Arias and Bendayan, 1993; *Messenger et al., 2014)

Jak bylo již zmíněno, primární funkcí těchto buněk je produkce trávicích enzymů. Enzymy jako jsou lipázy, nukleázy, amylázy a řada proteolytických enzymů jsou v těchto buňkách syntetizovány a ukládají se do sekrečních granulí. Tyto sekreční granule na základě vnější signalizace následně exocytózou uvolňují enzymy. Exocytóza je vyvolána pomocí na vápníku závislých signálních kaskád. (*Messenger et al., 2014) Signál k uvolnění enzymů je zpravidla nervový, konkrétním příkladem je nervus vagus, nebo hormonální, příkladem jsou cholecystokinin nebo acetylcholin. (Li and Owyang, 1993) Navíc k tomu může být sekrece regulována lokálně parakrinně, a to například již zmíněným somatostatinem. Všechny tyto stimulační procesy probíhají na základě potřeb organismu, závisí tedy na samotném trávicím systému. (Taparel et al., 1985)

Jak již vyplývá z výčtu funkcí těchto buněk, acinární buňky jsou nepostradatelnou součástí trávicího systému. Jejich dysregulace nebo poškození může mít vážné dopady na organismus a může přispět k řadě poruch pankreatu včetně pankreatitidy nebo rakoviny pankreatu. (*Leung and Ip, 2006; Wagner et al., 1998) Další výzkum těchto buněk a porozumění mechanismům jejich funkce by mohlo mít přínos pro léčbu pankreatických onemocnění.

3.7 Duktální buňky

Duktální buňky jsou méně známé, ale neméně důležité buňky pankreatu. Jsou to buňky epitelu, který pokrývá pankreatický vývod. Tyto buňky jsou polarizované, je tedy rozeznatelná bazolaterální a apikální strana. Apikální strana těchto buněk je pokryta mikrokly. Společně s acinárními buňkami jsou součástí exokrinního pankreatu. Mají podstatný vliv na trávení, ovlivňují transport iontů, aktivaci pankreatických enzymů a přispívají k udržení stálého pH. (Oda et al., 1996)

Primární se tyto buňky podílí na sekreci pankreatické šťávy, která slouží k transportu trávicích enzymů produkovaných acinárními buňkami do dvanáctníku. Dále také přispívají k udržení stálého pH. Toho jsou schopny docílit díky hydrogenuhličitanovým iontům. Duktální buňky jsou zodpovědné za transport hydrogenuhličitanových iontů. Tyto ionty následně alkalizují pankreatickou šťávu, která je díky tomu schopna neutralizovat kyselý chymus, který se do dvanáctníku dostává z žaludku. (Novak and Greger, 1988; Stuenkel et al., 1988) Podobně jako u acinárních buněk, i duktální buňky jsou regulovány řadou faktorů. Jejich funkce je regulována hormonálně, parakrinně nebo nervovými signály. Zásadní hormon ovlivňující uvolňování pankreatické šťávy je sekretin. (Wang and Novak, 2013) Sekretin je hormon uvolňovaný enteroendokrinními buňkami dvanáctníku jako odpověď na přítomnost kyselého chymu. Za

pomoci signální kaskády duktální buňky stimuluje k uvolnění hydrogenuhličitanových iontů. (Konturek et al., 1986)

Duktální buňky jsou nezbytné pro trávicí soustavu. Poruchy jejich funkcí mohou mít vážné následky. Takové poruchy přispívají řadě onemocnění, mezi takovými je například pankreatitida. Další potenciální výzkum těchto buněk a jejich fungování by mohl být přínosný pro zdokonalení způsobů léčby pankreatických onemocnění. (Quilichini et al., 2019)

4. Cirkadiánní regulace endokrinní sekrece v pankreatu

Bylo prokázáno, že vnitřní buněčné hodiny hrají klíčovou roli v koordinaci sekrece hormonů v endokrinní části pankreatu. Vnitřní hodiny řídí nejen načasování produkce jednotlivých hormonů, ale mají vliv také na synchronizaci různých typů endokrinních buněk. (Petrenko et al., 2017)

Rytmické profily krevních hladin inzulínu a glukagonu byly pozorovány na myším modelu (Petrenko et al., 2017). Důležité je, že se vrcholy těchto hormonů v čase nepřekrývají, přičemž vrchol sekrece glukagonu zaostává za sekrecí inzulínu. U myší nalačno byl časový rozdíl mezi vrcholy sekrece glukagonu a inzulínu zachován, což naznačuje, že cirkadiánní regulace sekrece hormonů přetrvává i bez rytmických signálů ke krmení. Dále izolované populace alfa a beta buněk synchronizované *in vitro* vylučovaly hormony inzulín a glukagon s cirkadiánní pravidelností. Zaostávání vrcholu sekrece glukagonu za sekrecí inzulínu zůstalo zachováno. (Petrenko et al., 2017)

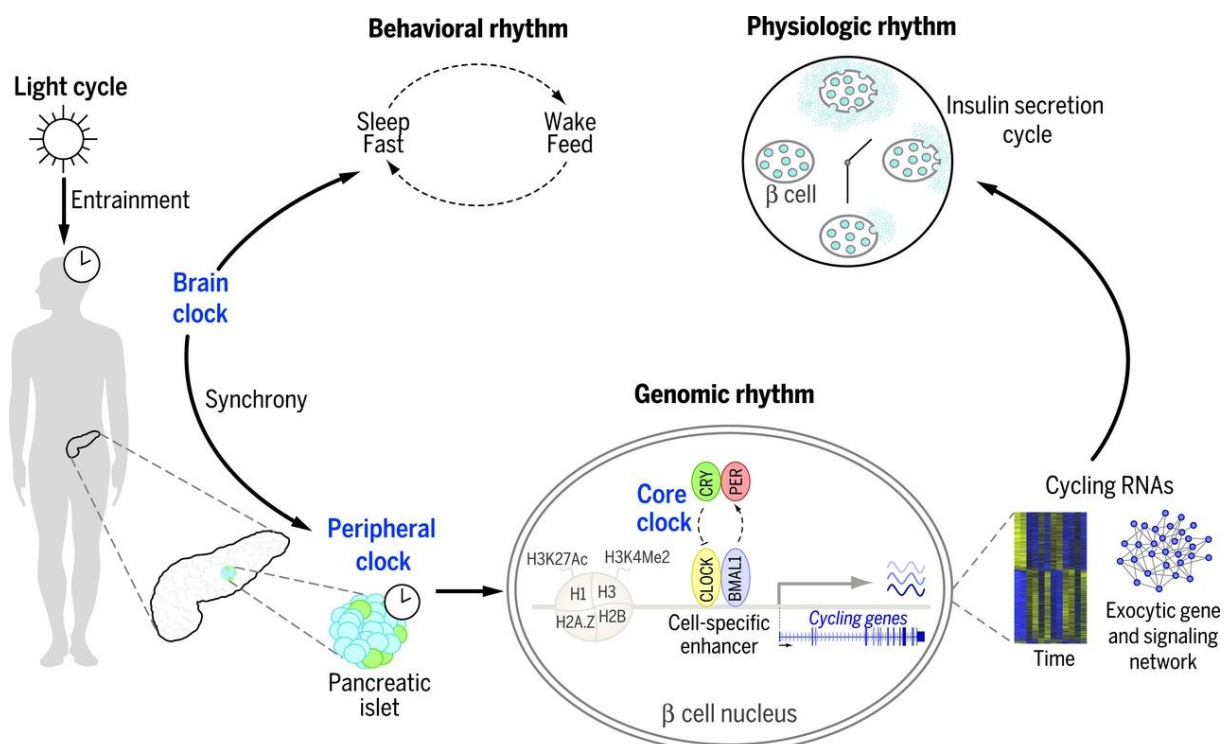
Na molekulární úrovni je rytmická endokrinní sekrece pankreatických buněk řízena transkripční aktivitou hodinových proteinů (viz kapitola 2.1). Heterodimer CLOCK:BMAL1 se váže na E-box úseky promotorů CCGs v pankreatu a tím reguluje cirkadiánní expresi klíčových faktorů pro sekreci hormonů. (Perelis et al., 2015) Rytmickou acetylaci histonů, která vede k remodelaci chromatinu reguluje komplex CLOCK:BMAL1 načasování aktivace genů v průběhu 24hodinového cyklu. (Doi et al., 2006)

