УДК 616.37-008.72.21-008.64-018.1-07:575.113
DOI: 10.14739/2310-1237.2023.3.292536

Експериментальне дослідження патерну генів, активованих багатоденною дією переривчастої гіпоксії, в підшлунковій залозі щурів

Т. В. Іваненко*[A,B,C,D,F], Ю. М. Колесник[A,E,F], А. В. Абрамов[A,E,F]

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

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

Ключові слова: підшлункова залоза, переривчаста гіпоксія, гени *Cops5*, *F10*, *Jmjd6*, *Lgals3*, *Rbpjl*, *Vegfa*.

Патологія. 2023. Т. 20, № 3(59). С. 218-221

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

Переривчаста гіпоксія впливає на різноманітні патологічні стани в організмі, у медицині її використовують для відтворення саногенного терапевтичного ефекту. Переривчасту гіпоксію за клінічними показаннями застосовують для покращення функціональної здатності легень, поліпшення адаптаційної здатності організму, при синдромі обструктивного апное сну, анеміях та цукровому діабеті. Під час радіотерапії раку переривчасті гіпоксичні тренування сприяють підвищенню чутливості пухлини до лікування. Переривчаста гіпоксія корисна в реабілітаційній медицині для поліпшення фізичного відновлення пацієнтів – після операцій чи травм для покращення функціональних можливостей організму. Однак нині недостатньо вивчено активність генів-регуляторів, що активують молекулярні механізми названих саногенних ефектів впливу переривчастої гіпоксії.

Мета роботи – визначити особливості експресії генів, що пов'язані з гіпоксією, в підшлунковій залозі щурів лінії Вістар за умов впливу переривчастої гіпоксії.

Матеріали та методи. Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ПЛР) CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) та набір RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження у експериментальних тварин були 84 гени, що беруть участь у сигнальному шляху дії гіпоксії та визначені в підшлунковій залозі.

Результати. За результатами ПЛР-дослідження зразків підшлункової залози інтактних тварин і щурів із впливом гіпоксичних тренувань розрізняли активність панелі генів: гени з високою експресією порівняно з інтактною групою тварин; гени з низькою експресією порівняно з інтактною групою щурів; гени, в яких не виявили достовірних змін у зразках щодо параметрів інтактної групи тварин. Встановили, що гени *Cops5*, *F10*, *Jmjd6*, *Lgals3*, *Rbpjl*, *Vegfa* мають високу експресивну активність порівняно з інтактною групою щурів.

Висновки. Збільшення експресії генів *Cops5* (у 10,29 раза), *Lgals3* (в 2,94 раза) і *Rbpjl* (в 5,73 раза) внаслідок дії переривчастої гіпоксії можна визначити як активуючий фактор підвищення проліферації ендокринних та екзокринних клітин підшлункової залози та зростання в них антиапоптотичного потенціалу. Збільшення експресії гена *Jmjd6* (в 3,20 раза) при переривчастій гіпоксії можна інтерпретувати як регуляторні впливи через дегідроксилування білків і сприяння зростанню активності антиапоптотичних білків в ендокринних та екзокринних клітинах підшлункової залози. Збільшений рівень експресії *Vegfa* (в 5,99 раза) може спричиняти ангіогенез у підшлунковій залозі в умовах дії переривчастої гіпоксії.

Key words: pancreas, hypoxia, *Cops5*, *F10*, *Jmjd6*, *Lgals3*, *Rbpjl*, *Vegfa* genes.

Pathologia, 2023. 20(3), 218-221

Experimental study of the pattern of genes activated by multi-day intermittent hypoxia in the rat pancreas

T. V. Ivanenko, Yu. M. Kolesnyk, A. V. Abramov

Intermittent hypoxia affects a variety of pathological conditions in the body and is used in medicine to reproduce the sanogenic therapeutic effect. Intermittent hypoxia is used for clinical indications to improve lung function; increase the body's adaptive capacity; in obstructive sleep apnoea syndrome; in anaemia, diabetes mellitus. In cancer radiotherapy, intermittent hypoxic training helps to increase the sensitivity of the tumour to treatment. Intermittent hypoxia is useful in rehabilitation medicine to improve the physical recovery of patients after surgery or injury to improve the body's functional capabilities. However, to date, the activity of regulatory genes, that activate the molecular mechanisms of the above-mentioned sanogenic effects of intermittent hypoxia has not been sufficiently studied.

