

Intestino come ghiandola endocrina

Salvatore Piro, Lorian Mascali, Francesca Urbano, Agata Maria Rabuazzo, Francesco Purrello

Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare, Università degli Studi di Catania

Nel 1902 Starling e Bayliss descrivevano per la prima volta come l'aumento dei livelli di acidità a livello del piccolo intestino fosse in grado di stimolare la secrezione pancreatica in assenza del contributo nervoso (1). Avevano quindi ipotizzato la presenza di fattori umorali che, secreti dall'intestino, erano capaci di agire a distanza e di coinvolgere l'organismo intero. Questi fattori venivano da loro chiamati "secretine" e nasceva così il concetto moderno di "ormone" che, dal greco "ὁρμῶν", voleva dire "mettere in movimento/eccitare". La moderna endocrinologia ha origine quindi da studi pionieristici intestinali, anche se la funzione endocrina dell'intestino è stata per anni secondaria rispetto allo studio di ghiandole endocrine propriamente (anatomicamente) riconosciute. L'avvento delle incretine per la cura del diabete nella pratica clinica ha riscoperto questo aspetto e oggi è necessario conoscere la funzione endocrina intestinale per la comprensione e la cura di patologie complesse come l'obesità e il diabete.

Introduzione

Nell'uomo l'ingestione del cibo evoca una serie di risposte fisiologiche coordinate sia all'interno dell'inteste-

stino sia a livello dell'organismo intero. Queste risposte hanno lo scopo di regolare l'assunzione successiva di cibo e l'omeostasi dei nutrienti, nonché di controllare l'appetito e la ricerca successiva degli alimenti. Le cellule che compongono le pareti dell'intestino sono quindi in grado di sentire il passaggio del cibo e di evocare risposte coordinate dirette fino ai centri superiori del sistema nervoso.

Era noto fin dall'inizio del secolo scorso che l'intestino possedesse capacità endocrina (1). Negli ultimi anni, tuttavia, questo aspetto è diventato campo di studio di molte patologie di interesse endocrino e gastro-intestinale, sia alla luce di successi riscontrati nel campo della chirurgia bariatrica per la cura del diabete e dell'obesità, sia anche per l'avvento delle incretine come terapia per il diabete (2).

Le cellule endocrine gastro-intestinali rappresentano meno dell'1% dell'epitelio dell'intestino. Le cellule a funzione endocrina sono distribuite lungo tutto il tratto gastro-intestinale e producono ormoni con molteplici azioni. Queste cellule prendono diretto contatto con terminazioni nervose e l'integrazione tra intestino e sistema nervoso centrale viene identificato come *gut-brain system*. Questo sistema integrato condiziona l'organismo non solo per la scelta del cibo, ma anche per le successive risposte che dal cibo possono essere evocate. Il tipo di cellula endocrina presente e la frequenza di distribuzione di queste variano nei differenti tratti intestinali. Tuttavia, queste cellule costituiscono sensori in grado di recepire uno stimolo e di trasdurre il segnale in secrezione ormonale, in modo da influenzare organi e apparati distanti (3). Il sistema endocrino intestinale è fortemente connesso con il sistema nervoso centrale; cellule endocrine intestinali mostrano diretto contatto con terminazioni nervose e inoltre ormoni gastro-intestinali trovano recettori propri su cellule del sistema nervoso in generale. A oggi, è noto che esistono circa 20 differenti ormoni prodotti dall'intestino; questo numero è destinato sicuramente ad aumentare nel corso dei prossimi anni (4).

FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID (<http://sidfad.acced.org>).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line ai quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

Per ulteriori informazioni: <http://sidfad.acced.org>

Come sono fatte le cellule endocrine intestinali?