Sekvenování RNA izolované z pankreatických ostrůvků synchronizovaných *ex vivo* odhalilo, že alfa i beta buňky vykazují rytmickou expresi genů hrajících roli v transportu granulí a exocytózy, což jsou nezbytné procesy pro regulované uvolňování hormonů. (Perelis et al., 2015) Hladiny exprese mRNA inzulínu a glukagonu zůstávají relativně stabilní, což naznačuje, že cirkadiánní regulace se primárně zaměřuje na sekreční aparát spíše než na biosyntézu hormonů. Z funkčního hlediska vede narušení hodin beta buněk, například v důsledku knockout mutace genu *Bmal1*, k narušení glukózou stimulované sekrece inzulínu, což podtrhuje klíčovou roli intaktní cirkadiánní regulace při udržování endokrinní funkce pankreatu. (Perelis et al., 2015)

4.1 Sekrece inzulínu

4.1.1 Regulace transkripce

Při studiu izolovaných pankreatických beta buněk bylo zjištěno, že beta buňky mají vlastní vnitřní hodiny, které ovlivňují sekreci inzulínu. Na molekulární úrovni dochází k navázání CLOCK:BMAL1 heterodimeru na E-box úsek promotoru (motiv CACGTG). Studie imunoprecipitačního sekvenování chromatinu (ChIP-seq) ukázaly, že se heterodimer CLOCK:BMAL1 váže na promotorové úseky genů hrajících klíčovou roli při transportu a exocytóze váčků, jedná se například o geny *Vamp1*, *Vamp5*, *Vamp8*, *Stx1a* nebo *Stx4a* (viz Obr.2). (Liu et al., 2011; Perelis et al., 2015)



Obrázek 2: Schéma regulace rytmické exprese genů hrajících roli při sekreci inzulínu v úseku β -specifického enhanceru, převzato od Perelis et al. 2015

Důležité je, že se komplex CLOCK:BMAL1 váže převážně na distální oblasti enhancerů opatřené histonovými modifikacemi H3K4Me1 a H3K27Ac, které signalizují otevřený transkripčně aktivní stav chromatinu. (Perelis et al., 2015) Tyto enhancery se často nachází v blízkosti PDX1 (insulin promoter factor 1), transkripčních faktorů specifických pro pankreatické beta buňky, což naznačuje integraci cirkadiálních a vývojových regulačních programů genů. Prostřednictvím remodelace chromatinu a specifických enhancerů zajišťuje CLOCK:BMAL1 rytmickou expresi klíčových genů pro sekreci inzulínu synchronně s 24hodinovým cyklem.

Za pomoci tkáňově specifického genového targetingu v pankreatických beta buňkách se ukázalo, že při delecí hodinového genu *Bmal1* dochází ke ztrátě rytmické exprese cílových genů, zhoršené sekreci inzulínu stimulované glukózou (GSIS) a v konečném důsledku k intoleranci glukózy a hypoinzulinémií (Marcheva et al., 2010; Perelis et al., 2015)

4.1.2 Alternativní sestřih (splicing)

Kromě regulace transkripce cirkadiánní hodiny ovlivňují sekreci inzulínu také posttranskripční regulací alternativního sestřihu.

Byla zkoumána role transkripčních faktorů CLOCK a BMAL1 v regulaci alternativního sestřihu. Bylo zjištěno, že tyto transkripční faktory ovlivňují alternativní sestřih transkriptů kódujících proteiny, které hrají roli při exocytóze. Při testu byly využity modely s delecí genů *Clock* a *Bmal1*. Následkem této mutace došlo k narušení sestřihu transkriptu genů *Cask* a *Madd*. (Marcheva et al., 2020) Tyto geny jsou nezbytné pro exocytózu (Kat et al., 2021; Wang et al., 2015), narušení jejich regulace mělo za následek narušenou GSIS. Mimo tyto geny bylo také zjištěno narušení alternativního sestřihu transkriptu genu *Snap25*. Produkt tohoto genu hraje klíčovou roli při váčkové fúzi. (Kong et al., 2024) Cirkadiánně ovlivněné narušení sestřihu mělo za následek snížení poměru funkční izoformy *Snap25b* oproti izoformě *Snap25a*, která posílila negativní dopad na sekreci inzulínu. Mediátorem hodinové kontroly alternativního sestřihu je dle tohoto výzkumu protein THRAP3, který váže RNA a usnadňuje začlenění exonu v závislosti na denní době. Bylo zjištěno, že při depleci THRAP3 proteinu myši s delecí genu *Clock*, je částečně navrácen normální splicing a sekrece inzulínu. Podobně narušený alternativní sestřih byl pozorován u beta buněk modelů trpících obezitou způsobenou stravováním. To otevírá dveře potenciálním terapeutickým možnostem v budoucnu a spojuje posttranskripční regulaci beta buněk s metabolickými poruchami jako je diabetes druhého typu. (Marcheva et al., 2020)

4.1.3 Pomocné cirkadiánní smyčky a epigenetická modulace

Kromě přímé transkripční aktivace zprostředkované komplexem CLOCK:BMAL1, pomocné transkripční smyčky dále doladují cirkadiánní expresi genů v pankreatických β -buňkách. Jaderné receptory, jako jsou REV-ERB α/β a ROR α/γ , regulují geny vazbou na elementy RORE. REV-ERB fungují jako represory tím, že rekrutují komplexy NCoR1-HDAC3, které podporují deacetylaci histonů a kondenzaci chromatinu, zatímco ROR fungují jako aktivátory. Tyto jaderné receptory přispívají k udržení rytmicity *Bmal1* a ovlivňují transkripci metabolických genů zapojených do sekrece inzulínu. (Sato et al., 2004)

Sekundární transkripční faktory, jako je DBP (aktivátor) a E4BP4 (represor), navíc regulují elementy D-boxu v promotorech genů řízených hodinami, včetně těch, které se podílejí na transportu vezikul a metabolismu glukózy. Rytmičká vazba těchto faktorů přidává další vrstvu časové regulace k expresi genů v β -buňkách. (Ohta et al., 2017)

Cirkadiální hodiny konečně ovlivňují i epigenetické modifikace, jako je acetylace lysinových zbytků histonu H3 zprostředkovaná CLOCK, což usnadňuje denní změny v dostupnosti chromatinu a transkripční kompetenci (Doi et al., 2006).