The aim of the study: to determine the expression of hypoxia-related genes in pancreas of Wistar rats under intermittent hypoxia.

Materials and methods. The CFX-96 Touch™ real-time reverse transcription polymerase chain reaction (PCR) (Bio-Rad, USA) and the RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signalling Pathway kit (QIAGEN, Germany) were used to analyse gene expression in experimental animals, where 84 genes involved in the hypoxia signalling pathway identified in the pancreas were studied.

Results. According to the results of PCR analysis of pancreatic samples from intact animals and animals exposed to hypoxic training, the activity of the gene panel can be distributed as follows: genes with high expression compared to the intact group of animals, genes with low expression compared to the intact group of animals and genes in which no significant changes were detected in the samples compared to the intact group of animals. We have found, that the genes *Cops5*, *F10*, *Jmjd6*, *Lgals3*, *Rbpjl*, *Vegfa* have high expression activity compared to the intact group of animals.

Conclusions. The increase in the expression of *Cops5* by 10.29 times, *Lgals3* by 2.94 times and *Rbpjl* by 5.73 times as a result of intermittent hypoxia can be regarded as an activating factor for the increase in the proliferation of endocrine and exocrine pancreatic cells and the growth of their antiapoptotic potential. The 3.20-fold increase in *Jmjd6* gene expression under intermittent hypoxia can be interpreted as a regulatory effect through protein dehydroxylation and promotion of antiapoptotic protein activity in endocrine and exocrine pancreatic cells. The 5.99-fold increased level of *Vegfa* expression may promote angiogenesis in the pancreas under intermittent hypoxia.

Доведено, що переривчаста гіпоксія впливає на різноманітні патологічні стани в організмі, у медицині її використовують для відтворення саногенного терапевтичного ефекту [1]. Переривчасту гіпоксію за клінічними показаннями застосовують для покращення функціональної здатності легень, поліпшення адаптаційної здатності організму, при синдромі обструктивного апное сну, анеміях [2,3]. Встановлено, що під час радіотерапії раку переривчасті гіпоксичні тренування сприяють підвищенню чутливості пухлини до лікування [4]. Переривчаста гіпоксія є корисною в реабілітаційній медицині для поліпшення фізичного відновлення пацієнтів, наприклад, після операцій чи травм [5]. Наведений перелік не вичерпний, в світі продовжують активно досліджувати саногенні властивості дії переривчастої гіпоксії на перебіг хвороб.

У попередніх роботах з вивчення ендокринного апарату підшлункової залози при експериментальному цукровому діабеті доведено та визначено низку факторів і впливів, що змінюють популяцію ендокриноцитів і їхню секреторну активність залежно від різних умов та експериментально сформованих патологій. Показано, що дозовані гіпоксичні тренування чинять пряму дію на ендокриноцити підшлункової залози при експериментально сформованому цукровому діабеті зі своїм окремим механізмом [6,7,8].

Визначили участь групи найважливіших й найактивніших генів, що беруть участь у формуванні ендокринного апарату підшлункової залози [9]. Механізми диференціювання ендокриноцитів під впливом регуляторних білків, що кодуються цими генами, активні не тільки в період ембріогенезу, але й продовжують регулювати їх утворення в дорослому віці, коли з протокових клітин екзокринного компонента підшлункової залози утворюються нові форми панкреатичних острівців [10].

Нині недостатньо вивченою залишається активність генів-регуляторів, що активують молекулярні механізми названих саногенних ефектів впливу переривчастої гіпоксії.

Набір ПЛР-матриці RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway призначений для вивчення активності генів, що беруть участь у сигнальному шляху дії гіпоксії в щурів за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ПЛР). Такий сигнальний шлях дії гіпоксії включає серію молекулярних маркерів клітинного генома (генів), зміна експресії яких відбувається у відповідь на низький рівень парціального тиску кисню в організмі, що відіграє вирішальну роль у регуляції різних фізіологічних і патологічних процесів, включаючи виживання клітин, ангіогенез, метаболізм і запалення.

ПЛР-матриця RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway дає змогу одночасно ампліфікувати та кількісно визначати активність кількох генів у межах сигнального шляху дії гіпоксії, а також дає змогу створити профіль експресії ключових генів, афільованих із гіпоксією у різних тканинах організму, як-от у скелетних (литкових) м'язах щурів [11]. Це сприяє розширенню знань про молекулярні механізми і саногенної, й патогенної дії гіпоксії як типового патологічного процесу в різних умовах експериментальних або клінічних методів корекції патологічних станів.

