

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Jessica Malfatti**

Specifikace a diferenciacce buněk v průběhu vývoje pankreatu  
Specification and differentiation of cells in pancreatic development

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce:  
RNDr. Gabriela Pavlínková, Ph.D.

Praha, 2019

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou 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.

V Praze, 9. 5. 2019

.....

Jessica Malfatti

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Gabriele Pavlíkové, Ph.D. za ochotný přístup a konzultace týkající se mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Romaně Bohuslavové, Ph.D. za cenné rady, připomínky, a především morální podporu. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za veškerou podporu během studia.

## **Abstrakt**

Pankreatická tkáň se dělí na exokrinní a endokrinní část. Exokrinní obsahuje acinární buňky, které produkují trávicí enzymy, a duktální buňky tvořící síť kanálků pro export enzymů do duodena. Endokrinní část tvoří Langerhansovy ostrůvky obsahující 5 typů buněk:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  a PP-buňky produkující glukagon, inzulín, somatostatin, ghrelin a pankreatický polypeptid. Vývoj pankreatu je rozdělen na primární, sekundární a terciální tranzici. Nejdůležitějším specifikačním transkripčním faktorem pro doménu pankreatu během primární tranzice je pankreatický duodenální homeoboxový gen 1. Pro specifikaci a diferenciaci acinárních buněk je nezbytný pankreatický transkripční faktor 1A. Všechny prekurzory endokrinních buněk exprimují neurogenin 3, který je specifikačním faktorem endokrinní tkáně. Diferenciace a regulace funkce endokrinních buněk se účastní velké množství transkripčních faktorů. V případě absence anebo dysfunkce některého transkripčního faktoru může docházet k patologiím jako je *diabetes mellitus*, karcinom pankreatu nebo pankreatitida.

## **Klíčová slova**

Pankreas, Langerhansovy ostrůvky, inzulín, glukagon, vývoj, diferenciace, diabetes

## **Abstract**

Pancreas is divided into exocrine and endocrine tissue. The exocrine part contains acinar cells, which produce digestive enzymes, and ductal cells that help with their transportation to the duodenum. The islets of Langerhans form the endocrine part and consist of 5 types of cells;  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , and PP-cells, producing hormones glucagon, insulin, somatostatin, ghrelin and pancreatic polypeptide, respectively. Pancreas development is divided into primary, secondary and tertiary transition. Many transcription factors participate in the cell specification and differentiation processes. Pancreatic duodenal homeobox 1 specifies the pancreatic domain in primary transition. Pancreas-specific transcription factor 1A is important for the specification and differentiation of acinar cells. All endocrine cell precursors express Neurogenin 3, a key specification factor of endocrine cells. A large number of transcription factors regulate differentiation of endocrine cells as well as their function. Absence or dysfunction of some transcription factors have been associated with pathologies, for example *diabetes mellitus*, pancreatic carcinoma or pancreatitis.

## **Key words**

Pancreas, islets of Langerhans, insulin, glucagon, development, differentiation, diabetes

## Seznam zkratek

ARX	Aristaless related homeobox gene	„Aristaless related“ homeoboxový gen
DM	<i>Diabetes mellitus</i>	<i>diabetes mellitus</i>
E	Embryonic day	embryonální den
GLUT-2	Glucose transporter type 2	glukózový transportér typu 2
HNF-1 $\alpha$	Hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$	hepatocytární nukleární faktor 1 $\alpha$
ISL1	ISL LIM homeobox 1	ISL LIM homeoboxový gen 1
MAFA	Transcription factor MafA	transkripční faktor MafA
MAFB	Transcription factor MafB	transkripční faktor MafB
MODY	Maturity-onset diabetes of the young	diabetes s počátkem projevu v dětství
mRNA	Messenger ribonucleic acid	mediátorová ribonukleová kyselina
NEUROD1	Neuronal differentiation 1	neurogení diferenciací faktor 1
NEUROG3	Neurogenin 3	neurogenin 3
NKX2-2	NK2 homeobox 2	NK2 homeoboxový gen 2
NKX6-1	NK6 homeobox 1	NK6 homeoboxový gen 1
P	Postnatal day	postnatální den
PAX4	Paired domain gene 4	párová doména transkripčního faktoru 4
PAX6	Paired domain gene 6	párová doména transkripčního faktoru 6
PDX1	Pancreatic duodenal homeobox 1	pankreatický a duodenální homeoboxový gen 1
PTF1A	Pancreas-specific transcription factor 1A	pankreatický transkripční faktor 1A
T1D	Type 1 diabetes	diabetes prvního typu
T2D	Type 2 diabetes	diabetes druhého typu

## Obsah

1. Úvod.....	1
2. Pankreas .....	2
3. Exokrinní část pankreatu.....	3
3.1 Acinární buňky .....	3
3.2 Duktální buňky .....	3
4. Endokrinní část pankreatu.....	4
4.1 $\alpha$ -buňky.....	4
4.2 $\beta$ -buňky.....	5
4.3 $\delta$ -buňky.....	5
4.4 $\varepsilon$ -buňky .....	6
4.5 PP-buňky .....	6
5. Vývoj pankreatu .....	7
5.1 Období primární tranzice.....	7
5.2 Období sekundární tranzice.....	9
5.3 Období terciální tranzice .....	9
6. Specifikace a diferenciacie buněk pankreatu .....	10
6.1 Pankreatický a duodenální homeoboxový gen 1 ( <i>Pdx1</i> ).....	11
6.2 Pankreatický transkripční faktor 1A (PTF1A) .....	11
6.3 Neurogenin 3 (NEUROG3).....	11
6.4 Transkripční faktory NKX homeoboxových genů .....	12
6.5 ISLET1 (ISL1).....	13
6.6 Párová doména transkripčního faktoru 4 (PAX4) .....	13
6.7 „Aristaless related“ homeoboxový gen ( <i>Arx</i> ).....	14
6.8 Párová doména transkripčního faktoru 6 (PAX6) .....	15
6.9 Neurogenin 1 (NEUROD1).....	15
6.10 Transkripční faktory MAFA (MAFA) a MAFB (MAFB) .....	17
7. Patologie.....	18
7.1 Diabetes mellitus .....	18
7.2 Karcinom pankreatu .....	19
7.3 Pankreatitida .....	20
8. Závěr.....	21

9. Seznam použité literatury .....22



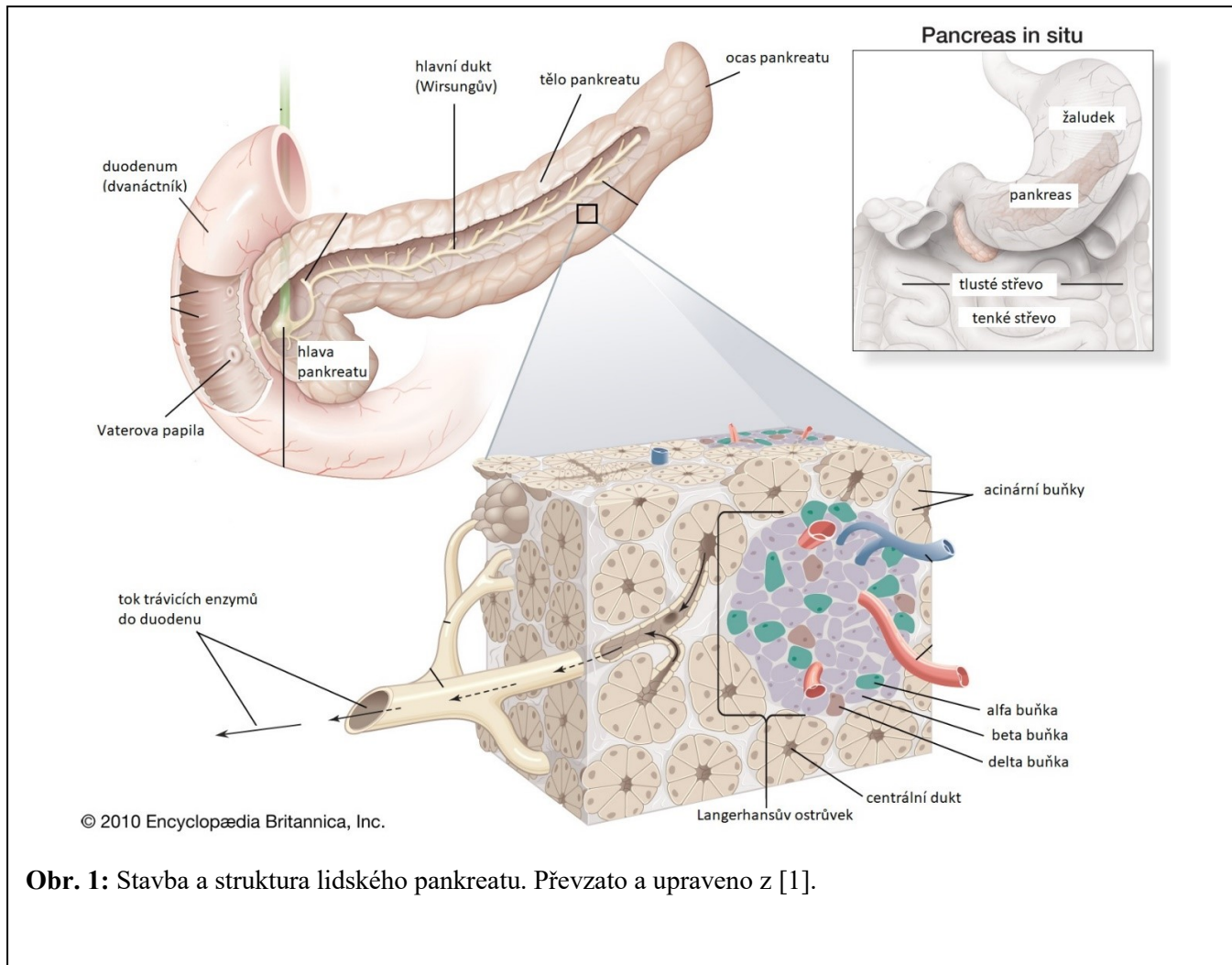
## 1. Úvod

Pankreas je velmi důležitý orgán, produkující trávicí enzymy a důležité hormony, které jsou nezbytné pro správné fungování celého organismu. Pankreatická tkáň je tvořena několika typy buněk, přičemž každý typ má svou specifickou funkci. Pankreas se dělí na exokrinní a endokrinní část. Exokrinní tkáň je tvořena acinárními buňkami, které produkují trávicí enzymy, a duktálními buňkami, které tvoří bohatou síť kanálků, jimiž se dostávají enzymy do duodena. Buňky endokrinní tkáň tvoří Langerhansovy ostrůvky. Skládají se z 5 typů buněk:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  a PP produkujících glukagon, inzulin, somatostatin, ghrelin a pankreatický polypeptid. Největší část Langerhansova ostrůvku představují  $\beta$ -buňky. Specifikace a diferenciací buněk v průběhu vývoje pankreatu je velmi složitý proces, kterého se účastní mnoho transkripčních faktorů. Mutace v genech kódujících tyto faktory mohou poškodit vývoj a jsou často příčinou různých patologií. Kromě genetických faktorů je důležitá i správná životospráva.

Mezi nejznámější patologie patří *diabetes mellitus*. Lidí trpících tímto onemocněním každým rokem přibývá, zejména roste počet pacientů s diabetem 2. typu. Velmi nebezpečný je také karcinom pankreatu, jelikož je těžké ho identifikovat v raném stádiu. To je hlavním důvodem, proč většina lidí na tuto patologii zemře. Dalším častým onemocněním jsou pankreatitidy, které způsobuje hlavně vysoká konzumace alkoholu. Identifikace faktorů účastnících se vývoje a diferenciací buněk pankreatu je důležité pro pochopení vzniku onemocnění, lepší diagnózu a možnou léčbu.