Jak již bylo řečeno, vnitřní hodiny pankreatických beta buněk hrají v cirkadiální regulaci jejich funkce nezaměnitelnou roli. Systémová regulace, ač stále není dokonale prozkoumaná, má své místo při zajištění správného fungování buněk.

Další pankreatické hormony jako je somatostatin, ghrelin nebo pankreatický polypeptid taktéž hrají důležitou roli v zachování homeostázy glukózy, nicméně cirkadiální regulace jejich aktivity není dostatečně prozkoumaná. Byly zkoumány pulzy hormonů glukagonu, inzulinu a somatostatinu. (Salehi et al., 2007) Ukázalo se, že somatostatin byl sekretován s fázovým posunutím oproti inzulinu. Není zatím jasné, zda toho bylo docíleno cirkadiální regulací, nebo zde vstupují jiné faktory. Další výzkum v tomto směru by mohl potenciálně objasnit jakými způsoby cirkadiální regulace těchto hormonů může ovlivnit metabolismus a nastítnit jejich potenciální roli v chorobách jako je diabetes druhého typu.

4.2 Citlivost na glukózu

4.2.1 Regulace exprese GLUT2 a GCK

Pankreatické beta buňky uvolňují hormon inzulin v závislosti na hladině glukózy v krvi. Citlivost na glukózu je tedy jedním z klíčových bodů sekrece inzulinu. Hlavními součástmi tohoto procesu jsou glukózový přenašeč GLUT2 a glukokináza (GCK). Analýzy genové exprese pomocí kvantitativní RT-PCR prokázaly, že exprese mRNA obou komponentů, GLUT2 a GCK, je cirkadiálně regulována (Frese et al., 2007). Tato rytmičká genová exprese je časově koordinována s cyklem světla a tmy a předpokládanou dobou krmení, čímž se citlivost β -buněk na glukózu sladí s denními metabolickými potřebami.

Na molekulární úrovni je transkripce *Gck* řízena motivy E-box v jeho promotoru, což z něj činí cíl transkripčního komplexu CLOCK:BMAL1 (Marcheva et al., 2020; Perelis et al., 2015). Vazba CLOCK:BMAL1 vede k acylaci histonů (např. H3K27ac) v oblastech enhancerů

proximálně od metabolických genů, což podporuje otevřený stav chromatinu a rytmickou aktivaci genů. (Llanos et al., 2023)

4.2.2 Narušení rytmické exprese faktorů citlivosti na glukózu

U modelové Goto-Kakizaki myši, neobézní myši trpící diabetem druhého typu, bylo pomocí experimentů, ve kterých byla pozorována stimulovaná sekrece inzulínu myšími ostrůvky, zjištěno, že došlo ke snížení rytmicity exprese genů kódujících GLUT2 a GCK. U těchto myši vykazují pankreatické beta buňky zhoršenou sekreci inzulínu a sníženou citlivost beta buněk na glukózu, což koreluje s utlumenou cirkadiánní transkripční regulací (Frese et al., 2007). To podporuje koncept, že cirkadiánní narušení na úrovni snímání glukózy přispívá k narušení funkce beta buněk a progresi diabetu.

Doplňující studie dále potvrzuje teorii o cirkadiánním ovlivnění citlivosti na glukózu. (Saad et al., 2012). V tomto výzkumu byla 20 zdravým jedincům v pravidelných intervalech podávána izotopově značená jídla. Bylo pozorováno, že tolerance glukózy byla ráno významně vyšší, což bylo spojeno s nižšími postprandiálními výkyvy hladiny glukózy v krvi a robustnější sekrecí inzulínu. Tato zjištění naznačují, že cirkadiánní hodiny optimalizují snímání glukózy a jejich reaktivitu β -buněk během rané aktivní fáze, zatímco jejich nesoulad přispívá k metabolickým poruchám.

Tato data kolektivně ukazují, že cirkadiánní hodiny pankreatu řídí snímání glukózy na molekulární úrovni tím, že řídí rytmickou transkripci klíčových metabolických genů, GLUT2 a GCK, prostřednictvím aktivace CLOCK:BMAL1, čímž zajišťují efektivní sekreci inzulínu a udržování glukózové homeostázy v průběhu denního a nočního cyklu.

4.3 Cirkadiánní regulace exokrinního pankreatu

Role, jakou hrají cirkadiánní rytmy v endokrinní části pankreatu, není ještě dokonale prozkoumaná. O roli, kterou hrají v exokrinní části pankreatu, víme ještě méně. Na modelových myších bylo zjištěno, že i exokrinní pankreas, který je zodpovědný za sekreci trávicích enzymů, vykazuje rytmicitu. (Maouyo et al., 1993)

Jedna z mála laboratoří, která se na tuto oblast zaměřila, je laboratoř Fyziologického ústavu AV ČR (Honzlová et al., 2022). Ve svém výzkumu vystavili myši omezenému přísunu potravy a sledovali, kromě jiného, i hladiny hormonů inzulínu, glukagonu a kortikosteronu a expresi hodinových genů v játrech a endokrinní i exokrinní části pankreatu. Z výsledků jejich práce je patrné, že na rozdíl od jiných tkání, ve kterých dojde k posunu fáze cirkadiánních hodin

s posunem času krmení, v exokrinní části pankreatu dojde k vážnému narušení hodin. Za toto narušení je zodpovědná desynchronizace hladin hormonů inzulínu a kortikosteronu.

Dlouhodobé narušení pravidelného příjmu potravy má za následek desynchronizaci hodin endokrinního a exokrinního pankreatu a vážné narušení rytmicity hodin exokrinního pankreatu. Tato situace může vést k metabolickým poruchám a s nimi spojeným onemocněním.

5. Důsledky narušení cirkadiálních rytmu u pankreatických buněk

Důležitou rolí cirkadiální regulace v pankreatických buňkách je dáno, že narušení cirkadiálních rytmů může mít negativní vliv na metabolismus a zdraví člověka. Faktory, jako je nepravidelný spánkový režim, práce na směnný provoz, jet lag, nebo dlouhodobý stres, mohou narušit synchronizaci mezi centrálními a periferními hodinami. (Lee et al., 2013) Takové narušení často vede k desynchronizaci metabolických procesů v pankreatických buňkách, což ovlivňuje jejich schopnost produkovat a sekrečně regulovat inzulín.

5.1 Diabetes 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu (T2 DM) je chronické metabolické onemocnění charakteristické hyperglykemií. Rozvoj T2 DM může být v některých případech důsledkem genetických predispozic, nicméně většinou se toto onemocnění rozvíjí během života jako důsledek životního stylu. Rozvoj onemocnění T2 DM je způsoben dysregulací homeostázy glukózy, na molekulární úrovni je T2 DM spojován s narušením citlivosti na inzulín či s narušením sekrece inzulínu. (*Galicía-García et al., 2020) Toho onemocnění se stává čím dál větším problémem naší společnosti, podle světové zdravotnické organizace (WHO) trpí tímto onemocněním 400 milionů jedinců po celém světě. T2 DM přispívá k rozvoji dalších patogenezi, například kardiovaskulárního systému, mortalita tohoto onemocnění je tedy značná. (*Caussy et al., 2021)

Cirkadiální rytmy jakožto důležité regulátory funkce pankreatických beta buněk hrají roli i při rozvoji metabolických onemocnění, jakým je například T2 DM. Bylo prokázáno, že například práce ve směnném provozu je faktor asociovaný s rozvojem T2 DM (Vetter et al., 2018). U pracovníků směnných provozů dochází k narušení spánkového režimu (McNamara and Robbins, 2023). Režim světla a stravovací režim jsou zeitgebery důležité pro synchronizaci centrálních a periferních hodin. (Rudic et al., 2004; Stokkan et al., 2001) Desynchronizací těchto režimů se pak mohou rozvíjet metabolická onemocnění jako je T2 DM.