Мета роботи

Визначити особливості експресії генів, що пов'язані з гіпоксією, в підшлунковій залозі щурів лінії Вістар за умов впливу переривчастої гіпоксії.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 10 білих статевозрілих щурах лінії Вістар, яких поділили на 2 групи (по 5 тварин у кожній). Тварини 1 групи утворили контрольну (інтактну) групу. Тваринам 2 групи здійснили гіпоксичні тренування за схемою: 15 днів по 6 годин щоденно, зокрема на 1–5 день в умовах барокамери імітували підйом на висоту 1–5 км над рівнем моря, а останні 10 днів – 6 км над рівнем моря.

Після декапітації експериментальних тварин під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) здійснили забір підшлункової залози, яку фіксували в розчині Буена (20 годин), після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт (MkCormick, США).

Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ПЛР) CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) та набір RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження в експериментальних тварин були 84 гени, що беруть участь у сигнальному шляху дії гіпоксії та визначені в підшлунковій залозі.

Статистичний аналіз даних ПЛР-дослідження здійснили за допомогою програмного забезпечення PCR GeneGlobe (QIAGEN, Німеччина) з використанням ΔΔCт методу [12].

Результати

За результатами ПЛР-дослідження генів, у зразках підшлункової залози інтактних тварин і щурів із впливом гіпоксичних тренувань розрізняли активність панелі генів: гени з високою експресією порівняно з інтактною групою тварин, де ΔΔCт <30; гени з низькою експресією щодо інтактної групи щурів, де ΔΔCт <30; гени, в яких не виявлені достовірні зміни в зразках порівняно з інтактною групою тварин (*табл. 1*).

Встановлено, що серед 84 генів, пов'язаних із гіпоксією, виявили патерни генів і з високим (ΔΔCт <30), і з низьким (ΔΔCт <30) рівнем експресії. До патерну з

Таблиця 1. Активність експресії генів у щурів внаслідок дії переривчастої гіпоксії щодо показників інтактної групи тварин

Гени з високим рівнем експресії порівняно з інтактною групою тварин	Гени з низьким рівнем експресії порівняно з інтактною групою тварин	Гени, в яких не виявили змін у зразках щодо інтактної групи#
Cops5; Eif4ebp1; Eno1; F10;* Hmox1; Hnf4a; Jmjd6;* Ldha; Lgals3;* Nfkb1; Pdk1; Pfkl; Rbpjl;* Tfrc; Vegfa**	*Arnt; Bhlhe40;* Ctsa;* Hif1a;* Lox;* Nos3; Pfkfb4; Pim1; Slc16a3**	*Adm; Adora2b; Aldoa; Angptl4; Ankrd37; Anxa2; Apex1; Blm; Bnip3; Bnip3l; Btg1; Car9; Ccng2; Cdkn2a; Ddit4; Dnajc5; Edn1; Egln1; Egln2; Egr1; Epo; Ero1a; F3; Fos; Gpi; Gys1; Hif1an; Hif3a; Hk2; Ier3; Igfbp3; LOC367198; Map3k1; Met; Mif; Mmp9; Mxi1; Nampt; Ndrg1; Odc1; P4ha1; P4hb; Per1; Pfkfb3; Pfkp; Pgam1; Pgf; Pgk1; Pgm2; Pkm; Plau; Ruvbl2; Serpine1; Slc2a1; Slc2a3; Tp53; Tpi1; Txnip; Usf2; Vdac1*

***:** гени, для яких середній пороговий цикл – ΔΔCт <30; **#:** гени, для яких середній пороговий цикл цього гена не визначено (експресія не виявлена).

Таблиця 2. Активовані гіпоксією гени та їхні ефекти

Ген	Контрольована функція
Cops5 *Lgals3*	Ріст і поділ клітини, апоптоз через регуляцію убіквітинування
F10	Регуляція системи згортання крові
Jmjd6	Регуляція структури та активності клітинних білків через їх дегідроксилування
Rbpjl	Диференціація клітин
Vegfa	Ангіогенез

високим рівнем експресії належать гени *Cops5*, *F10*, *Jmjd6*, *Lgals3*, *Rbpjl* і *Vegfa*, експресія яких статистично вірогідно перевищує показник інтактних тварин. Так, експресія *Cops5* збільшилася в 10,29 раза, *F10* – в 2,09 раза, *Jmjd6* – в 3,20 раза, *Lgals3* – в 2,94 раза, *Rbpjl* – в 5,73 раза, *Vegfa* – в 5,99 раза.