## 2. Pankreas

Pankreas je důležitý orgán trávicí soustavy. U lidí se nachází v břišní dutině za pobřížnicí pod játry. Skládá se z hlavy, těla a ocasu (Obr. 1). Pankreas ústí do duodena, ke kterému je připojen hlavou.



**Obr. 1:** Stavba a struktura lidského pankreatu. Převzato a upraveno z [1].

Pankreas je žláza s vnitřní sekrecí a skládá se ze dvou částí, exokrinní a endokrinní. Exokrinní část je tvořena acinárními a duktálními buňkami a je nezbytná pro sekreci trávicích enzymů do střev [2]\*. Endokrinní část pankreatu je tvořena Langerhansovými ostrůvky, které se skládají z několika typů buněk, jež sekretují hormony do krve.

Vzhledem k tomu, že je vývoj pankreatu nejlépe popsán na myším modelu, i tato práce vychází převážně z poznatků získaných studiem jednotlivých transkripčních faktorů na myších modelech.

### **3. Exokrinní část pankreatu**

Exokrinní část pankreatu je tvořena acinárními a duktálními buňkami, které jsou seskupeny do útvarů zvaných aciny, jež představují přibližně 90 % objemu dospělého pankreatu [3]\*. Exokrinní funkcí pankreatu je vnější sekrece enzymů do duodena v podobě neaktivních proenzymů. K aktivaci těchto proenzymů dochází v duodenu, kde pomáhají s trávením. Kromě enzymů buňky pankreatu produkují i kapalinu bohatou na hydrogenuhličitany, které zajišťují alkalické pH, a může v duodenu dobře neutralizovat kyselé žaludeční šťávy. Spolu s enzymy se této kapalině říká pankreatická šťáva. Neenzymatické složky pankreatické šťávy jsou tvořeny centroacinárními buňkami, které se nacházejí na rozhraní mezi acinárními a duktálními buňkami. Sekrece pankreatické šťávy je ovlivněna hormonálně pomocí sekretinu a cholecystokininu [4, 5]. Sekretin je produkován v duodenu jako odpověď na nízké pH způsobené procházející tráveninou ze žaludku. Ta má velmi kyselé pH, jelikož obsahuje kyselinu chlorovodíkovou. Vzniklý sekretin poté stimuluje pankreas, aby začal produkovat pankreatickou šťávu, která snižuje pH v duodenu. Cholecystokinin je produkován v duodenu ihned po jídle a působí hlavně na žlučník, u kterého stimuluje produkci žluči [6]. Zároveň také působí na pankreas, u kterého stimuluje produkci pankreatické šťávy, aby se dostaly trávicí hormony do duodena [7]\*.

#### **3.1 Acinární buňky**

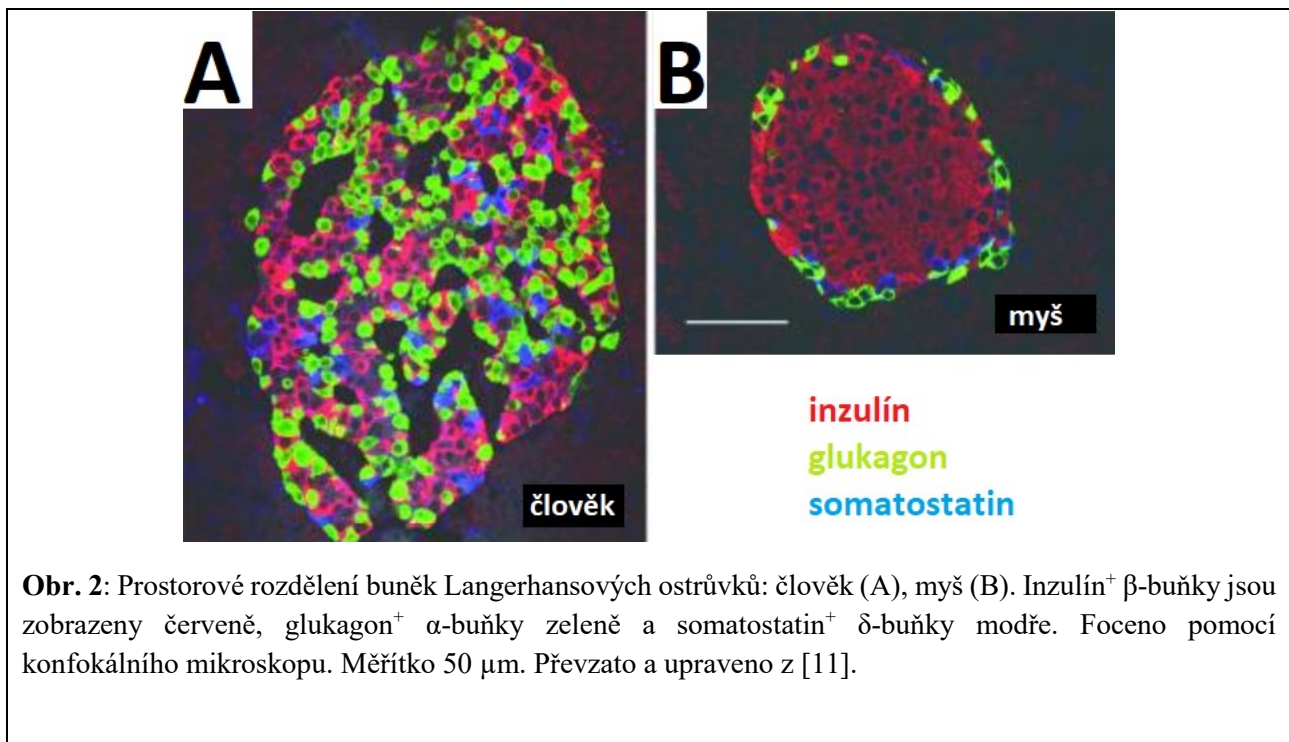
Acinární buňky jsou buňky pyramidového tvaru a obsahují zymogenní granula [2]\*. Granula jsou plná proenzymů, zejména proteáz, lipáz, amyláz a nukleáz, které po aktivaci v duodenu štěpí natrávenou potravu ze žaludku. V acinárních buňkách se tvoří obrovské množství proenzymů, a proto potřebují mít dobře vyvinuté endoplazmatické retikulum bohaté na ribozomy a Golgiho aparát. V ribozomech se vytvoří proenzymy, následuje jejich postranslační modifikace, po níž jsou uchovávány v zymogenních granulích, z nichž se exocytózou dostávají proenzymy do duktů a putují do střev.

#### **3.2 Duktální buňky**

Duktální buňky vytváří hustou a propojenou síť. Jsou důležité pro transport proenzymů spolu s pankreatickou šťávou do duodena. Diferenciace acinárních a duktálních buněk probíhá okolo 15. embryonálního dne (E15) [8].

## 4. Endokrinní část pankreatu

Endokrinní část pankreatu je tvořena několika typy buněk, které se vzájemně shlukují a tím vytvářejí útvary zvané Langerhansovy ostrůvky [9]\*. Langerhansovy ostrůvky obsahují pět typů buněk:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  a PP-buňky produkující glukagon, inzulín, somatostatin, ghrelin a pankreatický polypeptid. Langerhansovy ostrůvky tvoří pouze 1–2 % celkového objemu dospělého pankreatu [3]\*. Vzhledem k tomu, že jde o žlázu s vnitřní sekrecí, jsou Langerhansovy ostrůvky prokrvené a hormony z buněk jsou sekretovány přímo do krevního řečiště. Každý typ buněk produkuje určitý specifický hormon. Jednotlivé hormony produkované buňkami endokrinní části pankreatu ovlivňují a regulují metabolismus. U myši je organizované prostorové rozdělení buněk v ostrůvcích [10]. Uvnitř ostrůvku se nachází spíše  $\beta$ -buňky a na okrajích ostatní typy buněk. U lidí toto rozdělení není tak dobře patrné, jelikož jsou buňky v ostrůvku více chaoticky rozprostřeny (Obr.2). Je to také dáno odlišným poměrem typů buněk v ostrůvcích. U myši je mnohem větší zastoupení  $\beta$ -buněk než u člověka (Obr. 3).



### 4.1 $\alpha$ -buňky

Prvním typem buněk Langerhansových ostrůvků jsou  $\alpha$ -buňky, které se u myši objevují v E9,5 [12]. Produkují hormon glukagon, který reaguje na hladinu glukózy v krvi. Pokud je hladina

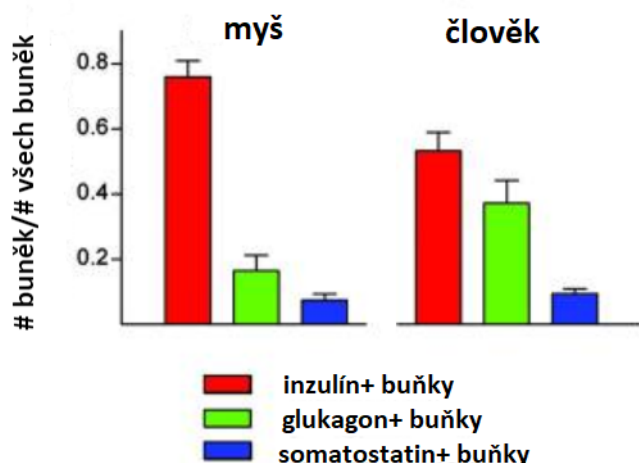
glukózy nízká, glukagon spouští glykogenolýzu, což znamená, že se štěpí glykogen uložený v játrech na glukózu, a tak se hladina glukózy znovu vyrovná. Glukagon spouští i glukoneogenezi, při které tělo při hladovění vyrábí glukózu z laktátu nebo z aminokyselin. Glukagon má tedy opačnou funkci než inzulín, protože zvyšuje hladinu glukózy v krvi. Kromě glukagonu mohou  $\alpha$ -buňky také koexprimovat hormon ghrelin, tedy existují  $\alpha$ -buňky produkující pouze glukagon, nebo produkující oba hormony [13].

#### 4.2 $\beta$ -buňky

Buňky tvořící jádro Langerhansových ostrůvků se jmenují  $\beta$ -buňky. Produkují hormon inzulín a s ním i jeho antagonistu amylin. Inzulín funguje jako antagonist glukagonu, snižuje totiž hladinu glukózy v krvi. Uvolňuje se neustále, ale pokud se výrazně zvýší hladina glukózy v krvi,  $\beta$ -buňky začnou sekretovat více inzulinu, který zajistí využití glukózy buňkami, které jsou na inzulinu závislé. Glukóza je v buňkách využita pro energetický metabolismus, nebo přeměněna na glykogen, který slouží jako zásoba cukru. Amylin tlumí sekreci glukagonu  $\alpha$ -buňkami [14]. Zároveň zpomaluje vyprazdňování žaludku, což má za následek pomalejší vstřebávání glukózy. Také působí na centrum sytosti, takže se cítíme nasyceni.  $\beta$ -buňky produkující inzulin se objevují u myši kolem E13,5 a maturují až v devátém postnatálním dni (P9) [15]. Maturované  $\beta$ -buňky mají lépe nastavenou prahovou hodnotu pro produkci inzulinu, kdežto nezralé  $\beta$ -buňky produkují inzulin i při nízkých hodnotách glukózy.