Epidemiologická studie se zabývala dlouhodobou prací ve směnném provozu v souvislosti s rozvojem T2 DM. Role směnného provozu v rozvoji T2 DM byla v této studii potvrzena. Ukázalo se také, že riziko rozvoje se zvyšovalo s dlouhodobým trváním práce ve směnném provozu. (Pan et al., 2011)

6. Závěr

Cirkadiánní rytmy hrají klíčovou roli v regulaci mnoha biologických funkcí, včetně metabolismu glukózy, energetické homeostázy, imunitní odpovědi a hormonální regulace. Narušení těchto rytmů, například v důsledku noční práce, nepravidelného spánku nebo jet lagu, je spojováno s rozvojem metabolických poruch, kardiovaskulárních onemocnění a některých druhů rakoviny (Marcheva et al., 2010; Rudic et al., 2004)

U pankreatických buněk je narušení cirkadiánních rytmů spojeno se zhoršenou sekrecí inzulínu a zvýšeným rizikem diabetu mellitu 2. typu (Lee et al., 2013; Zhao et al., 2012). Porozumění molekulární regulaci těchto procesů proto představuje důležitý krok k lepšímu pochopení patogeneze onemocnění spojených s dysfunkcí cirkadiánních hodin (*Hofstra and de Weerd, 2008)

Tato práce zdůraznila důležitost harmonické spolupráce centrálních a periferních hodin, kterou narušují faktory, jako je nepravidelný životní režim, noční práce nebo genetické predispozice. Důsledky těchto narušení sahají od zhoršené sekrece inzulínu až po systémovou metabolickou dysregulaci, což podtrhuje význam udržování správné funkce cirkadiánních hodin.

Studium genové exprese a molekulárních drah spojených s hodinovým systémem ukázalo, že narušení oscilací genů, jako jsou CLOCK, BMAL1, PER a CRY, vede v pankreatických buňkách k významným změnám, které mohou narušit funkční metabolismus. Tyto nálezy poskytují základ pro vývoj nových terapeutických strategií zaměřených na obnovu cirkadiánní synchronizace.

Další výzkum by se měl zaměřit na hlubší pochopení molekulárních mechanismů, dlouhodobé účinky terapeutických intervencí a jejich přenos do klinické praxe. Udržení správné synchronizace mezi centrálními a periferními hodinami zůstává klíčovým cílem nejen pro zdraví pankreatu, ale i pro celkovou metabolickou homeostázu organismu.

7. Seznam použité literatury

- Adrian, T.E., Besterman, H.S., Cooke, T.J.C., Bloom, S.R., Barnes, A.J., Russell, R.C.G., Faber, R.G., 1977. MECHANISM OF PANCREATIC POLYPEPTIDE RELEASE IN MAN. *The Lancet*, Originally published as Volume 1, Issue 8004 309, 161–163. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(77\)91762-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(77)91762-7)
- Ammälä, C., Eliasson, L., Bokvist, K., Larsson, O., Ashcroft, F.M., Rorsman, P., 1993. Exocytosis elicited by action potentials and voltage-clamp calcium currents in individual mouse pancreatic B-cells. *The Journal of Physiology* 472, 665–688. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019966>
- Aragón, F., Karaca, M., Novials, A., Maldonado, R., Maechler, P., Rubí, B., 2015. Pancreatic polypeptide regulates glucagon release through PPYR1 receptors expressed in mouse and human alpha-cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1850, 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.005>
- Arias, A.E., Bendayan, M., 1993. Differentiation of pancreatic acinar cells into duct-like cells in vitro. *Lab Invest* 69, 518–530.
- Bartonjo, J.J., Lundy, R.F., 2022. Target-specific projections of amygdala somatostatin-expressing neurons to the hypothalamus and brainstem. *Chem Senses* 47, bjac009. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjac009>
- Börding, T., Abdo, A.N., Maier, B., Gabriel, C., Kramer, A., 2019. Generation of Human CRY1 and CRY2 Knockout Cells Using Duplex CRISPR/Cas9 Technology. *Front Physiol* 10, 577. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00577>
- 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. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 53, 1087–1097. <https://doi.org/10.1369/jhc.5C6684.2005>
- Bunger, M.K., Wilsbacher, L.D., Moran, S.M., Clendenin, C., Radcliffe, L.A., Hogenesch, J.B., Simon, M.C., Takahashi, J.S., Bradfield, C.A., 2000. Mop3 Is an Essential Component of the Master Circadian Pacemaker in Mammals. *Cell* 103, 1009–1017.
- Bur, I.M., Cohen-Solal, A.M., Carmignac, D., Abecassis, P.-Y., Chauvet, N., Martin, A.O., van der Horst, G.T.J., Robinson, I.C.A.F., Maurel, P., Mollard, P., Bonnefont, X., 2009. The Circadian Clock Components CRY1 and CRY2 Are Necessary to Sustain Sex Dimorphism in Mouse Liver Metabolism. *J Biol Chem* 284, 9066–9073. <https://doi.org/10.1074/jbc.M808360200>

- Busino, L., Bassermann, F., Maiolica, A., Lee, C., Nolan, P.M., Godinho, S.I.H., Draetta, G.F., Pagano, M., 2007. SCFFbx13 Controls the Oscillation of the Circadian Clock by Directing the Degradation of Cryptochrome Proteins. *Science* 316, 900–904. <https://doi.org/10.1126/science.1141194>
- *Caussy, C., Aubin, A., Loomba, R., 2021. The Relationship Between Type 2 Diabetes, NAFLD, and Cardiovascular Risk. *Current diabetes reports* 21, 15. <https://doi.org/10.1007/s11892-021-01383-7>
- *Chan, K., Wong, F.S., Pearson, J.A., 2022. Circadian rhythms and pancreas physiology: A review. *Front. Endocrinol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.920261>
- Cheon, S., Park, N., Cho, S., Kim, K., 2013. Glucocorticoid-mediated Period2 induction delays the phase of circadian rhythm. *Nucleic Acids Res* 41, 6161–6174. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt307>
- Christ, B., Nath, A., Bastian, H., Jungermann, K., 1988. Regulation of the expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene in cultured rat hepatocytes by glucagon and insulin. *European Journal of Biochemistry* 178, 373–379. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1988.tb14460.x>
- Cook, D.L., Hales, N., 1984. Intracellular ATP directly blocks K⁺ channels in pancreatic B-cells. *Nature* 311, 271–273. <https://doi.org/10.1038/311271a0>
- Czeisler, C.A., Duffy, J.F., Shanahan, T.L., Brown, E.N., Mitchell, J.F., Rimmer, D.W., Ronda, J.M., Silva, E.J., Allan, J.S., Emens, J.S., Dijk, D.-J., Kronauer, R.E., 1999. Stability, Precision, and Near-24-Hour Period of the Human Circadian Pacemaker. *Science* 284, 2177–2181. <https://doi.org/10.1126/science.284.5423.2177>
- Dantas-Ferreira, R., Ciocca, D., Vuillez, P., Dumont, S., Boitard, C., Rogner, U.C., Challet, E., 2024. Deletion of the Clock Gene *Bmal2* Leads to Alterations in Hypothalamic Clocks, Circadian Regulation of Feeding, and Energy Balance. *J Neurosci* 44, e1886232024. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1886-23.2024>
- Dezaki, K., Hosoda, H., Kakei, M., Hashiguchi, S., Watanabe, M., Kangawa, K., Yada, T., 2004. Endogenous Ghrelin in Pancreatic Islets Restricts Insulin Release by Attenuating Ca²⁺ Signaling in β -Cells: Implication in the Glycemic Control in Rodents. *Diabetes* 53, 3142–3151. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.12.3142>
- Doi, M., Hirayama, J., Sassone-Corsi, P., 2006. Circadian Regulator CLOCK Is a Histone Acetyltransferase. *Cell* 125, 497–508. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.033>