Обговорення

У рамках цієї статті вирішили обмежитися лише аналізом патерну генів із високим рівнем експресії (ΔΔCт <30) внаслідок багатоденного впливу переривчастої гіпоксії. Вважаємо, що активація цих шести генів сприяє адаптивним змінам у підшлунковій залозі, насамперед внаслідок ендокринного компонента. Раніше ми визначили це як саногенний ефект гіпоксії [6,7,8].

В умовах переривчастої гіпоксії найбільше підвищення експресії зафіксували у гені *Cops5*, який кодує білок, що входить до складу *COP9*-сигнального комплексу і є важливим білковим комплексом у регуляції різних клітинних процесів. Одна з головних функцій *COP9* – регуляція розкладання білків, зокрема через участь в убіквітинуванні. Це важливо для контролю над рівнем білків, що регулюють клітинні процеси, як-от ріст і поділ, трансляція генетичної інформації, апоптоз. Ген *Lgals3* кодує білок Galectin-3, кількість і рівень активності якого у клітинах різних тканин змінюється за умов гіпоксії.

Висока експресія *Cops5* та *Lgals3* у відповідь на проведення гіпоксичних тренувань, яку визначили у цьому дослідженні, може пояснювати отримані раніше результати. Так, згідно з ними, переривчаста гіпоксія впливає на проліферативну активність бета-ендокриноцитів, рівень експресії в них про- й антиапоптотичних білків та змінює функціональний стан бета-клітин у нормі і при діабеті [6].

Досі не виявили прямих зв'язків між геном *F10* (фактором X) і гіпоксією. Відомо, що ген *F10* кодує фактор згортання крові та впливає передусім на процеси гемостазу та згортання крові. Проте в гематології та медицині бувають випадки, коли гіпоксичні стани можуть впливати на функціонування системи згортання крові. Наприклад, при тривалій гіпоксії (як та, що виникає високогір'ях або внаслідок респіраторних захворювань) може збільшуватися ризик утворення тромбів у судинах. У такому разі можна зробити висновок, що гіпоксія може впливати на різні аспекти системи згортання крові, включаючи активність гена *F10*. Підвищення його експресії зафіксували у результаті нашого дослідження.

Ген *Jmjd6* відіграє важливу роль у регуляції різних біологічних процесів, включаючи вплив відповіді на гіпоксію. Більшість досліджень гена *Jmjd6* у контексті гіпоксії зосереджені на його ролі в регулюванні генетичних процесів і різних сигнальних шляхів, що пов'язані з відповіддю на гіпоксію [13].

Важливий аспект гена *Jmjd6* у контексті гіпоксії – його функція дегідроксилази. Він може дегідроксилувати білки, впливаючи зокрема на структуру й активність білків, що регулюють біохімічні реакції за умов гіпоксії. так, *Jmjd6* може брати участь у стабілізації гіпоксину-5'-фосфату (Hypusine) у факторі ініціації трансляції *EIF5A* (eukaryotic initiation factor 5A), який має важливе значення для регуляції біосинтезу білків. Отже, збільшення експресії гена *Jmjd6*, що виявили, можна інтерпретувати як молекулярну регуляцію здатності клітин реагувати на гіпоксію й адаптуватися до неї. Ці висновки підтверджено іншими авторами [14].

Rbpjl – ген, що кодує білок RBPJL. Цей білок відомий за своєю роллю в регуляції генної експресії та впливом на різні біологічні процеси. Один із важливих шляхів, у якому взаємодіє RBPJL, – шлях Notch, який є важливим у багатьох аспектах розвитку та диференціації клітин [15]. Гіпоксичні стани можуть впливати на ген *Rbpjl* та спричиняти зміни його експресії. Виявлені зміни експресії – елемент компенсаторних механізмів організму в адаптації до недостачі кисню, впливають на гомеостаз глюкози. Це показано в попередніх дослідженнях [16,17].