#### 4.3 $\delta$ -buňky

Dalšími buňkami v ostrůvcích jsou  $\delta$ -buňky, které produkují hormon somatostatin [16-18]. Ten má účinky jak na trávení a ostatní hormony, tak na nervovou soustavu, jelikož také ovlivňuje pocit hladu. Jeho množství se zvyšuje u hladovějících, ale snižuje se po jídle. Za stimulaci sekrece somatostatinu je zodpovědný glukagon  $\alpha$ -buněk, který parakrinně ovlivňuje  $\delta$ -buňky [19, 20]. Somatostatin inhibuje sekreci glukagonu a inzulinu. Dále tlumí uvolňování růstového hormonu, takže jeho derivát je možné využívat k léčbě akromegalie [21]. Rovněž tlumí sekreci hormonů důležitých pro trávení, jako je například gastrin, sekretin a cholecystokinin. První  $\delta$ -buňky můžeme u myši detekovat okolo E15,5 [22]\*.



**Obr. 3:** Rozdílné zastoupení buněk v ostrůvcích myši a člověka. Červeně jsou zobrazeny  $\beta$ -buňky, zeleně  $\alpha$ -buňky a modře  $\delta$ -buňky. Převzato a upraveno z [11].

#### 4.4 $\epsilon$ -buňky

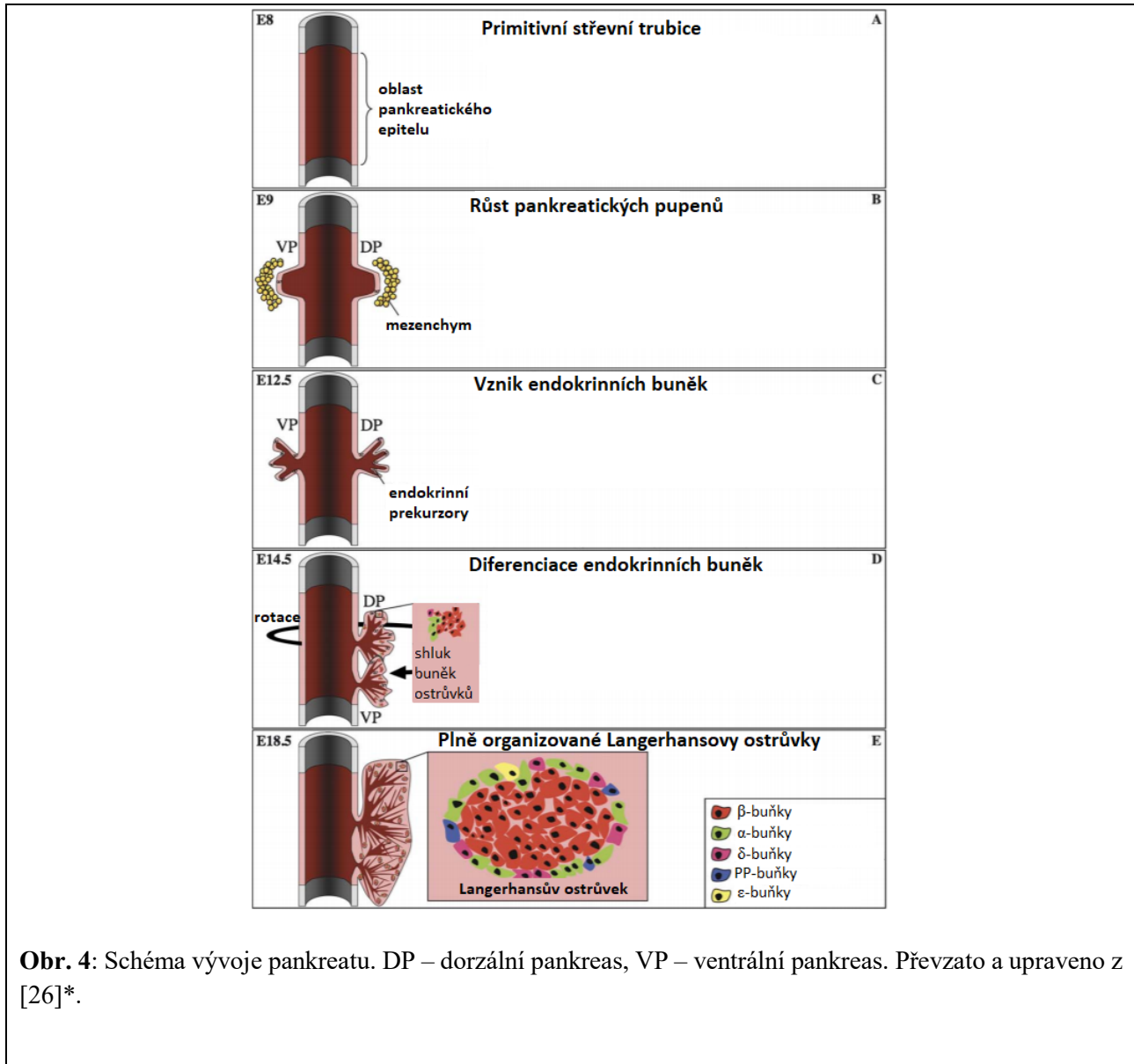
Buňky ostrůvků produkující hormon ghrelin se jmenují  $\epsilon$ -buňky a objevují se ve vyvíjejícím se pankreatu u myši v E10,5 [13]. Ghrelin může být také koexprimován  $\alpha$ -buňkami a zároveň mohou některé  $\epsilon$ -buňky koexprimovat glukagon. Ghrelin redukuje sekreci inzulínu  $\beta$ -buněk [23]. Dále navozuje chuť k jídlu a je také ligandem receptoru pro sekreci růstového hormonu [24].

#### 4.5 PP-buňky

PP-buňky produkují pankreatický polypeptid, jehož hladina se prudce navyšuje nejvíce po jídle [25]. To způsobí, že už člověk nemá chuť k jídlu. PP- buňky u obézních lidí produkují menší množství pankreatického polypeptidu, což má za následek, zvýšenou chuť k jídlu a sklon k přejídání. Naopak u lidí trpících anorexií a velmi hubených lidí je detekováno zvýšené množství pankreatického polypeptidu. První diferencované PP-buňky jsou v myším pankreatu detekovatelné až krátce před narozením v E18 [22]\*.

## 5. Vývoj pankreatu

Vývoj pankreatu je velmi složitý proces regulovaný velkým množstvím transkripčních faktorů. V 9,5 dochází k vytvoření dvou vychlípenin primitivní střevní trubice a vytvoření dvou pupenů, ze kterých se následně vyvíjí dorsální a ventrální část pankreatu (Obr. 4) [26]\*. Celý vývoj můžeme rozdělit do 3 stádií, primární, sekundární a terciální tranzice.

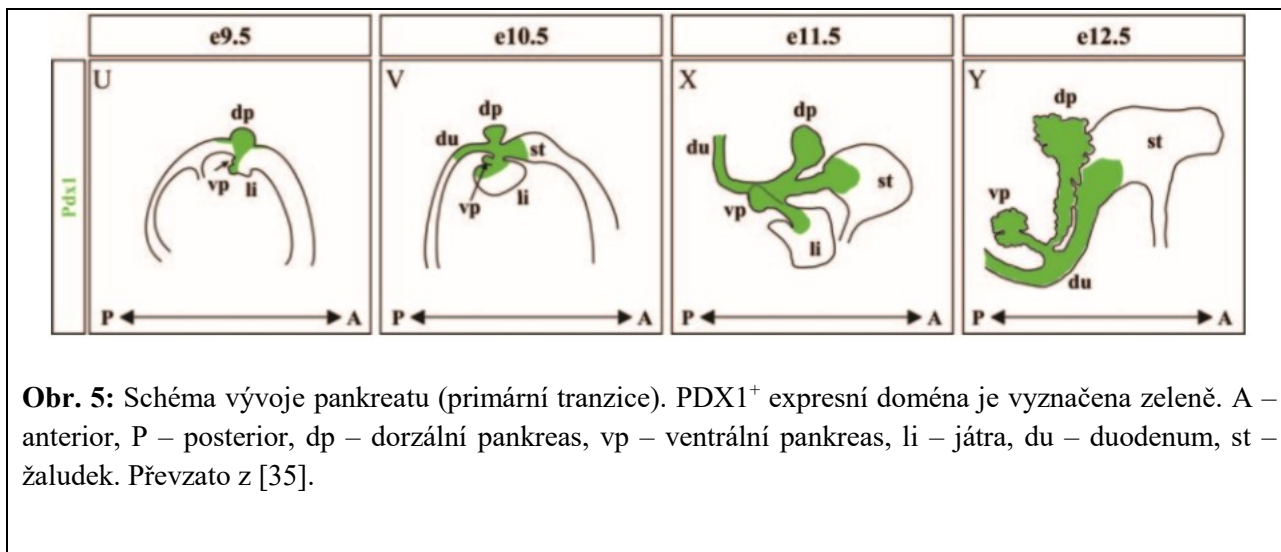


**Obr. 4:** Schéma vývoje pankreatu. DP – dorzální pankreas, VP – ventrální pankreas. Převzato a upraveno z [26]\*.

### 5.1 Období primární tranzice

Jako období primární tranzice je označován vývoj pankreatu ve dnech E9,5 až E12,5, kdy dochází ke specifikaci buněk vyvíjejícího se pankreatu (Obr. 5) [27, 28]. Od E7,5 přibližně do E9,5

se formuje z endodermu primitivní střevní trubice, u které je již patrná antero-posteriorní symetrie. V E8,5 je detekovatelná exprese pankreatického a duodenálního homeoboxu 1 (PDX1) v oblastech, kde se následně vytvoří pankreatické pupeny. Vývoj pankreatu začíná v E9,5, kdy se dorzální část endodermu začne ztlušťovat a vychlípí se do okolního mezenchymu dorzální výběžek pankreatu [9]\*. Zhruba o půl dne později se vychlípí i ventrální výběžek pankreatu z ventrální části endodermu. Obě vychlípění jsou však regulována odlišnými transkripčními faktory [29]. S ventrálním výběžkem pankreatu se navíc také začínají formovat další orgány jako například játra. Výběžky v následujících dnech rostou a větví se do struktury připomínající korunu stromu [30]. Na okrajích se nachází specifikované multipotentní buňky, ze kterých poté diferencují ostatní typy buněk pankreatu. Uprostřed těchto větví, nebo-li v kmeni, se vyskytují spíše prekurzory endokrinních buněk, ale pravděpodobně také prekurzory buněk duktálních. Je zjištěno, že v dospělosti nejsou nahrazovány  $\beta$ -buňky z multipotentních prekurzorových buněk, ale zejména dělením stávajících  $\beta$ -buněk [31-33]. Pankreas má tedy velmi omezenou možnost kompenzace poškozených buněk, což také vysvětluje, že velikost pankreatu je určována počtem prekurzorových buněk v období embryonálního vývoje [34]. Naopak u jater toto neplatí a je možná rychlá regenerace a kompenzace mrtvých buněk. Primární tranzice je období masivní proliferace buněk. V E12,5 se otočí střevní trubice a oba výběžky pankreatu se setkají a spojí do jednoho orgánu. Z ventrálního výběžku se vyvine část hlavy pankreatu a z dorzálního zbytek pankreatu.



**Obr. 5:** Schéma vývoje pankreatu (primární tranzice). PDX1<sup>+</sup> expresní doména je vyznačena zeleně. A – anterior, P – posterior, dp – dorzální pankreas, vp – ventrální pankreas, li – játra, du – duodenum, st – žaludek. Převzato z [35].