- Etchegaray, J.-P., Lee, C., Wade, P.A., Reppert, S.M., 2003. Rhythmic histone acetylation underlies transcription in the mammalian circadian clock. *Nature* 421, 177–182. <https://doi.org/10.1038/nature01314>
- *Fagiani, F., Di Marino, D., Romagnoli, A., Travelli, C., Voltan, D., Di Cesare Mannelli, L., Racchi, M., Govoni, S., Lanni, C., 2022. Molecular regulations of circadian rhythm and implications for physiology and diseases. *Sig Transduct Target Ther* 7, 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00899-y>
- Frese, T., Bazwinsky, I., Mühlbauer, E., Peschke, E., 2007. Circadian and Age-dependent Expression Patterns of GLUT2 and Glucokinase in the Pancreatic β -Cell of Diabetic and Nondiabetic Rats. *Horm Metab Res* 39, 567–574. <https://doi.org/10.1055/s-2007-984471>
- *Fu, Z., Gilbert, E.R., Liu, D., 2013. Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Curr Diabetes Rev* 9, 25–53.
- *Galicía-García, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K.B., Ostolaza, H., Martín, C., 2020. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci* 21, 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H.B., Davis, F.C., Wilsbacher, L.D., King, D.P., Takahashi, J.S., Weitz, C.J., 1998. Role of the CLOCK Protein in the Mammalian Circadian Mechanism. *Science* 280, 1564–1569. <https://doi.org/10.1126/science.280.5369.1564>
- *Gross, J., Zhou, Y., Barak, L., Caron, M., 2023. Ghrelin Receptor Signaling in Health and Disease: A Biased View. *Trends Endocrinol Metab* 34, 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.12.001>
- Hara, M., Dizon, R.F., Glick, B.S., Lee, C.S., Kaestner, K.H., Piston, D.W., Bindokas, V.P., 2006. Imaging pancreatic β -cells in the intact pancreas. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 290, E1041–E1047. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00365.2005>
- Harmar, A.J., Marston, H.M., Shen, S., Spratt, C., West, K.M., Sheward, W.J., Morrison, C.F., Dorin, J.R., Piggins, H.D., Reubi, J.-C., Kelly, J.S., Maywood, E.S., Hastings, M.H., 2002. The VPAC2 Receptor Is Essential for Circadian Function in the Mouse Suprachiasmatic Nuclei. *Cell* 109, 497–508. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00736-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00736-5)
- Hart, D.W., van Jaarsveld, B., Lasch, K.G., Grenfell, K.L., Oosthuizen, M.K., Bennett, N.C., 2021. Ambient Temperature as a Strong Zeitgeber of Circadian Rhythms in Response

- to Temperature Sensitivity and Poor Heat Dissipation Abilities in Subterranean African Mole-Rats. *J Biol Rhythms* 36, 461–469. <https://doi.org/10.1177/07487304211034287>
- Heller, R.S., Jenny, M., Collombat, P., Mansouri, A., Tomasetto, C., Madsen, O.D., Mellitzer, G., Gradwohl, G., Serup, P., 2005. Genetic determinants of pancreatic ϵ -cell development. *Developmental Biology* 286, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.06.041>
- Hennig, S., Strauss, H.M., Vanselow, K., Yildiz, Ö., Schulze, S., Arens, J., Kramer, A., Wolf, E., 2009. Structural and Functional Analyses of PAS Domain Interactions of the Clock Proteins *Drosophila* PERIOD and Mouse PERIOD2. *PLOS Biology* 7, e1000094. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000094>
- *Hofstra, W.A., de Weerd, A.W., 2008. How to assess circadian rhythm in humans: A review of literature. *Epilepsy & Behavior* 13, 438–444. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.06.002>
- Honzlová, P., Novosadová, Z., Houdek, P., Sládek, M., Sumová, A., 2022. Misaligned feeding schedule elicits divergent circadian reorganizations in endo- and exocrine pancreas clocks. *Cell. Mol. Life Sci.* 79, 318. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04354-7>
- Hoogerwerf, W.A., Hellmich, H.L., Cornélissen, G., Halberg, F., Shahinian, V.B., Bostwick, J., Savidge, T.C., Cassone, V.M., 2007. Clock gene expression in the murine gastrointestinal tract: endogenous rhythmicity and effects of a feeding regimen. *Gastroenterology* 133, 1250–1260. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.07.009>
- Kalsbeek, A., Van Heerikhuize, J.J., Wortel, J., Buijs, R.M., 1996. A Diurnal Rhythm of Stimulatory Input to the Hypothalamo–Pituitary–Adrenal System as Revealed by Timed Intrahypothalamic Administration of the Vasopressin V₁ Antagonist. *J. Neurosci.* 16, 5555–5565. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-17-05555.1996>
- Kat, M., Bürgisser, P.E., Janssen, H., Cuyper, I.M.D., Conte, I.L., Hume, A.N., Carter, T., Voorberg, J., Margadant, C., Bierings, R., 2021. GDP/GTP exchange factor MADD drives activation and recruitment of secretory Rab GTPases to Weibel-Palade bodies. *Blood Advances* 5, 5116. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021004827>
- King, D.P., Zhao, Y., Sangoram, A.M., Wilsbacher, L.D., Tanaka, M., Antoch, M.P., Steeves, T.D.L., Vitaterna, M.H., Kornhauser, J.M., Lowrey, P.L., Turek, F.W., Takahashi, J.S., 1997. Positional Cloning of the Mouse Circadian Clock Gene. *Cell* 89, 641–653. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80245-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80245-7)