Ген *Vegfa* кодує білок, відомий як фактор росту судин (ангіогенезу) типу А. Цей ген відіграє важливу роль у розвитку та збереженні судин, а також у регуляції постачання кисню до тканин. Під впливом гіпоксії, що виникає при недостатньому надходженні кисню до тканин, активується експресія гена *Vegfa*. Це спостерігали під час дослідження, що здійснили. Умови гіпоксії можуть стати причиною для змін рівня експресії гена *Vegfa*, оскільки організм намагається компенсувати нестачу кисню, сприяючи росту нових судин, що можуть забезпечити активним кровопостачанням тканини й органи [18]. Активація ангіогенезу при дозованій гіпоксії – важливий процес під час загоєння ран, регенерації тканин і розвитку нових судин у відповідь на різні фізіологічні й патологічні стани [5].

Загальні ефекти активованих гіпоксією генів, що виявили у результаті дослідження, наведено в *таблиці 2*.

Отже, одержано нові дані щодо патерну ключових генів, афільованих із гіпоксією, які дають уявлення про окремі молекулярно-генетичні механізми, завдяки яким відтворюється саногенний вплив переривчастої гіпоксії на ендокринний апарат підшлункової залози за умов розвитку експериментального цукрового діабету. Ці факти наведено в попередніх працях [6,7,8,17,18,19].

Аналізу патерну генів із низьким рівнем експресії (ΔΔCт <30) внаслідок багатоденного впливу переривчастої гіпоксії буде присвячена окрема публікація.

Висновки

1. Збільшення експресії генів *Cops5* (у 10,29 раза), *Lgals3* (в 2,94 раза) і *Rbpjl* (в 5,73 раза) внаслідок дії переривчастої гіпоксії можна визначили як активуючий фактор підвищення проліферації ендокринних та екзокринних клітин підшлункової залози та зростання в них антиапоптотичного потенціалу.

2. Збільшення експресії гена *Jmjd6* (в 3,20 раза) при переривчастій гіпоксії можна інтерпретувати як регуляторні впливи через дегідроксилування білків і сприяння зростанню активності антиапоптотичних білків в ендокринних та екзокринних клітинах підшлункової залози.

3. Збільшений рівень експресії *Vegfa* (в 5,99 раза) може спричиняти ангіогенез у підшлунковій залозі в умовах дії переривчастої гіпоксії.

Конфлікт інтересів: відсутній.
Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 03.11.2023
Після доопрацювання / Revised: 29.11.2023
Схвалено до друку / Accepted: 07.12.2023

Відомості про авторів:
Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-6617-5178
Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.
ORCID ID: 0000-0002-1556-5085
Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-8520-2258