## 5.2 Období sekundární tranzice

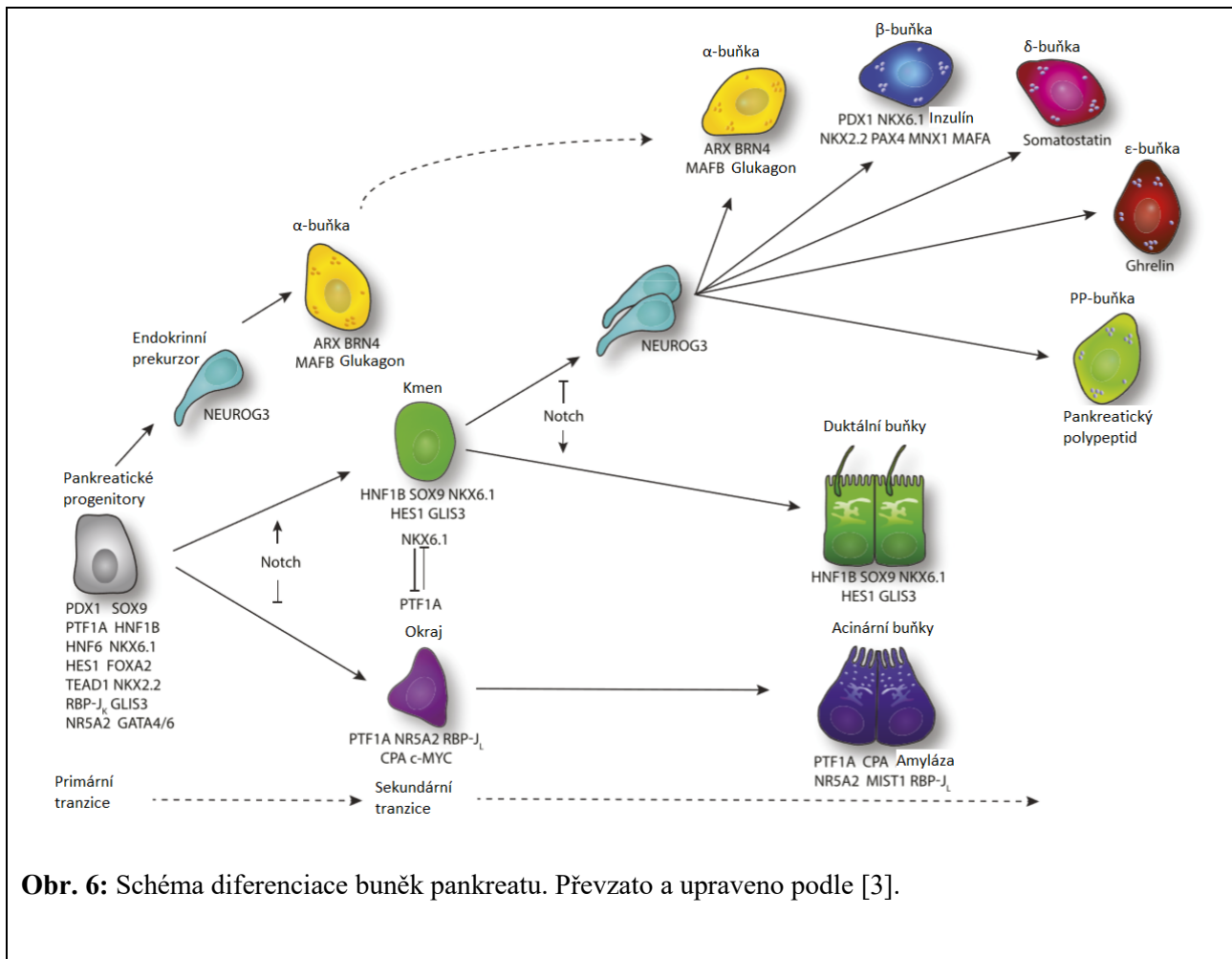
Sekundární tranzice je období, které se vyznačuje diferenciací  $\beta$ -buněk a acinárních buněk [8]. Začíná okolo E12,5 a končí v E16,5. Multipotentní prekurzory jsou drženy v nediferenciovaném stavu pomocí Notch systému [36]. Již v průběhu primární tranzice je možné detekovat buňky produkující glukagon a inzulín, ale chybí jim důležité markery, které později exprimují diferencované buňky Langerhansových ostrůvků [37-39]. Nejsou to tedy prekurzory budoucích maturovaných  $\alpha$ - a  $\beta$ -buněk. Diferenciace a vývoj buněk pankreatu probíhá tedy hlavně až v období sekundární tranzice. Dochází k bohatému větvení celého orgánu včetně složitého duktálního systému.

## 5.3 Období terciální tranzice

Terciální tranzice začíná v E16,5 a probíhá až do P9 [40]. Během tohoto období buňky migrují a formují Langerhansovy ostrůvky. Na konci terciální tranzice se stává pankreas plně funkční a vyvinutý. Po narození i během života se ještě mění [41]. Zejména se mění odpovědi  $\beta$ -buněk na hladinu glukózy v krvi, jelikož už mají mnohem lépe přizpůsobenou prahovou hodnotu pro produkci inzulínu. Navíc se také mění počet těchto buněk například během těhotenství, jelikož je potřeba produkovat více inzulínu. Je zvýšená proliferace a také snížen práh odpovědi na glukózu. To znamená, že buňky produkují inzulín již při nižší koncentraci glukózy. Proliferace  $\beta$ -buněk je nejvyšší krátce po narození, ale zároveň je také vysoká jejich apoptóza, což je spojené s dozráváním  $\beta$ -buněk a konečným uspořádáním Langerhansových ostrůvků [42, 43].

## 6. Specifikace a diferenciacie buněk pankreatu

Specifikace je proces, při kterém buňky získávají určitý směr a utváří se buněčný program, který určuje, jak se budou dále vyvíjet. Diferenciací se poté ze specifických prekurzorových buněk stávají buňky funkčně specializované [44]\*. Proces specifikace a diferenciacie je velmi komplikovaný a je řízený velkým množstvím transkripčních faktorů. Expresí transkripčních faktorů v průběhu embryonálního vývoje je klíčová pro správnou organogenezi, diferenciaci a zrání buněk. Během vývoje pankreatu dochází k diferenciaci prekurzorových buněk na specializované buňky exokrinní a endokrinní části pankreatu (Obr. 6). Pokud je některá dráha narušena, mohou vznikat různé patologie, a proto je diferenciacie zásadní při správném vývoji orgánu.



**Obr. 6:** Schéma diferenciacie buněk pankreatu. Převzato a upraveno podle [3].

## 6.1 Pankreatický a duodenální homeoboxový gen 1 (*Pdx1*)

PDX1 je detekován v E8,5, což je období, kdy začíná primární tranzice [27, 28]. Původně je označován jako inzulínový promotorový faktor 1, jelikož byl poprvé objeven jako transkripční aktivátor inzulínového genu v  $\beta$ -buňkách [45]. Je potřebný pro růst a vývoj pankreatických pupenů [46]. Pokud chybí, vývoj pankreatu je zastaven již v prvních stádiích. Myši s homozygotní delecí tohoto genu se rodí bez pankreatu a umírají několik dní po porodu. Bylo zjištěno, že toto platí i u lidí [47]. Jedinci s homozygotní mutací v *Pdx1* se rodí bez pankreatu, ale se správnou léčbou mohou dále žít. Z PDX1 pozitivních progenitorů vznikají buňky acinární, duktální i buňky Langerhansových ostrůvků [48]. Prvotní glukagon a inzulín produkující buňky jsou však PDX1 negativní, takže mohou vzniknout i u mutantů, ale nevzniknou z nich dospělé maturované buňky [49]. Také mezenchym je nezávislý na PDX1, roste tedy normálně, pouze pankreatické pupeny se dále nevyvíjejí. Tyto výzkumy potvrzují, že je PDX1 nezbytný jak pro počáteční vývoj pankreatu, tak i pro vznik maturovaných pankreatických buněk.

## 6.2 Pankreatický transkripční faktor 1A (PTF1A)

PTF1A je jednou ze tří podjednotek pankreatického transkripčního faktoru 1 [50]. Tato podjednotka bývá nazývána PTF1-P48 a je přítomna v buňkách pankreatických pupenů, které zároveň exprimují i PDX1, zhruba od E10. Společná exprese PDX1 a PTF1A je důležitá pro správný vývoj a diferenciaci pankreatu, zejména pro exokrinní část [51]. Exprese PTF1A je od E16 omezena pouze na acinární buňky, avšak ovlivňuje i endokrinní tkáň. Pokud PTF1A chybí, nevytváří se acinární buňky, a tím pádem nemá pankreas exokrinní funkci [52]. Z exokrinních progenitorů se tedy místo toho stávají duodenální buňky. Endokrinní buňky vznikají normálně, ale mají problém s umístěním [53]. Ke konci vývoje se totiž přesunou do mezenchymu sleziny. Homozygotně deleční myši mutanti pro gen *Ptfla* krátce po narození umírají, tato mutace je letální.

## 6.3 Neurogenin 3 (NEUROG3)

Transkripční faktor NEUROG3 je exprimován ve specifikovaných pankreatických endokrinních prekurzorech, ze kterých vznikají všechny typy buněk ostrůvků [54]. Začíná se objevovat v E9,5 a jeho exprese roste až do E15,5 [48, 55]. Poté NEUROG3 exprese klesá spolu se snižujícím se množstvím NEUROG3 pozitivních prekurzorů, které diferencují v endokrinní buňky. NEUROG3 pozitivní buňka není tedy buňka kmenová, která by dále proliferovala

a pomáhala s obnovou buněk, ale pouze prekurzor, ze kterého se vytváří diferencované buňky, které se dále dělí. Endokrinní prekurzory kromě NEUROG3 koexprimují také další faktory, které pak určují, jaká hormon-produkující buňka se z nich stane [56]. Pokud NEUROG3 chybí, nevytváří se endokrinní část pankreatu, tedy kompletně chybí Langerhansovy ostrůvky. Naopak acinární a duktální buňky se vyvíjejí normálně. Myši s mutací v genu *Neurog3* jsou diabetické a umírají pár dní po narození.

#### 6.4 Transkripční faktory NKX homeoboxových genů

Vývoje pankreatu se účastní také transkripční faktory z rodiny NKX homeoboxových genů; NK2 homeoboxový gen 2 (*Nkx2-2*) a NK6 homeoboxový gen 1 (*Nkx6-1*).

NKX2-2 je exprimován od E9,5 v pankreatických pupenech a NEUROG3 exprimujících buňkách [57]. Jeho exprese přetrvává v diferencovaných  $\alpha$ ,  $\beta$  a PP-buňkách. Je důležitý zejména pro správnou diferenciaci  $\beta$ -buněk, jelikož při homozygotní delecí *Nkx2-2* se tyto inzulín produkující buňky nevytváří a myši umírají krátce po narození z důvodu hyperglykemie. PP a  $\alpha$ -buněk je při této mutaci v organismu méně,  $\epsilon$ -buněk naopak více [13]. Zajímavé je, že se v ostrůvcích nachází velké množství endokrinních buněk, které však neprodukují žádný hormon [57]. Tyto buňky exprimují markery budoucích  $\beta$ -buněk (například exprimují PDX1), ale nejsou plně diferencované. To znamená, že k finální diferenciaci je potřeba právě NKX2-2. NKX2-2 se podílí na diferenciaci  $\beta$ -buněk tím, že aktivuje Neurogenin diferenciací faktor 1 (*Neurod1*) [58]. Naopak pro diferenciaci  $\alpha$ -buněk je potřeba, aby NKX2-2 inaktivoval *Neurod1*. Interakce *Nkx2-2* s *Neurod1* je důležitá pro diferenciaci buněk ostrůvků, jelikož dvojitá homozygotní nulová mutace v obou těchto genech způsobí, že je více  $\alpha$ -buněk a počet  $\epsilon$ -buněk se sníží.  $\beta$ -buňky stále nejsou diferencované, což ukazuje na důležitost těchto genů pro jejich diferenciaci.