- KOCH, B.D., SCHONBRUNN, A., 1984. The Somatostatin Receptor Is Directly Coupled to Adenylate Cyclase in GH4C_i Pituitary Cell Membranes*. *Endocrinology* 114, 1784–1790. <https://doi.org/10.1210/endo-114-5-1784>
- Kong, X., Lin, C., Yang, C., Wang, X., Li, B., Yan, D., Yang, Y., Hu, A., Chen, Y., Xu, X., Ma, X., 2024. GLP-1 signaling-regulated SNAP25 is involved in improved insulin secretion in diabetic GK rats after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Mol Biol Rep* 51, 123. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-09165-y>
- Konturek, S.J., Tasler, J., Bilski, J., Konturek, J., Bielański, W., 1986. Studies on the localization of secretin release from canine intestine. *Digestion* 34, 207–215. <https://doi.org/10.1159/000199331>
- Koronowski, K.B., Kinouchi, K., Welz, P.-S., Smith, J.G., Zinna, V.M., Shi, J., Samad, M., Chen, S., Magnan, C.N., Kinchen, J.M., Li, W., Baldi, P., Benitah, S.A., Sassone-Corsi, P., 2019. Defining the Independence of the Liver Circadian Clock. *Cell* 177, 1448–1462.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.04.025>
- Landgraf, D., Wang, L.L., Diemer, T., Welsh, D.K., 2016. NPAS2 Compensates for Loss of CLOCK in Peripheral Circadian Oscillators. *PLoS Genet* 12, e1005882. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005882>
- Lee, C., Etchegaray, J.-P., Cagampang, F.R.A., Loudon, A.S.I., Reppert, S.M., 2001. Posttranslational Mechanisms Regulate the Mammalian Circadian Clock. *Cell* 107, 855–867. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00610-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00610-9)
- Lee, J., Moulik, M., Fang, Z., Saha, P., Zou, F., Xu, Y., Nelson, D.L., Ma, K., Moore, D.D., Yechoor, V.K., 2013. Bmal1 and β -Cell Clock Are Required for Adaptation to Circadian Disruption, and Their Loss of Function Leads to Oxidative Stress-Induced β -Cell Failure in Mice. *Molecular and Cellular Biology* 33, 2327. <https://doi.org/10.1128/MCB.01421-12>
- *Lee, J., Pilch, P.F., 1994. The insulin receptor: structure, function, and signaling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1994.266.2.C319>
- Lee, Y., Chen, R., Lee, H., Lee, C., 2011. Stoichiometric Relationship among Clock Proteins Determines Robustness of Circadian Rhythms *. *Journal of Biological Chemistry* 286, 7033–7042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.207217>
- Lee, Y., Lee, J., Kwon, I., Nakajima, Y., Ohmiya, Y., Son, G.H., Lee, K.H., Kim, K., 2010. Coactivation of the CLOCK–BMAL1 complex by CBP mediates resetting of the

- circadian clock. *Journal of Cell Science* 123, 3547–3557.
<https://doi.org/10.1242/jcs.070300>
- *Leung, P.S., Ip, S.P., 2006. Pancreatic acinar cell: Its role in acute pancreatitis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38, 1024–1030.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.12.001>
- Li, Y., Owyang, C., 1993. Vagal afferent pathway mediates physiological action of cholecystokinin on pancreatic enzyme secretion. *J Clin Invest* 92, 418–424.
<https://doi.org/10.1172/JCI116583>
- Lin, S., Shi, Y.-C., Yulyaningsih, E., Aljanova, A., Zhang, L., Macia, L., Nguyen, A.D., Lin, E.-J.D., During, M.J., Herzog, H., Sainsbury, A., 2009. Critical Role of Arcuate Y4 Receptors and the Melanocortin System in Pancreatic Polypeptide-Induced Reduction in Food Intake in Mice. *PLOS ONE* 4, e8488.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008488>
- Liu, Y., Sugiura, Y., Lin, W., 2011. The role of Synaptobrevin1/VAMP1 in Ca²⁺-triggered neurotransmitter release at the mouse neuromuscular junction. *The Journal of Physiology* 589, 1603–1618. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.201939>
- Llanos, P., Ordenes, P., Rhoads, D.B., Santibanez, J.F., García-Robles, M., Millán, C., 2023. BMAL1 Regulates Glucokinase Expression Through E-Box Elements In Vitro, in: Simon, F., Bernabeu, C. (Eds.), *Advances in Molecular Pathology*. Springer Nature Switzerland, Cham, pp. 235–249. https://doi.org/10.1007/978-3-031-26163-3_13
- Maouyo, D., Sarfati, P., Guan, D., Morisset, J., Adelson, J.W., 1993. Circadian rhythm of exocrine pancreatic secretion in rats: major and minor cycles. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 264, G792–G800.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1993.264.4.G792>
- Marcheva, B., Moynihan Ramsey, K., Buhr, E.D., Kobayashi, Y., Su, H., Ko, C.H., Ivanova, G., Omura, C., Mo, S., Vitaterna, M.H., Lopez, J.P., Philipson, L.H., Bradfield, C.A., Crosby, S.D., JeBailey, L., Wang, X., Takahashi, J.S., Bass, J., 2010. Disruption of the Clock Components CLOCK and BMAL1 Leads to Hypoinsulinemia and Diabetes. *Nature* 466, 627–631. <https://doi.org/10.1038/nature09253>
- Marcheva, B., Perelis, M., Weidemann, B.J., Taguchi, A., Lin, H., Omura, C., Kobayashi, Y., Newman, M.V., Wyatt, E.J., McNally, E.M., Fox, J.E.M., Hong, H., Shankar, A., Wheeler, E.C., Ramsey, K.M., MacDonald, P.E., Yeo, G.W., Bass, J., 2020. A role for alternative splicing in circadian control of exocytosis and glucose homeostasis. *Genes Dev* 34, 1089–1105. <https://doi.org/10.1101/gad.338178.120>

- McNamara, K.A., Robbins, W.A., 2023. Shift Work and Sleep Disturbance in the Oil Industry. *Workplace Health Saf* 71, 118–129. <https://doi.org/10.1177/21650799221139990>
- *Messenger, S.W., Falkowski, M.A., Groblewski, G.E., 2014. Ca²⁺-regulated secretory granule exocytosis in pancreatic and parotid acinar cells. *Cell Calcium, Special Issue: Ca²⁺ signaling and secretory function* 55, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.03.003>
- Mitsui, S., Yamaguchi, S., Matsuo, T., Ishida, Y., Okamura, H., 2001. Antagonistic role of E4BP4 and PAR proteins in the circadian oscillatory mechanism. *Genes Dev* 15, 995–1006. <https://doi.org/10.1101/gad.873501>
- Moore, R.Y., Lenn, N.J., 1972. A retinohypothalamic projection in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 146, 1–14. <https://doi.org/10.1002/cne.901460102>
- Nolan, C., Margoliash, E., Peterson, J.D., Steiner, D.F., 1971. The Structure of Bovine Proinsulin. *Journal of Biological Chemistry* 246, 2780–2795. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)62252-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)62252-5)
- Novak, I., Greger, R., 1988. Properties of the luminal membrane of isolated perfused rat pancreatic ducts. *Pflugers Arch.* 411, 546–553. <https://doi.org/10.1007/BF00582376>
- Oda, D., Savard, C.E., Nguyen, T.D., Swenson, E.R., 1996. Dog Pancreatic Duct Epithelial Cells: Long-Term Culture and Characterization 148.
- Ohta, Y., Taguchi, A., Matsumura, T., Nakabayashi, H., Akiyama, M., Yamamoto, K., Fujimoto, R., Suetomi, R., Yanai, A., Shinoda, K., Tanizawa, Y., 2017. Clock Gene Dysregulation Induced by Chronic ER Stress Disrupts β -cell Function. *EBioMedicine* 18, 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.040>
- Pan, A., Schernhammer, E.S., Sun, Q., Hu, F.B., 2011. Rotating Night Shift Work and Risk of Type 2 Diabetes: Two Prospective Cohort Studies in Women. *PLOS Medicine* 8, e1001141. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001141>
- Panda, S., Antoch, M.P., Miller, B.H., Su, A.I., Schook, A.B., Straume, M., Schultz, P.G., Kay, S.A., Takahashi, J.S., Hogenesch, J.B., 2002. Coordinated Transcription of Key Pathways in the Mouse by the Circadian Clock. *Cell* 109, 307–320. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00722-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00722-5)
- *Pandiri, A.R., 2013. Overview of Exocrine Pancreatic Pathobiology. *Toxicologic pathology* 42, 207. <https://doi.org/10.1177/0192623313509907>
- Pendergast, J.S., Oda, G.A., Niswender, K.D., Yamazaki, S., 2012. Period determination in the food-entrainable and methamphetamine-sensitive circadian oscillator(s). *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 14218–14223. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206213109>