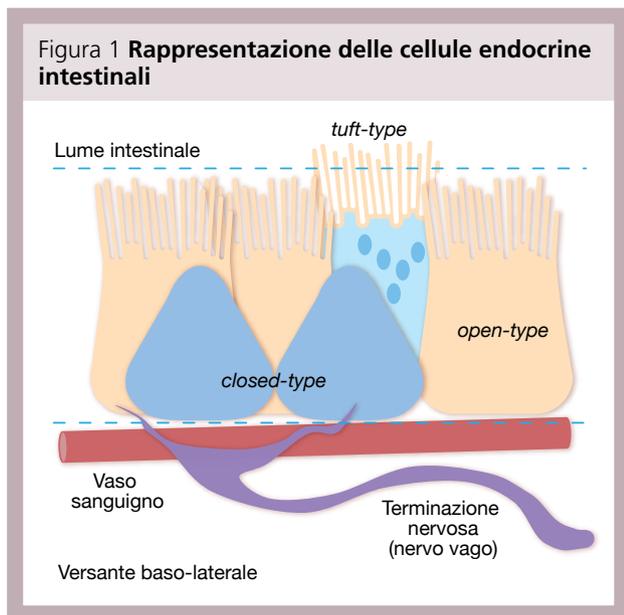
Ci sono almeno due tipologie di cellule endocrine intestinali: le cellule di tipo *open-type* che sporgono nel lume intestinale tramite prolungamenti digitiformi in grado di prendere contatto con il contenuto del lume intestinale e le cellule di tipo *closed-type*, strette da giunzioni intercellulari (*tight junctions*) che ne impediscono il diretto contatto con il cibo. Queste ultime tuttavia, oltre a risentire dell'influenza delle prime, ricevono contatto diretto con cellule nervose e con capillari ematici. Questo aspetto conferirebbe a questa popolazione il ruolo di mediatori critici, non solo dell'informazione diretta dal lume intestinale all'organismo, ma anche di destinatari di segnali che dall'organismo sono diretti all'intestino (Figura 1). Una terza categoria cellulare ancora in fase di caratterizzazione è costituita dalle cellule a ciuffo (*tuft cells*). Queste cellule, identificate da Jarvi e Keyrilainen nel 1956 (5), hanno un polo apicale stretto con ciuffi di microvilli che sporgono nel lume intestinale. L'aspetto che le differenzia dalle cellule entero-endocrine *open-type* è rappresentato da una diversa densità riscontrata al microscopio elettronico. Infatti, nei processi apicali queste cellule sono presenti granuli densi contenenti peptidi (oppioidi, endorfine e meta-enkefaline) in grado di essere rilasciati diretta-

mente nell'intestino in seguito al contatto con il cibo e di modularne il tono. In tutte queste cellule, comunque, sono stati identificati elementi propri delle cellule del gusto e questo aspetto ha permesso importanti avanzamenti culturali che verranno in seguito illustrati.

Lo studio di tutte queste cellule è reso problematico dalla scarsa presenza all'interno dell'intestino e dalla difficoltà di individuarle nell'ambito della popolazione epiteliale generale. Le conoscenze a nostra disposizione derivano da studi condotti su linee cellulari in coltura continua o su modelli animali transgenici (6). In particolare, lo studio di modelli murini transgenici ha fornito informazioni indispensabili che hanno evidenziato il ruolo delle cellule K intestinali produttrici GIP (*glucose-dependent insulinotropic peptide*), delle cellule L che possiedono la capacità di secernere GLP (*glucagon-like peptide*) e di una sottocategoria di cellule chiamate I in grado di produrre CCK (colecistochinina). I dati disponibili fino a oggi indicano che le cellule endocrine intestinali mostrerebbero similitudini con le cellule sensoriali della lingua, note per essere presenti nelle prime vie digestive e strettamente connesse con il sistema nervoso centrale e con la parte più esterna dell'apparato digerente. Lo studio e la comprensione di questi aspetti che accomunano le cellule endocrine e le cellule sensoriali del gusto potrebbero apportare avanzamenti per la cura di patologie complesse non solo di tipo gastro-intestinale.

Il meccanismo di funzione delle cellule endocrine intestinali resta a oggi ancora poco conosciuto e molti sono gli aspetti non noti del funzionamento di queste cellule. In particolare, non si conoscono le reali famiglie cellulari che compongono questo sistema e il numero totale di queste cellule; di conseguenza non è noto il giusto numero di ormoni prodotti a livello dell'intestino. Se è vero che a oggi gli ormoni intestinali conosciuti sono circa venti, è anche vero che questi agiscono sia in forma di pre/pro-ormone, sia nella forma di ormone maturo, ma anche dopo il clivaggio ormonale, in teoria disattivante, da parte di peptidasi. Sono immaginabili isoforme ormonali e/o recettoriali e sono presumibili funzioni ancora non note di questi ormoni. Inoltre, partendo da queste speculazioni, sono sicuramente da prevedere meccanismi di resistenza ormonale per difetti recettoriali o post-recettoriali. Resta quindi il fatto che questo è un campo ancora poco conosciuto con il quale è necessario confrontarsi al fine di ampliare la comprensione della fisiopatologia di condizioni complesse quali il diabete e l'obesità.