NKX6-1 je exprimován přibližně od E10,5 v obou pankreatických pupenech [59]. Během sekundární tranzice se jeho exprese limituje pouze na  $\beta$ -buňky. Buňky zároveň s NKX6-1 koexprimují také NKX2-2 [60]. Při homozygotní delecí tohoto genu se drasticky sníží počet zralých inzulín produkujících buněk. Ostatní hormon-produkující buňky nejsou ovlivněny touto delecí, což potvrzuje, že NKX6-1 je specifický pro  $\beta$ -buňky. Prvotní inzulín produkující buňky, které se objevují v primární tranzici, neexprimují PDX1 ani NKX6-1, tedy nejsou nijak ovlivněny. Delecí genu pro *Nkx6-1* není ovlivněna exprese genu *Nkx2-2*, což znamená, že exprese genu *Nkx6-1* leží po směru exprese, nebo-li „downstream“.

## 6.5 ISLET1 (ISL1)

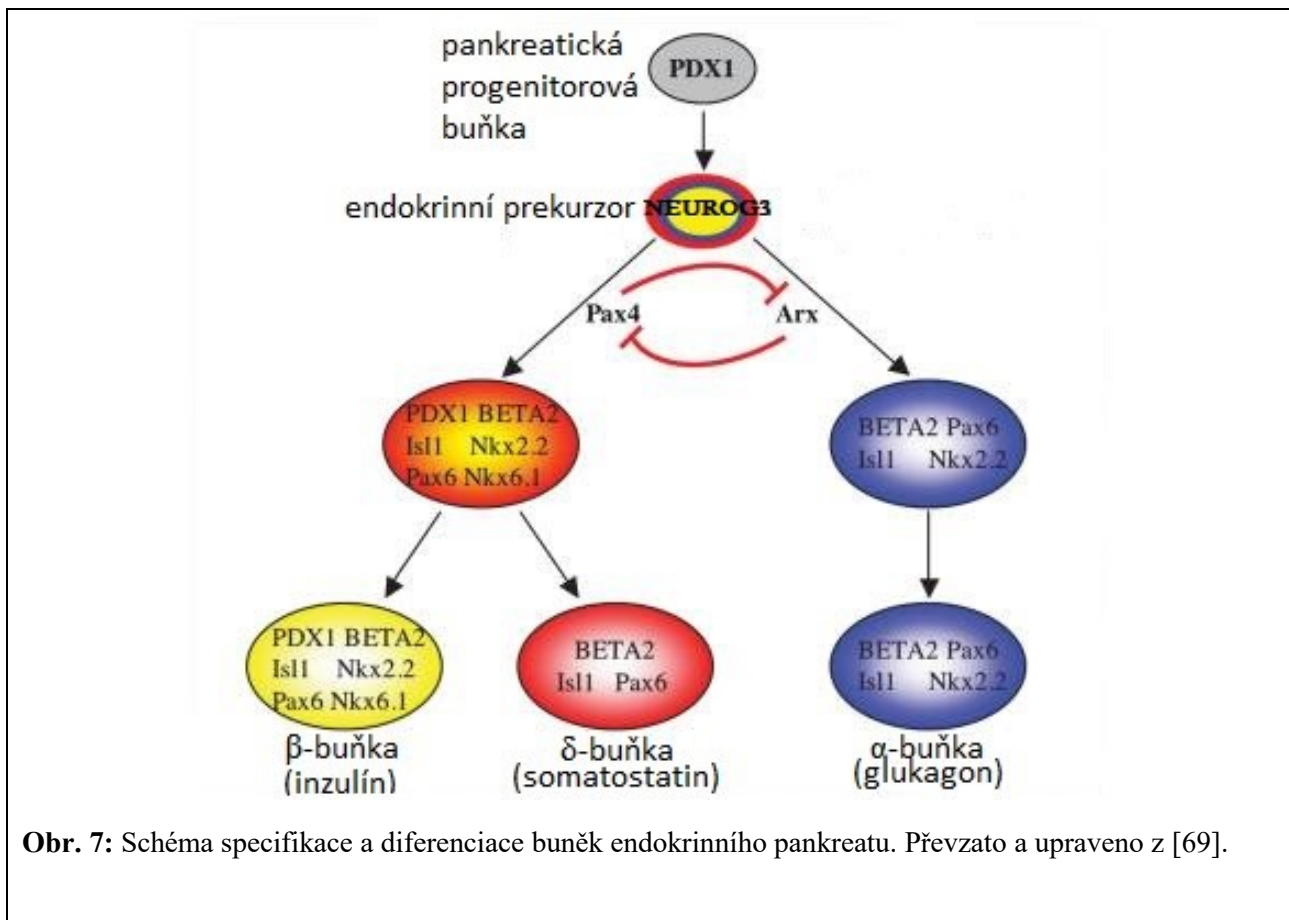
*Islet1*, nebo-li ISL LIM homeoboxový gen 1, se začíná exprimovat v dorzálním pankreatickém pupenu a jeho okolním mezenchymu přibližně v E9 a ve ventrálním pupenu o 1- 2 dny později nikoliv však v okolním mezenchymu [61]. ISL1 je potřebný pro tvorbu dorzálního mezenchymu a buněk Langerhansových ostrůvků [62]. Při homozygotní deleci tohoto genu v E9,5 totiž chybí dorzální mezenchym a první  $\alpha$ -buňky, které delaminují z PDX1 domény v průběhu primární tranzice. Při globální deleci *Isl1* však vývoj embrya končí v E10,5 z důvodu špatného vývoje kardiovaskulárního systému [63]. Z tohoto důvodu je nutné funkci tohoto transkripčního faktoru ve vývoji pankreatu dále zkoumat pomocí tkáňově specifické delece [63-65]. V průběhu sekundární tranzice (v E13,5) byla provedena tkáňově specifická delece genu *Isl1* v PDX1 pozitivních buňkách. Bylo zjištěno, že v důsledku delece *Isl1* nevznikají buňky endokrinní části pankreatu, naopak exokrinní část se vytváří normálně. Exprese *Isl1* je důležitá pro diferenciaci všech hormon-produkujících buněk Langerhansových ostrůvků. ISL1 je také důležitý pro maturaci a proliferaci endokrinních buněk, jelikož při jeho absenci endokrinní prekurzory nedozrávají do funkčních maturovaných endokrinních buněk. Myši jsou diabetické a mají poškozenou strukturu ostrůvků.

## 6.6 Párová doména transkripčního faktoru 4 (PAX4)

PAX4 se objevuje v obou pankreatických pupenech přibližně v E9,5 [66, 67]. Jeho exprese během vývoje stoupá a ke konci embryogeneze klesá, až úplně vymizí. Je důležitý pro diferenciaci  $\beta$  a  $\delta$ -buněk, jelikož při deleci tohoto genu mutantům tyto buňky chybí. Naopak  $\alpha$ -buněk je více. Je to způsobené tím, že PAX4 funguje jako represor exprese ghrelinu a glukagonu, takže když PAX4 chybí, nereprimuje expresi ghrelinu a glukagonu a vznikají preferenčně tyto buňky. Bylo zjištěno, že tento gen je „downstream“ od *Neurog3*, jelikož homozygotní mutanti v *Neurog3* neexprimují *Pax4* [56]. Při homozygotní deleci *Pax4* chybí v období sekundární tranzice marker  $\beta$ -buněk PDX1 [68]. Vzhledem k tomu, že PDX1 funguje jako aktivátor inzulínového genu, chybí logicky i inzulín. PAX4 společně s NKX2-2 je potřebný pro zahájení diferenciaci NEUROG3 pozitivních buněk v  $\beta$ -buňky.

## 6.7 „Aristaless related“ homeoboxový gen (*Arx*)

ARX je důležitý transkripční faktor v diferenciaci endokrinních buněk pankreatu [69]. Ve vyvíjejícím se pankreatu se objevuje od E9,5. Má opačnou funkci než PAX4, jelikož reprimuje diferenciaci prekurzorů v  $\beta$  a  $\delta$ -buňky, a naopak podporuje vznik  $\alpha$  a PP-buněk (Obr. 7). Také leží „downstream“ od *Neurog3*. Myši s mutovaným genem *Arx* produkují více *Pax4* mediátorové ribonukleové kyseliny (mRNA) a myši s mutací v *Pax4* zase produkují více *Arx* mRNA. V prekurzorových buňkách jsou zprvu exprimovány oba faktory, ale časem exprese jednoho převládne, a tím dochází k diferenciaci buď v  $\alpha$  a PP-buňky, nebo v  $\beta$  a  $\delta$ -buňky. Myším s mutací v *Arx* genu chybí maturované  $\alpha$ -buňky, ale mají více  $\beta$  a  $\delta$ -buněk. Počet PP-buněk a celkový počet endokrinních buněk se významně nemění, což znamená, že prekurzorové buňky pouze diferencují v jiné buňky. Při dvojité mutaci v genech *Arx* i *Pax4* chybí  $\alpha$  i  $\beta$ -buňky, ale naopak je více  $\delta$ -buněk [70]. Z toho vyplývá, že PAX4 je důležitý hlavně pro potlačení diferenciace  $\alpha$ /PP-buněk, ale není nutný pro diferenciaci  $\delta$ -buněk.



Obr. 7: Schéma specifikace a diferenciace buněk endokrinního pankreatu. Převzato a upraveno z [69].

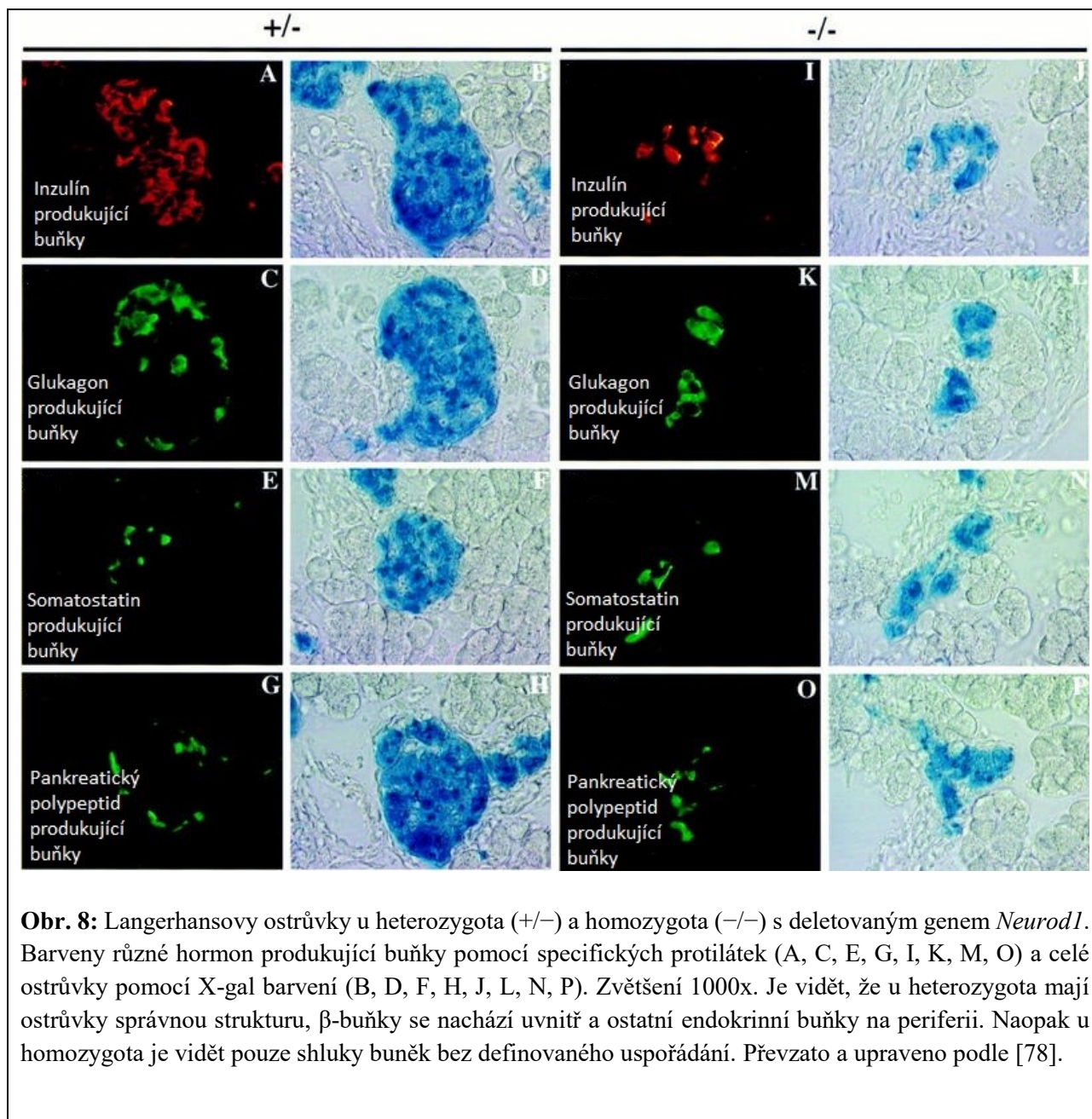
## 6.8 Párová doména transkripčního faktoru 6 (PAX6)