- Perelis, M., Marcheiva, B., Moynihan Ramsey, K., Schipma, M.J., Hutchison, A.L., Taguchi, A., Peek, C.B., Hong, H., Huang, W., Omura, C., Allred, A.L., Bradfield, C.A., Dinner, A.R., Barish, G.D., Bass, J., 2015. Pancreatic β cell enhancers regulate rhythmic transcription of genes controlling insulin secretion. *Science* 350, aac4250. <https://doi.org/10.1126/science.aac4250>
- Petrenko, V., Saini, C., Giovannoni, L., Gobet, C., Sage, D., Unser, M., Masson, M.H., Gu, G., Bosco, D., Gachon, F., Philippe, J., Dibner, C., 2017. Pancreatic α - and β -cellular clocks have distinct molecular properties and impact on islet hormone secretion and gene expression. *Genes Dev.* 31, 383–398. <https://doi.org/10.1101/gad.290379.116>
- *Pradhan, G., Samson, S.L., Sun, Y., 2013. Ghrelin: much more than a hunger hormone. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 16, 619–624. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328365b9be>
- Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., Schibler, U., 2002. The Orphan Nuclear Receptor REV-ERB α Controls Circadian Transcription within the Positive Limb of the Mammalian Circadian Oscillator. *Cell* 110, 251–260. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00825-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00825-5)
- Pulimeno, P., Mannic, T., Sage, D., Giovannoni, L., Salmon, P., Lemeille, S., Giry-Laterriere, M., Unser, M., Bosco, D., Bauer, C., Morf, J., Halban, P., Philippe, J., Dibner, C., 2013. Autonomous and self-sustained circadian oscillators displayed in human islet cells. *Diabetologia* 56, 497–507. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2779-7>
- Quilichini, E., Fabre, M., Dirami, T., Stedman, A., De Vas, M., Ozguc, O., Pasek, R.C., Cereghini, S., Morillon, L., Guerra, C., Couvelard, A., Gannon, M., Haumaitre, C., 2019. Pancreatic Ductal Deletion of Hnf1b Disrupts Exocrine Homeostasis, Leads to Pancreatitis, and Facilitates Tumorigenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 8, 487–511. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.06.005>
- Ripperger, J.A., Schibler, U., 2006. Rhythmic CLOCK-BMAL1 binding to multiple E-box motifs drives circadian Dbp transcription and chromatin transitions. *Nat Genet* 38, 369–374. <https://doi.org/10.1038/ng1738>
- Rodbell, M., Birnbaumer, L., Pohl, S.L., Krans, H.M.J., 1971. The Glucagon-sensitive Adenyl Cyclase System in Plasma Membranes of Rat Liver. *Journal of Biological Chemistry* 246, 1877–1882. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)62390-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)62390-7)
- Rudic, R.D., McNamara, P., Curtis, A.-M., Boston, R.C., Panda, S., Hogenesch, J.B., FitzGerald, G.A., 2004. BMAL1 and CLOCK, Two Essential Components of the

- Circadian Clock, Are Involved in Glucose Homeostasis. *PLOS Biology* 2, e377. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020377>
- Saad, A., Dalla Man, C., Nandy, D.K., Levine, J.A., Bharucha, A.E., Rizza, R.A., Basu, R., Carter, R.E., Cobelli, C., Kudva, Y.C., Basu, A., 2012. Diurnal Pattern to Insulin Secretion and Insulin Action in Healthy Individuals. *Diabetes* 61, 2691–2700. <https://doi.org/10.2337/db11-1478>
- *Sakata, N., Yoshimatsu, G., Kodama, S., 2019. Development and Characteristics of Pancreatic Epsilon Cells. *Int J Mol Sci* 20, 1867. <https://doi.org/10.3390/ijms20081867>
- Salehi, A., Qader, S.S., Grapengiesser, E., Hellman, B., 2007. Pulses of somatostatin release are slightly delayed compared with insulin and antisynchronous to glucagon. *Regulatory Peptides* 144, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.06.003>
- Sato, T.K., Panda, S., Miraglia, L.J., Reyes, T.M., Rudic, R.D., McNamara, P., Naik, K.A., FitzGerald, G.A., Kay, S.A., Hogenesch, J.B., 2004. A Functional Genomics Strategy Reveals Rora as a Component of the Mammalian Circadian Clock. *Neuron* 43, 527–537. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.07.018>
- Schusdziarra, V., Lenz, N., Schick, R., Maier, V., 1986. Modulatory Effect of Glucose, Amino Acids, and Secretin on CCK-8-Induced Somatostatin and Pancreatic Polypeptide Release in Dogs 35.
- Shi, S., Hida, A., McGuinness, O.P., Wasserman, D.H., Yamazaki, S., Johnson, C.H., 2010. Circadian Clock Gene Bmal1 Is Not Essential After All; Functional Replacement with its Paralog, Bmal2. *Curr Biol* 20, 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.034>
- Shigeyoshi, Y., Taguchi, K., Yamamoto, S., Takekida, S., Yan, L., Tei, H., Moriya, T., Shibata, S., Loros, J.J., Dunlap, J.C., Okamura, H., 1997. Light-Induced Resetting of a Mammalian Circadian Clock Is Associated with Rapid Induction of the mPer1 Transcript. *Cell* 91, 1043–1053. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80494-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80494-8)
- Son, G.H., Chung, S., Choe, H.K., Kim, H.-D., Baik, S.-M., Lee, H., Lee, H.-W., Choi, S., Sun, W., Kim, H., Cho, S., Lee, K.H., Kim, K., 2008. Adrenal peripheral clock controls the autonomous circadian rhythm of glucocorticoid by causing rhythmic steroid production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 20970–20975. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806962106>
- Stokkan, K.-A., Yamazaki, S., Tei, H., Sakaki, Y., Menaker, M., 2001. Entrainment of the Circadian Clock in the Liver by Feeding. *Science* 291, 490–493. <https://doi.org/10.1126/science.291.5503.490>