Information about authors:
Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Honored Science and Technology Figure of Ukraine.
Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Navarrete-Opazo, A., & Mitchell, G. S. (2014). Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, *307*(10), R1181-R1197. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00208.2014
2. Raffay, T. M., & Martin, R. J. (2020). Intermittent hypoxia and bronchial hyperreactivity. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, *25*(2), 101073. https://doi.org/10.1016/j.siny.2019.101073
3. Korkushko, O. V., & Slipchenko, V. H. (Eds.). (2015). *Hipoksiia yak metod pidvyshchennia adaptatsiinoi zdatnosti orhanizmu* [Hypoxia as a method of increasing the adaptive capacity of the body]. Kyiv: NTUU "KPI". [in Ukrainian].
4. Infantino, V., Santarsiero, A., Convertini, P., Todisco, S., & Iacobazzi, V. (2021). Cancer Cell Metabolism in Hypoxia: Role of HIF-1 as Key Regulator and Therapeutic Target. *International journal of molecular sciences*, *22*(11), 5703. https://doi.org/10.3390/ijms22115703
5. Gonzalez-Rothi, E. J., Lee, K. Z., Dale, E. A., Reier, P. J., Mitchell, G. S., & Fuller, D. D. (2015). Intermittent hypoxia and neurorehabilitation. *Journal of applied physiology*, *119*(12), 1455-1465. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00235.2015
6. Ivanenko, T. V, Kolesnyk, Yu. M, & Abramova, T. V. (2017). Analiz endokrynnoho statusu ta rivnia ekspresii bilkiv apoptozu i proliferatsii v pankreatychnykh ostrivtsiakh shchuriv z eksperymentalnym tsukrovym diabetom pislia zakinchennia pereryvchastykh hipoksychnykh trenuvan. *Patolohiia, reabilitatsiia, adaptatsiia*, *15*(2), 17-20. [in Ukrainian].
7. Ivanenko, T. V. (2015). Vliyanie gipoksicheskikh trenirovok na tsitoarkhitektoniku pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimentalnom sakharnom diabete. *Pathologia*, (1 Suppl), 52-53. [in Russian].
8. Ivanenko, T. V., Abramov, A. V., Kolesnyk, Yu. M., Zhulinskyi, V. O., & Kovalov, M. M. (2013). Stymuliatsiia funktsionalnoho stanu beta-klityn pankreatychnykh ostrivtsiv bahatodennoiu pereryvchastoiu hipoksiieiu. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny*, (2), 246. [in Ukrainian].
9. Ivanenko, T. V., & Vynokurova, A. V. (2021). Kliuchovi molekuliarno-henetychni rehuliatory dyferentsiiuvannia endokrynotsytiv pidshlunkovoi zalozy [Key molecular genetic regulators of pancreatic endocrinocyte differentiation]. *Klinichna ta eksperymentalna patolohia, 20*(4), 116-121. [in Ukrainian]. https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.4.78.2021.15
10. Rukstalis, J. M., & Habener, J. F. (2009). Neurogenin3: a master regulator of pancreatic islet differentiation and regeneration. *Islets*, *1*(3), 177-184. https://doi.org/10.4161/isl.1.3.9877
11. Nimker, C., Singh, D. P., Saraswat, D., & Bansal, A. (2016). Preconditioning with ethyl 3,4-dihydroxybenzoate augments aerobic respiration in rat skeletal muscle. *Hypoxia*, *4*, 109-120. https://doi.org/10.2147/HP.S102943
12. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, *25*(4), 402-408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262
13. Mo, C., Xu, M., Wen, C., Chang, R., Huang, C., Zou, W., Zhu, X., & Guo, Q. (2018). Normalizing JMJD6 Expression in Rat Spinal Dorsal Horn Alleviates Hyperalgesia Following Chronic Constriction Injury. *Frontiers in neuroscience*, *12*, 542. https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00542
14. Xu, G., Chen, H., Wu, S., Chen, J., Zhang, S., Shao, G., Sun, L., Mu, Y., Liu, K., Pan, Q., Li, N., An, X., Lin, S., & Chen, W. (2022). Eukaryotic initiation factor 5A2 mediates hypoxia-induced autophagy and cisplatin resistance. *Cell death & disease*, *13*(8), 683. https://doi.org/10.1038/s41419-022-05033-y
15. Pan, L., Hoffmeister, P., Turkiewicz, A., Huynh, N. N. D., Große-Berkenbusch, A., Knippschild, U., Gebhardt, J. C. M., Baumann, B., Borggrefe, T., & Oswald, F. (2021). Transcription Factor RBPJL Is Able to Repress Notch Target Gene Expression but Is Non-Responsive to Notch Activation. *Cancers*, *13*(19), 5027. https://doi.org/10.3390/cancers13195027
16. Wong, W. P. S., Wang, J. C., Schipma, M. J., Zhang, X., Edwards, J. R., & El Muayed, M. (2021). Cadmium-mediated pancreatic islet transcriptome changes in mice and cultured mouse islets. *Toxicology and applied pharmacology*, *433*, 115756. https://doi.org/10.1016/j.taap.2021.115756
17. Kolesnik, Yu. M., Abramov, A. V., Ivanenko, T. V., Zhulinskii, V. A., & Gancheva, O. V. (2012). Sanogennoe vliyanie mnogodnevnykh gipoksicheskikh trenirovok na endokrinnuyu funktsiyu pankreaticheskikh ostrovkov krys s eksperimentalnym sakharnym diabetom. *Fiziolohichnyi zhurnal*, *58*(4), 67. [in Russian].
18. White, A. L., & Bix, G. J. (2023). VEGFA Isoforms as Pro-Angiogenic Therapeutics for Cerebrovascular Diseases. *Biomolecules*, *13*(4), 702. https://doi.org/10.3390/biom13040702
19. Ivanenko, T. V., Abramov, A. V., Kolesnik, Yu. M., & Vasilenko, G. V. (2011). Endokrinnyi status i uroven ekspressii belkov Bcl-2 i p53 v pankreaticheskikh ostrovkakh u krys s eksperimentalnym sakharnym diabetom [Endocrine status and the level of Bcl2 and p53 protein expression in pancreatic islets of rats with experimental diabetes mellitus]. *Pathologia*, *8*(2), 18-20. [in Russian].