PAX6 je exprimován přibližně od E9 v dorzálním a o den později i ventrálním pupenu pankreatu [71, 72]. Později je exprimován v endokrinních buňkách Langerhansových ostrůvků. V exokrinní části pankreatu není detekován. Kromě pankreatu je PAX6 exprimován v centrálním nervovém systému, oku a čichovém epitelu nosu [73]. Při homozygotní delecí *Pax6* chybí glukagon produkujících  $\alpha$ -buňky a struktura ostrůvků je chaotická, což značí, že PAX6 je nejen důležitý pro diferenciaci  $\alpha$ -buněk, ale hlavně pro správnou formaci Langerhansových ostrůvků [74]. Při mutaci v *Pax6* však dochází ke zvýšení počtu  $\epsilon$ -buněk, což značí, že je PAX6 důležitý pro jejich normální vývoj. Také to dokazuje, že jsou  $\epsilon$ -buňky samostatným typem buněk odlišným od  $\alpha$ -buněk. ARX a PAX4 ovlivňují diferenciaci  $\alpha$ -buněk, ale vůbec neovlivňují počet  $\epsilon$ -buněk. PAX6 je také důležitý pro  $\beta$ -buňky, jelikož při specifickém umlčení *Pax6* pomocí RNA interference v  $\beta$ -buňkách dochází ke snížení exprese důležitých genů pro správnou funkci těchto buněk [75]. Je snížena exprese genů pro inzulin, *Pdx1*, *MafA*, *Nkx6-1*. Myši s homozygotní delecí *Pax6* umírají ihned po porodu [76]. Tkáňově specifická delece *Pax6* v PDX1 pozitivních buňkách prodlouží přežití mutantních myši pouze o pár dní, ale i tak umírají několik dní po porodu z důvodu diabetu. Bylo zjištěno, že u  $\beta$ -buněk těchto mutantů chybí glukózové transportéry typu 2 (GLUT-2) [77]. Ty jsou důležité pro glukózou stimulovanou sekreci inzulinu, a pokud chybí, myši umírají na následky hyperglykemie. Při dvojité delecí *Pax6* a *Pax4* chybí všechny diferenciované endokrinní buňky, tudíž chybí i exprese důležitých hormonů [71]. Exokrinní buňky fungují normálně. Exprese PAX6 a PAX4 je velmi důležitá pro vývoj endokrinních buněk, jelikož při absenci jednoho z těchto transkripčních faktorů nevznikají všechny buňky.

## 6.9 Neurogení diferenciální faktor 1 (NEUROD1)

Transkripční faktor NEUROD1, také dříve nazývaný BETA2, se objevuje ve vyvíjejícím pankreatu od E9,5 a později během vývoje ve všech endokrinních buňkách ostrůvků [78]. V dospělém maturovaném pankreatu je NEUROD1 exprimován výhradně v  $\beta$ -buňkách a v ostatních není detekován [79]. Kromě pankreatu ho také můžeme najít v mozku, jelikož se účastní diferenciace neuronů, a ve střevních buňkách produkujících sekretin a cholecystokinin [78, 80]. NEUROD1 je důležitý zejména jako regulátor exprese inzulinového genu v  $\beta$ -buňkách [81]. Myši s homozygotní delecí genu *Neurod1* mají diabetes, vykazují inzulinovou rezistenci a umírají do týdne po porodu [78]. Tito mutantní nemají správně uspořádané Langerhansovy

ostrůvky, ale pouze menší shluky buněk (Obr. 8). Počet  $\beta$ -buněk se snižuje v E17,5 díky masivní apoptóze, což ukazuje, že je *NEUROD1* důležitý pro správnou diferenciaci a přežívání endokrinních buněk. Acinární buňky u těchto mutantů mají abnormální polaritu a také chybí střevní buňky sekretující sekretin a cholecystokinin. Tyto analýzy ukazují, že delece *Neurod1* kromě endokrinních buněk také ovlivňuje vývoj exokrinní části pankreatu a vývoj duodena.





### 6.10 Transkripční faktory MAFA (MAFA) a MAFB (MAFB)

Transkripční faktory MAFA a MAFB jsou důležité pro specifikaci endokrinních buněk Langerhansových ostrůvků. Aktivují transkripci glukagonu a inzulínu v  $\alpha$  a  $\beta$ -buňkách. MAFB je exprimován hlavně v  $\alpha$ -buňkách produkujících glukagon a přechodně během vývoje také v  $\beta$ -buňkách produkujících inzulín [82]. V dospělém pankreatu je MAFB exprimován pouze v  $\alpha$ -buňkách, kde aktivuje expresi glukagonu. Zda buňky exprimující MAFB budou  $\alpha$ , nebo  $\beta$ -buňky se dá určit zjištěním exprese NKX6-1, jelikož buňky, koexprimující MAFB a NKX6-1 se diferencují v dospělé  $\beta$ -buňky [83, 84]. MAFA je detekovatelný výhradně v  $\beta$ -buňkách. Homozygotně deleční mutanti genu *Mafa* přežívají, ale přibližně 2 týdny po porodu se u nich rozvíjí diabetes [85]. MAFA je nutný pro zachování  $\beta$ -buněk a je důležitým faktorem při regulaci sekrece inzulínu.

## 7. Patologie

Porucha jak vývoje, tak i funkce buněk pankreatu může vyvolat patologické stavy. Relativně běžné jsou u lidí různé formy pankreatitidy, které se jsou způsobeny poruchami funkce exokrinní části pankreatu. Velkým problémem je v současnosti *diabetes mellitus* (DM), metabolické onemocnění způsobené poruchou metabolismu sacharidů. Dalším vážným onemocněním je karcinom pankreatu, který je často diagnostikován pozdě, protože nejsou patrné projevy v časně fázi.

### 7.1 Diabetes mellitus

*Diabetes mellitus* je onemocnění, které se vyznačuje chronicky zvýšenou hladinou glukózy v krvi, což je způsobeno nedostatkem inzulínu nebo poruchami jeho aktivity. [86]\*. Nejčastějším typem je diabetes prvního (T1D) a druhého (T2D) typu. Početný je také gestační diabetes. Existují ještě další specifické typy *diabetes mellitus*, které jsou způsobeny různými genetickými mutacemi, mající za následek absenci či dysfunkci  $\beta$ -buněk a problémy s působením inzulínu.

T1D vzniká autoimunitní reakcí, jejímž výsledkem je destrukce  $\beta$ -buněk, a tudíž chybí i inzulín, a tak organismus nemůže správně regulovat hladinu glukózy v krvi [87]. Lidé trpící T1D jsou proto závislí na externím dodávání inzulínu. Příčiny vzniku T1D nejsou dosud plně objasněny, ale jsou známy některé faktory, které zvyšují predispozice ke vzniku a rozvoji tohoto typu diabetu. Bylo identifikováno více než 40 genů, které zvyšují pravděpodobnost vzniku T1D. Dalším faktorem ovlivňujícím vznik T1D je prostředí a životní styl [88-91]. Jelikož se projevuje nejčastěji u dětí, zkoumají se různé alergeny jako mléko a lepek, kterým jsou děti v prvních letech života vystaveny. Dále různé virové infekce mohou zvýšit riziko vzniku autoprotilátek u lidí s genetickými predispozicemi.

Nejčastějším typem *diabetes mellitus* je T2D, který se vyznačuje především inzulínovou rezistencí [92]. Inzulínová rezistence se projevuje zvýšenou potřebou inzulínu v cílových tkáních. Zvýšená produkce inzulínu vede k poruchám ve fungování inzulín produkujících  $\beta$ -buněk, kdy organismus nedostatečně odpovídá na vysokou hladinu glukózy a produkuje méně inzulínu, než je třeba. Významným rizikovým faktorem pro vznik T2D je obezita, a také genetické predispozice [93]. Oproti T1D, který je diagnostikován nejvíce u dětí, je T2D diagnostikován spíše u dospělých a starších lidí. Také u T2D je detekováno postupné snížení počtu  $\beta$ -buněk a jejich funkce. Většina pacientů však není závislá na dodávání exogenního inzulínu [94]\*. Existuje velké množství léků,

kteří zvyšují sekreci inzulínu a citlivost tkání na inzulín. Nejlepším řešením je dodržovat zdravý životní styl a vhodnou dietu s omezením sacharidů.

Během těhotenství může vzniknout gestační diabetes, jelikož narůstá inzulínová rezistence [95]. Při nedostatku inzulínu nebo zvýšeném příjmu kalorií vzniká tento typ diabetu. Gestační diabetes představuje riziko pro matku i vyvíjející se plod, např. makrosomie plodu, předčasný porod, a srdeční selhání. Většině matek se po porodu vrací hladina glukózy do normálu, ale u některých však dochází k rozvoji T2D do pěti let po porodu [96]\*.

Typ diabetu MODY (maturity-onset type diabetes of the young) se vyznačuje genetickým defektem funkce  $\beta$ -buněk [97]. Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění s manifestací diabetu do věku 25 let. Vyskytuje se celkem 11 podtypů tohoto typu diabetu v závislosti na mutaci genu. Nejčastěji se vyskytující mutace jsou mutace v genech pro glukokinasu, hepatální nukleární faktory či insulinový promotorový faktor [98]\*. Například MODY 2 vykazuje tak mírné zvýšení glykémie, že občas ani není diagnostikován a nevyžaduje léčbu [99]\*. Nejčastějším typem je MODY 3, který vzniká mutací genu pro hepatocytární nukleární faktor 1 $\alpha$  (HNF-1 $\alpha$ ). Léčba je opět pomocí léků snižujících hladinu glukózy v krvi.

Existují i další faktory, které jsou zodpovědné za snížené množství produkovaného inzulínu, mezi něž patří různé úrazy a záněty pankreatu [86]\*.