- Strowski, M.Z., Parmar, R.M., Blake, A.D., Schaeffer, J.M., 2000. Somatostatin Inhibits Insulin and Glucagon Secretion via Two Receptor Subtypes: An in Vitro Study of Pancreatic Islets from Somatostatin Receptor 2 Knockout Mice*. *Endocrinology* 141, 111–117. <https://doi.org/10.1210/endo.141.1.7263>
- Stuenkel, E.L., Machen, T.E., Williams, J.A., 1988. pH regulatory mechanisms in rat pancreatic ductal cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 254, G925–G930. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1988.254.6.G925>
- Suba, K., Patel, Y., Martin-Alonso, A., Hansen, B., Xu, X., Roberts, A., Norton, M., Chung, P., Shrewsbury, J., Kwok, R., Kalogianni, V., Chen, S., Liu, X., Kalyviotis, K., Rutter, G.A., Jones, B., Minnion, J., Owen, B.M., Pantazis, P., Distaso, W., Drucker, D.J., Tan, T.M., Bloom, S.R., Murphy, K.G., Salem, V., 2024. Intra-islet glucagon signalling regulates beta-cell connectivity, first-phase insulin secretion and glucose homeostasis. *Mol Metab* 85, 101947. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2024.101947>
- Sujino, M., Masumoto, K., Yamaguchi, S., Horst, G.T.J. van der, Okamura, H., Inouye, S.-I.T., 2003. Suprachiasmatic Nucleus Grafts Restore Circadian Behavioral Rhythms of Genetically Arrhythmic Mice. *Current Biology* 13, 664–668. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00222-7](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00222-7)
- Sutherland, E.W., de Duve, Christian., 1948. ORIGIN AND DISTRIBUTION OF THE HYPERGLYCEMIC-GLYCOGENOLYTIC FACTOR OF THE PANCREAS. *Journal of Biological Chemistry* 175, 663–674. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)57183-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)57183-0)
- *Takahashi, J.S., 2017. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet* 18, 164–179. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.150>
- Taparel, D., Susini, C., Esteve, J.P., Diaz, J., Cazaubon, C., Vaysse, N., Ribet, A., 1985. Somatostatin analogs: Correlation of receptor affinity with inhibition of cyclic AMP formation in pancreatic acinar cells. *Peptides* 6, 109–114. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(85\)90085-3](https://doi.org/10.1016/0196-9781(85)90085-3)
- *Thorens, B., 2015. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* 58, 221–232. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3451-1>
- Tomita, R., 2009. Relationship between interdigestive migrating motor complex and gut hormones in human. *Hepatogastroenterology* 56, 714–717.
- Triqueneaux, G., Thenot, S., Kakizawa, T., Antoch, M.P., Safi, R., Takahashi, J.S., Delaunay, F., Laudet, V., 2004. The orphan receptor Rev-erba gene is a target of the circadian clock pacemaker. <https://doi.org/10.1677/jme.1.01554>

- Turek, F.W., Joshu, C., Kohsaka, A., Lin, E., Ivanova, G., McDearmon, E., Laposky, A., Olson, S., Easton, A., Jensen, D.R., Eckel, R.H., Takahashi, J.S., Bass, J., 2005. Obesity and Metabolic Syndrome in Circadian Clock Mutant Mice. *Science* 308, 1043–1045. <https://doi.org/10.1126/science.1108750>
- Vetter, C., Dashti, H.S., Lane, J.M., Anderson, S.G., Schernhammer, E.S., Rutter, M.K., Saxena, R., Scheer, F.A.J.L., 2018. Night Shift Work, Genetic Risk, and Type 2 Diabetes in the UK Biobank. *Diabetes Care* 41, 762–769. <https://doi.org/10.2337/dc17-1933>
- Wagner, M., Lührs, H., Klöppel, G., Adler, G., Schmid, R.M., 1998. Malignant transformation of duct-like cells originating from acini in transforming growth factor transgenic mice. *Gastroenterology* 115, 1254–1262. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(98\)70098-8](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(98)70098-8)
- Wang, J., Novak, I., 2013. Ion transport in human pancreatic duct epithelium, Capan-1 cells, is regulated by secretin, VIP, acetylcholine, and purinergic receptors. *Pancreas* 42, 452–460. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e318264c302>
- Wang, Y., Lin, H., Hao, N., Zhu, Z., Wang, D., Li, Y., Chen, H., Zhu, Y., Han, X., 2015. Forkhead box O1 mediates defects in palmitate-induced insulin granule exocytosis by downregulation of calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase expression in INS-1 cells. *Diabetologia* 58, 1272–1281. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3561-4>
- Welsh, D.K., Yoo, S.-H., Liu, A.C., Takahashi, J.S., Kay, S.A., 2004. Bioluminescence Imaging of Individual Fibroblasts Reveals Persistent, Independently Phased Circadian Rhythms of Clock Gene Expression. *Curr Biol* 14, 2289–2295. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.11.057>
- Whiting, L., Stewart, K.W., Hay, D.L., Harris, P.W., Choong, Y.S., Phillips, A.R.J., Brimble, M.A., Cooper, G.J.S., 2015. Glicentin-related pancreatic polypeptide inhibits glucose-stimulated insulin secretion from the isolated pancreas of adult male rats. *Physiol Rep* 3, e12638. <https://doi.org/10.14814/phy2.12638>
- Yoo, S.-H., Mohawk, J.A., Siepkka, S.M., Shan, Y., Huh, S.K., Hong, H.-K., Kornblum, I., Kumar, V., Koike, N., Xu, M., Nussbaum, J., Liu, X., Chen, Z., Chen, Z.J., Green, C.B., Takahashi, J.S., 2013. Competing E3 Ubiquitin Ligases Govern Circadian Periodicity by Degradation of CRY in Nucleus and Cytoplasm. *Cell* 152, 1091–1105. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.055>
- Zhang, Haonan, Qiao, A., Yang, D., Yang, L., Dai, A., de Graaf, C., Reedtz-Runge, S., Dharmarajan, V., Zhang, Hui, Han, G.W., Grant, T.D., Sierra, R.G., Weierstall, U., Nelson, G., Liu, W., Wu, Y., Ma, L., Cai, X., Lin, G., Wu, X., Geng, Z., Dong, Y., Song, G., Griffin, P.R., Lau, J., Cherezov, V., Yang, H., Hanson, M.A., Stevens, R.C., Zhao,

- Q., Jiang, H., Wang, M.-W., Wu, B., 2017. Structure of the full-length glucagon class B G-protein-coupled receptor. *Nature* 546, 259–264. <https://doi.org/10.1038/nature22363>
- Zhao, Y., Zhang, Y., Zhou, M., Wang, S., Hua, Z., Zhang, J., 2012. Loss of *mPer2* increases plasma insulin levels by enhanced glucose-stimulated insulin secretion and impaired insulin clearance in mice. *FEBS Letters* 586, 1306–1311. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.03.034>
- Zheng, B., Albrecht, U., Kaasik, K., Sage, M., Lu, W., Vaishnav, S., Li, Q., Sun, Z.S., Eichele, G., Bradley, A., Lee, C.C., 2001. Nonredundant Roles of the *mPer1* and *mPer2* Genes in the Mammalian Circadian Clock. *Cell* 105, 683–694. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00380-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00380-4)
- Zheng, B., Larkin, D.W., Albrecht, U., Sun, Z.S., Sage, M., Eichele, G., Lee, C.C., Bradley, A., 1999. The *mPer2* gene encodes a functional component of the mammalian circadian clock. *Nature* 400, 169–173. <https://doi.org/10.1038/22118>
- Zhu, W., Tanday, N., Flatt, P.R., Irwin, N., 2023. Pancreatic polypeptide revisited: Potential therapeutic effects in obesity-diabetes. *Peptides* 160, 170923. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170923>