Tuttavia, due aspetti di questo sistema e di queste cellule sembrano essere comuni e appaiono ripetersi lungo



Esistono almeno tre tipologie di cellule endocrine intestinali: le cellule open type che mostrano prolungamenti rivolti verso il lume intestinale; le cellule closed type prevalentemente a contatto con capillari e terminazioni nervose e le cellule a ciuffo, ricche di granuli contenenti ormoni e mediatori che vengono rilasciati direttamente nel lume intestinale

tutto il tratto gastro-intestinale: queste cellule sono sensibili al metabolismo del glucosio e possiedono recettori di membrana accoppiati a proteine di tipo G. Questi due aspetti, apparentemente secondari, sembrano accomunare cellule differenti e con localizzazioni distanti tra di loro.

Il metabolismo del glucosio

Il metabolismo del glucosio rappresenta un meccanismo critico in molti sistemi cellulari. Per esempio, fisiologicamente a livello della β -cellula pancreatica la secrezione insulinica è strettamente accoppiata al metabolismo degli zuccheri e alla produzione di ATP. Qualsiasi agente in grado di disaccoppiare la produzione di ATP dal metabolismo cellulare riduce la secrezione ormonale stessa. Secondo le conoscenze attuali non è noto con certezza se il metabolismo del glucosio e la produzione di ATP rivestano lo stesso ruolo nelle cellule endocrine intestinali così come nelle β -cellule pancreatiche. Tuttavia, nei sistemi endocrini intestinali analizzati (cellule K e cellule L) sono riscontrabili trasportatori del glucosio, sistemi di produzione di energia glucosio-dipendente e attività elettriche cellulari evocate dagli zuccheri (7). Risulta ipotizzabile quindi che il metabolismo del glucosio possa ricoprire un ruolo importante in questi sistemi. Inoltre, gli zuccheri metabolizzabili (dai quali viene prodotta energia) determinano effetti diversi quando paragonati a zuccheri non metabolizzabili. Questo potrebbe quindi differenziare i componenti dell'alimentazione non solo in base al gusto (più o meno dolce), ma anche in base alla capacità metabolica che detengono. In questo campo negli ultimi anni sono stati condotti esperimenti di notevole interesse dal gruppo di Yeckel (8). In questi studi, in animali da esperimento, è stato dimostrato come l'ingestione di cibo evoca risposte a livello della bocca e dell'intestino e come il sistema nervoso centrale funge da sensore delle calorie ingerite (*caloric sensor*) e contribuisce a rafforzare gli stimoli successivi (evitare o ricercare in futuro lo stesso cibo). È stato documentato che questi meccanismi sono correlati al metabolismo del glucosio e alla produzione di ATP e appartengono a sistemi di tipo dopaminergico simili agli stimoli indotti da nicotina, cocaina ed etanolo. Nel topo questi stimoli si ottengono solo con la somministrazione di zuccheri metabolizzabili; non sono invece evocabili con dolcificanti non metabolizzabili.

È noto che a livello delle cellule intestinali K ed L il glucosio riveste ruoli chiave per la produzione di GIP