## 7.2 Karcinom pankreatu

Velmi vážným onemocněním je karcinom pankreatu, který je v počáteční fázi asymptomatický a je často diagnostikován pozdě [100]\*. Karcinom může vzniknout ze všech typů pankreatických buněk, ale nejčastější je adenokarcinom duktálních buněk [101]\*. Riziko vzniku onemocnění se zvyšuje s věkem, kouřením a je také spojeno s onemocněním DM. Zajímavé však je, že lidé trpící diabetem poměrně krátkou dobu, mají větší pravděpodobnost výskytu karcinomu pankreatu [102]. Po chirurgickém odstranění nádoru diabetický stav často odezní, což značí, že DM nemusí být příčinou, ale může být následkem karcinomu [103]. Dosud není objasněno, jestli je diabetes spouštěčem nebo výsledkem karcinomu, ale je dokázáno, že pravděpodobnost výskytu karcinomu pankreatu je nejvyšší při nově diagnostikovaném DM [104].

### 7.3 Pankreatitida

Pankreatitida je zánět slinivky břišní, která může mít akutní a chronickou formu [105]. Příčinou chronické pankreatitidy je ve vyspělých zemích nejčastěji vysoká konzumace alkoholu [106]. Další běžnou příčinou je ucpání vývodu pankreatu žlučovým kamínkem [107]\*. Tím je snížena funkce slinivky, jelikož se enzymy špatně dostávají do duodena, a je zhoršeno trávení a vstřebávání živin. V pankreatu se tvoří zánět, který v případě chronické pankreatitidy často poškozuje i Langerhansovy ostrůvky a vzniká diabetes. Místo pankreatické tkáně se tam tvoří vazivo, čímž dochází ke ztrátám funkce. Chronická pankreatitida také zvyšuje pravděpodobnost vzniku karcinomu pankreatu. Při akutní pankreatidě může nastat až nekróza tkáně, která se dále zanítí a vzniknou pseudocysty [108]. V extrémních případech dochází k selhání orgánu a možné smrti. Je možné chirurgické odstranění žlučových kamenů a je doporučena nízkotučná dieta a zdravý životní styl.

## 8. Závěr

Vývoj pankreatu je rozdělen do třech fází; primární, sekundární a terciální tranzice. Během primární tranzice dochází ke specifikaci buněk endokrinní a exokrinní tkáně a duktálních buněk pankreatu. Během tohoto období probíhá aktivní proliferace buněk a dochází k větvení pankreatické tkáně. Nejprve dochází k vytvoření dvou vychlípenin primitivní střevní trubice a vytvoření dvou pupenů, ze kterých se následně vyvíjí dorsální a ventrální část pankreatu. V tomto období transkripční faktor PDX1 specifikuje pankreatickou doménu. Dalším významným transkripčním faktorem je PTF1A, který specifikuje exokrinní tkáň a současně brání migraci endokrinních buněk do sleziny, proto je důležitá jeho koexprese s PDX1 v primární tranzici.

V období primární a sekundární tranzice exprimují všechny endokrinní prekurzorové buňky NEUROG3. Za spoluúčasti dalších transkripčních faktorů, např. PAX4, PAX6, NEUROD1, ISL1, a ARX, tyto prekurzory diferencují v dospělé hormon produkující buňky a exprese NEUROG3 klesá. Buňky exprimující ARX a PAX6 diferencují v dospělé  $\alpha$ -buňky, u kterých MAFA a ISL1 aktivují expresi glukagonu. PAX4 a PAX6 jsou důležité pro diferenciaci  $\beta$  a  $\delta$ -buněk. Dospělé  $\beta$ -buňky oproti  $\delta$ -buňkám navíc exprimují PDX1, MAFA, NKX6-1, NKX2-2 a NEUROD1, které jsou důležité pro aktivaci inzulínového genu a zachování funkce  $\beta$ -buněk. Během sekundární tranzice se také diferencují acinární a duktální buňky. Acinární buňky se vyznačují expresí PTF1A, která je od E16 pro ně specifická.

V terciální tranzici buňky migrují, formují Langerhansovy ostrůvky a dále zrají. Na konci terciální tranzice se stává pankreas plně funkční a vyvinutý. Při ztrátě exprese některého z transkripčních faktorů hrozí absence či dysfunkce určitých typů buněk, což má za následek rozvoj onemocnění. Velkým problémem je v současnosti *diabetes mellitus*, relativně běžné jsou různé formy pankreatitidy, a velmi vážným onemocněním je karcinom pankreatu. Pochopení vzájemných interakcí těchto faktorů a případné nalezení dalších mechanismů ovlivňujících obnovu buněk je nezbytné pro zlepšení léčby například diabetu.

## 9. Seznam použité literatury

1. The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Islets of Langerhans*. 2010 [cited 2019 May 5]; Available from: <https://www.britannica.com/science/islets-of-Langerhans/media/329670/101913>.
2. Slack, J.M., *Developmental biology of the pancreas*. Development, 1995. **121**(6): p. 1569-80.
3. Larsen, H.L. and A. Grapin-Botton, *The molecular and morphogenetic basis of pancreas organogenesis*. Semin Cell Dev Biol, 2017. **66**: p. 51-68.
4. Mellanby, J., *The secretion of pancreatic juice*. J Physiol, 1926. **61**(3): p. 419-35.
5. Osnes, M., et al., *Exocrine pancreatic secretion and immunoreactive secretin (IRS) release after intraduodenal instillation of bile in man*. Gut, 1978. **19**(3): p. 180-4.
6. Liddle, R.A., et al., *Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction*. J Clin Invest, 1985. **75**(4): p. 1144-52.
7. Liddle, R.A., *Regulation of cholecystokinin secretion by intraluminal releasing factors*. Am J Physiol, 1995. **269**(3 Pt 1): p. G319-27.
8. Pictet, R.L., et al., *An ultrastructural analysis of the developing embryonic pancreas*. Dev Biol, 1972. **29**(4): p. 436-67.
9. Pan, F.C. and C. Wright, *Pancreas organogenesis: from bud to plexus to gland*. Dev Dyn, 2011. **240**(3): p. 530-65.
10. Brissova, M., et al., *Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy*. J Histochem Cytochem, 2005. **53**(9): p. 1087-97.
11. Cabrera, O., et al., *The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(7): p. 2334-9.
12. Prasadani, K., et al., *Glucagon is required for early insulin-positive differentiation in the developing mouse pancreas*. Diabetes, 2002. **51**(11): p. 3229-36.
13. Prado, C.L., et al., *Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(9): p. 2924-9.
14. Mayer, A.P., et al., *Amylin is associated with delayed gastric emptying in critically ill children*. Intensive Care Med, 2002. **28**(3): p. 336-40.
15. Blum, B., et al., *Functional beta-cell maturation is marked by an increased glucose threshold and by expression of urocortin 3*. Nat Biotechnol, 2012. **30**(3): p. 261-4.
16. Aponte, G., et al., *Effects of somatostatin on food intake in rats*. Life Sci, 1984. **35**(7): p. 741-6.
17. Johansson, C., et al., *Effects of somatostatin on gastrointestinal propagation and absorption of oral glucose in man*. Digestion, 1981. **22**(3): p. 126-37.
18. Lieverse, R.J., et al., *Effects of somatostatin on human satiety*. Neuroendocrinology, 1995. **61**(2): p. 112-6.
19. Hauge-Evans, A.C., et al., *Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function*. Diabetes, 2009. **58**(2): p. 403-11.
20. Strowski, M.Z., et al., *Somatostatin inhibits insulin and glucagon secretion via two receptors subtypes: an in vitro study of pancreatic islets from somatostatin receptor 2 knockout mice*. Endocrinology, 2000. **141**(1): p. 111-7.
21. Katznelson, L., et al., *Acromegaly: an endocrine society clinical practice guideline*. J Clin Endocrinol Metab, 2014. **99**(11): p. 3933-51.

22. Collombat, P., et al., *Pancreatic beta-cells: from generation to regeneration*. *Semin Cell Dev Biol*, 2010. **21**(8): p. 838-44.
23. Tong, J., et al., *Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans*. *Diabetes*, 2010. **59**(9): p. 2145-51.
24. Kojima, M., H. Hosoda, and K. Kangawa, *Purification and distribution of ghrelin: the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor*. *Horm Res*, 2001. **56 Suppl 1**: p. 93-7.
25. Fujimoto, S., et al., *Increased cholecystikinin and pancreatic polypeptide responses to a fat-rich meal in patients with restrictive but not bulimic anorexia nervosa*. *Biol Psychiatry*, 1997. **41**(10): p. 1068-70.
26. Collombat, P., et al., *Specifying pancreatic endocrine cell fates*. *Mech Dev*, 2006. **123**(7): p. 501-12.
27. Lawson, K.A., J.J. Meneses, and R.A. Pedersen, *Cell fate and cell lineage in the endoderm of the presomite mouse embryo, studied with an intracellular tracer*. *Dev Biol*, 1986. **115**(2): p. 325-39.
28. Wells, J.M. and D.A. Melton, *Early mouse endoderm is patterned by soluble factors from adjacent germ layers*. *Development*, 2000. **127**(8): p. 1563-72.
29. Harrison, K.A., et al., *Pancreas dorsal lobe agenesis and abnormal islets of Langerhans in Hlxb9-deficient mice*. *Nat Genet*, 1999. **23**(1): p. 71-5.
30. Zhou, Q., et al., *A multipotent progenitor domain guides pancreatic organogenesis*. *Dev Cell*, 2007. **13**(1): p. 103-14.
31. Brennand, K., D. Huangfu, and D. Melton, *All beta cells contribute equally to islet growth and maintenance*. *PLoS Biol*, 2007. **5**(7): p. e163.
32. Dor, Y., et al., *Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation*. *Nature*, 2004. **429**(6987): p. 41-6.
33. Teta, M., et al., *Growth and regeneration of adult beta cells does not involve specialized progenitors*. *Dev Cell*, 2007. **12**(5): p. 817-26.
34. Stanger, B.Z., A.J. Tanaka, and D.A. Melton, *Organ size is limited by the number of embryonic progenitor cells in the pancreas but not the liver*. *Nature*, 2007. **445**(7130): p. 886-91.
35. Jorgensen, M.C., et al., *An illustrated review of early pancreas development in the mouse*. *Endocr Rev*, 2007. **28**(6): p. 685-705.
36. Li, H.J., et al., *Notch signaling differentially regulates the cell fate of early endocrine precursor cells and their maturing descendants in the mouse pancreas and intestine*. *Dev Biol*, 2012. **371**(2): p. 156-69.
37. Herrera, P.L., *Adult insulin- and glucagon-producing cells differentiate from two independent cell lineages*. *Development*, 2000. **127**(11): p. 2317-22.
38. Teitelman, G., et al., *Precursor cells of mouse endocrine pancreas coexpress insulin, glucagon and the neuronal proteins tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y, but not pancreatic polypeptide*. *Development*, 1993. **118**(4): p. 1031-9.
39. Wilson, M.E., J.A. Kalamaras, and M.S. German, *Expression pattern of IAPP and prohormone convertase 1/3 reveals a distinctive set of endocrine cells in the embryonic pancreas*. *Mech Dev*, 2002. **115**(1-2): p. 171-6.
40. Bonal, C. and P.L. Herrera, *Genes controlling pancreas ontogeny*. *Int J Dev Biol*, 2008. **52**(7): p. 823-35.

41. Parsons, J.A., T.C. Brelje, and R.L. Sorenson, *Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: increased islet cell proliferation and insulin secretion correlates with the onset of placental lactogen secretion*. *Endocrinology*, 1992. **130**(3): p. 1459-66.
42. Bonner-Weir, S., *Life and death of the pancreatic beta cells*. *Trends Endocrinol Metab*, 2000. **11**(9): p. 375-8.
43. Scaglia, L., et al., *Apoptosis participates in the remodeling of the endocrine pancreas in the neonatal rat*. *Endocrinology*, 1997. **138**(4): p. 1736-41.
44. Gilbert, S.F., *Developmental Biology, 6th edition*. 2000, Sunderland (MA): Sinauer Associates.
45. Ohlsson, H., K. Karlsson, and T. Edlund, *IPF1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene*. *EMBO J*, 1993. **12**(11): p. 4251-9.
46. Jonsson, J., et al., *Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice*. *Nature*, 1994. **371**(6498): p. 606-9.
47. Stoffers, D.A., et al., *Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence*. *Nat Genet*, 1997. **15**(1): p. 106-10.
48. Gu, G., J. Dubauskaite, and D.A. Melton, *Direct evidence for the pancreatic lineage: NGN3+ cells are islet progenitors and are distinct from duct progenitors*. *Development*, 2002. **129**(10): p. 2447-57.
49. Ahlgren, U., J. Jonsson, and H. Edlund, *The morphogenesis of the pancreatic mesenchyme is uncoupled from that of the pancreatic epithelium in IPF1/PDX1-deficient mice*. *Development*, 1996. **122**(5): p. 1409-16.
50. Obata, J., et al., *p48 subunit of mouse PTF1 binds to RBP-Jkappa/CBF-1, the intracellular mediator of Notch signalling, and is expressed in the neural tube of early stage embryos*. *Genes Cells*, 2001. **6**(4): p. 345-60.
51. Krapp, A., et al., *The p48 DNA-binding subunit of transcription factor PTF1 is a new exocrine pancreas-specific basic helix-loop-helix protein*. *EMBO J*, 1996. **15**(16): p. 4317-29.
52. Kawaguchi, Y., et al., *The role of the transcriptional regulator Ptf1a in converting intestinal to pancreatic progenitors*. *Nat Genet*, 2002. **32**(1): p. 128-34.
53. Krapp, A., et al., *The bHLH protein PTF1-p48 is essential for the formation of the exocrine and the correct spatial organization of the endocrine pancreas*. *Genes Dev*, 1998. **12**(23): p. 3752-63.
54. Jensen, J., et al., *Independent development of pancreatic alpha- and beta-cells from neurogenin3-expressing precursors: a role for the notch pathway in repression of premature differentiation*. *Diabetes*, 2000. **49**(2): p. 163-76.
55. Schwitzgebel, V.M., et al., *Expression of neurogenin3 reveals an islet cell precursor population in the pancreas*. *Development*, 2000. **127**(16): p. 3533-42.
56. Gradwohl, G., et al., *neurogenin3 is required for the development of the four endocrine cell lineages of the pancreas*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. **97**(4): p. 1607-11.
57. Sussel, L., et al., *Mice lacking the homeodomain transcription factor Nkx2.2 have diabetes due to arrested differentiation of pancreatic beta cells*. *Development*, 1998. **125**(12): p. 2213-21.
58. Chao, C.S., et al., *Genetic identification of a novel NeuroD1 function in the early differentiation of islet alpha, PP and epsilon cells*. *Dev Biol*, 2007. **312**(2): p. 523-32.
59. Oster, A., et al., *Homeobox gene product Nkx 6.1 immunoreactivity in nuclei of endocrine cells of rat and mouse stomach*. *J Histochem Cytochem*, 1998. **46**(6): p. 717-21.



60. Sander, M., et al., *Homeobox gene Nkx6.1 lies downstream of Nkx2.2 in the major pathway of beta-cell formation in the pancreas*. *Development*, 2000. **127**(24): p. 5533-40.
61. Ahlgren, U., et al., *Independent requirement for ISL1 in formation of pancreatic mesenchyme and islet cells*. *Nature*, 1997. **385**(6613): p. 257-60.
62. Cai, C.L., et al., *Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart*. *Dev Cell*, 2003. **5**(6): p. 877-89.
63. Du, A., et al., *Islet-1 is required for the maturation, proliferation, and survival of the endocrine pancreas*. *Diabetes*, 2009. **58**(9): p. 2059-69.
64. Karlsson, O., et al., *Insulin gene enhancer binding protein Isl-1 is a member of a novel class of proteins containing both a homeo- and a Cys-His domain*. *Nature*, 1990. **344**(6269): p. 879-82.
65. Thor, S., et al., *The homeodomain LIM protein Isl-1 is expressed in subsets of neurons and endocrine cells in the adult rat*. *Neuron*, 1991. **7**(6): p. 881-9.
66. Sosa-Pineda, B., et al., *The Pax4 gene is essential for differentiation of insulin-producing beta cells in the mammalian pancreas*. *Nature*, 1997. **386**(6623): p. 399-402.
67. Wang, Q., et al., *Ghrelin is a novel target of Pax4 in endocrine progenitors of the pancreas and duodenum*. *Dev Dyn*, 2008. **237**(1): p. 51-61.
68. Wang, J., et al., *The concerted activities of Pax4 and Nkx2.2 are essential to initiate pancreatic beta-cell differentiation*. *Dev Biol*, 2004. **266**(1): p. 178-89.
69. Collombat, P., et al., *Opposing actions of Arx and Pax4 in endocrine pancreas development*. *Genes Dev*, 2003. **17**(20): p. 2591-603.
70. Collombat, P., et al., *The simultaneous loss of Arx and Pax4 genes promotes a somatostatin-producing cell fate specification at the expense of the alpha- and beta-cell lineages in the mouse endocrine pancreas*. *Development*, 2005. **132**(13): p. 2969-80.
71. St-Onge, L., et al., *Pax6 is required for differentiation of glucagon-producing alpha-cells in mouse pancreas*. *Nature*, 1997. **387**(6631): p. 406-9.
72. Turque, N., et al., *Pax-QNR/Pax-6, a paired box- and homeobox-containing gene expressed in neurons, is also expressed in pancreatic endocrine cells*. *Mol Endocrinol*, 1994. **8**(7): p. 929-38.
73. Walther, C. and P. Gruss, *Pax-6, a murine paired box gene, is expressed in the developing CNS*. *Development*, 1991. **113**(4): p. 1435-49.
74. Heller, R.S., et al., *Genetic determinants of pancreatic epsilon-cell development*. *Dev Biol*, 2005. **286**(1): p. 217-24.
75. Gosmain, Y., et al., *Pax6 is crucial for beta-cell function, insulin biosynthesis, and glucose-induced insulin secretion*. *Mol Endocrinol*, 2012. **26**(4): p. 696-709.
76. Ashery-Padan, R., et al., *Conditional inactivation of Pax6 in the pancreas causes early onset of diabetes*. *Dev Biol*, 2004. **269**(2): p. 479-88.
77. Guillam, M.T., et al., *Early diabetes and abnormal postnatal pancreatic islet development in mice lacking Glut-2*. *Nat Genet*, 1997. **17**(3): p. 327-30.
78. Naya, F.J., et al., *Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice*. *Genes Dev*, 1997. **11**(18): p. 2323-34.
79. Itkin-Ansari, P., et al., *NeuroD1 in the endocrine pancreas: localization and dual function as an activator and repressor*. *Dev Dyn*, 2005. **233**(3): p. 946-53.

80. Mutoh, H., et al., *The basic helix-loop-helix transcription factor BETA2/NeuroD is expressed in mammalian enteroendocrine cells and activates secretin gene expression.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(8): p. 3560-4.
81. Naya, F.J., C.M. Stellrecht, and M.J. Tsai, *Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor.* Genes Dev, 1995. **9**(8): p. 1009-19.
82. Artner, I., et al., *MafB: an activator of the glucagon gene expressed in developing islet alpha- and beta-cells.* Diabetes, 2006. **55**(2): p. 297-304.
83. Matsuoka, T.A., et al., *Members of the large Maf transcription family regulate insulin gene transcription in islet beta cells.* Mol Cell Biol, 2003. **23**(17): p. 6049-62.
84. Nishimura, W., et al., *A switch from MafB to MafA expression accompanies differentiation to pancreatic beta-cells.* Dev Biol, 2006. **293**(2): p. 526-39.
85. Zhang, C., et al., *MafA is a key regulator of glucose-stimulated insulin secretion.* Mol Cell Biol, 2005. **25**(12): p. 4969-76.
86. American Diabetes, A., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus.* Diabetes Care, 2014. **37 Suppl 1**: p. S81-90.
87. Barrett, J.C., et al., *Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes.* Nat Genet, 2009. **41**(6): p. 703-7.
88. Hummel, S., et al., *Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study.* Diabetes Care, 2011. **34**(6): p. 1301-5.
89. Snell-Bergeon, J.K., et al., *Early childhood infections and the risk of islet autoimmunity: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY).* Diabetes Care, 2012. **35**(12): p. 2553-8.
90. Stene, L.C., et al., *Enterovirus infection and progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: the Diabetes and Autoimmunity Study in the Young (DAISY).* Diabetes, 2010. **59**(12): p. 3174-80.
91. Knip, M., et al., *Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity.* N Engl J Med, 2010. **363**(20): p. 1900-8.
92. Ginsberg, H., et al., *Demonstration of insulin resistance in untreated adult onset diabetic subjects with fasting hyperglycemia.* J Clin Invest, 1975. **55**(3): p. 454-61.
93. Rahier, J., et al., *Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes.* Diabetes Obes Metab, 2008. **10 Suppl 4**: p. 32-42.
94. Marin-Penalver, J.J., et al., *Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus.* World J Diabetes, 2016. **7**(17): p. 354-95.
95. Group, H.S.C.R., et al., *Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes.* N Engl J Med, 2008. **358**(19): p. 1991-2002.
96. Alfadhli, E.M., *Gestational diabetes mellitus.* Saudi Med J, 2015. **36**(4): p. 399-406.
97. Peng, S.Y., et al., *ISL1 physically interacts with BETA2 to promote insulin gene transcriptional synergy in non-beta cells.* Biochim Biophys Acta, 2005. **1731**(3): p. 154-9.
98. Bartoš, V. and T. Pelikánová, *Praktická diabetologie.* 1996: MAXDORF s. r. o.
99. Chakera, A.J., et al., *Recognition and Management of Individuals With Hyperglycemia Because of a Heterozygous Glucokinase Mutation.* Diabetes Care, 2015. **38**(7): p. 1383-92.
100. Kaur, S., et al., *Early diagnosis of pancreatic cancer: challenges and new developments.* Biomark Med, 2012. **6**(5): p. 597-612.

101. Hezel, A.F., et al., *Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma*. Genes Dev, 2006. **20**(10): p. 1218-49.
102. Gullo, L., et al., *Diabetes and the risk of pancreatic cancer*. N Engl J Med, 1994. **331**(2): p. 81-4.
103. Pannala, R., et al., *Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus*. Gastroenterology, 2008. **134**(4): p. 981-7.
104. Ben, Q., et al., *Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies*. Eur J Cancer, 2011. **47**(13): p. 1928-37.
105. Sarles, H., *An international survey on nutrition and pancreatitis*. Digestion, 1973. **9**(5): p. 389-403.
106. Johnson, C.D. and S. Hosking, *National statistics for diet, alcohol consumption, and chronic pancreatitis in England and Wales, 1960-88*. Gut, 1991. **32**(11): p. 1401-5.
107. Banks, P.A., D.L. Conwell, and P.P. Toskes, *The management of acute and chronic pancreatitis*. Gastroenterol Hepatol (N Y), 2010. **6**(2 Suppl 3): p. 1-16.
108. Banks, P.A., M.L. Freeman, and G. Practice Parameters Committee of the American College of, *Practice guidelines in acute pancreatitis*. Am J Gastroenterol, 2006. **101**(10): p. 2379-400.

\*sekundární zdroj