e GLP-1. Non è invece univocamente riconosciuto se la secrezione ormonale glucosio-dipendente sia legata alla produzione di ATP (metabolismo mitocondriale) o se invece il solo trasporto degli zuccheri all'interno di queste cellule possa determinarla. Negli ultimi anni sono stati pubblicati dai gruppi di Gribble e di Reimann molti studi in cui si è cercato di analizzare il ruolo del glucosio nella secrezione di GLP-1, utilizzando prevalentemente sistemi cellulari *in vitro* (3). Gli autori sono convinti che, più che il metabolismo del glucosio e la produzione di ATP, sia il trasporto degli zuccheri dentro la cellula a indurre il rilascio ormonale. Le loro ipotesi sono supportate dalle evidenze di attività elettriche di membrana evocate dall'ingresso di glucosio dentro la cellula, dalla chiusura di canali per il calcio e dalla successiva esocitosi degli ormoni. Quindi, in base a queste evidenze la sola presenza di glucosio dentro la cellula sarebbe in grado di determinare il rilascio ormonale. Questa ipotesi tuttavia viene indebolita da un lavoro recente di Zhang e collaboratori (9). In questo lavoro gli autori, nel tentativo di dimostrare invece il ruolo critico della produzione di ATP per la secrezione di GLP-1 nelle cellule L intestinali, hanno documentato come in topi transgenici l'iper-espressione di UCP (*uncoupling protein*)-2 a livello delle L cellule intestinali, riducendo la produzione di ATP, diminuiva in maniera significativa la secrezione di GLP-1. Questi esperimenti dimostrerebbero il ruolo chiave del metabolismo mitocondriale del glucosio a livello delle cellule L intestinali e associerebbero la produzione ormonale a quella di energia intracellulare. Inoltre, l'importanza di questi dati risiederebbe anche nel fatto che l'iperglicemia cronica, nota per indurre l'espressione di UCP-2 nelle β -cellule pancreatiche, potrebbe essere negativa anche per la funzione delle cellule L intestinali.

Gli zuccheri vengono trasferiti all'interno di queste cellule da trasportatori specifici posti a livello della membrana cellulare. Esistono almeno due tipologie di trasportatori per il glucosio: i GLUT - in particolare l'isoforma 2 - e gli SGLT (*sodium-coupled glucose transporter*), in particolare l'isoforma 1 (10, 11). Entrambe queste tipologie di trasportatori sono responsabili dell'ingresso degli zuccheri dentro la cellula. Tuttavia, la loro espressione conferirebbe peculiarità alla cellula e al suo stato metabolico e secretivo. In particolare, i trasportatori del tipo SGLT sono espressi prevalentemente nel versante apicale di queste cellule, rivolto cioè verso il lume intestinale, mentre i GLUT si ritrovano più che altro nel versante baso-laterale della cellula e sono a

diretto contatto con i capillari ematici. Inoltre, mentre con gli SGLT il glucosio sarebbe internalizzato dentro la cellula in co-trasporto con il sodio, determinando quindi cambiamenti di gradiente elettrochimico, tramite i GLUT invece il trasporto avverrebbe in maniera facilitata (12, 13). Queste particolarità di trasporto e la peculiare distribuzione (lume vs versante baso-laterale) renderebbero la secrezione ormonale molto complessa e dipendente non solo dalla presenza luminare degli stimolanti, ma anche dalla presenza a livello del circolo ematico. Questo fenomeno, analizzato nel dettaglio, ma del quale non esistono evidenze univoche, potrebbe apportare elementi importanti alla fisiologia delle cellule endocrine intestinali e potrebbe mettere in luce i reali meccanismi secretori delle cellule intestinali. In altre parole, non solo gli stimoli provenienti dall'interno dell'intestino sarebbero responsabili della secrezione di GIP e GLP-1, ma anche i livelli circolanti di glucosio, aminoacidi e nutrienti. Inoltre, entrambi questi trasportatori del glucosio sono espressi in maniera differente nei vari tratti dell'apparato digerente ed elementi fisiologici della dieta risulterebbero capaci di influenzarne l'espressione e la localizzazione. Per esempio GLUT-2, normalmente espresso nel versante baso-laterale delle cellule L intestinali, in condizioni di dieta ricca di carboidrati è in grado di traslocare nei villi che aggettano nel tubo digerente, aumentando in maniera facilitata l'ingresso di glucosio all'interno delle cellule (12). Questi fenomeni, a oggi non ben caratterizzati, apportioneranno avanzamenti importanti per lo studio e la cura del diabete.

I recettori a proteine G

I recettori legati a proteine G (*G protein-coupled receptors*, noti anche come GPCR) sono recettori di membrana, appartenenti alla famiglia dei recettori a sette domini trans-membrana, che trasmettono informazioni dall'esterno all'interno delle cellule tramite l'attivazione di proteine di tipo G (14). Dallo studio del genoma umano sono stati identificati oltre 800 GPCR, ma molti di questi sono ancora catalogati come recettori orfani (15, 16). È stato visto che questi recettori sono in grado di legare differenti tipologie di sostanze che vanno da ormoni fino a molecole più semplici tipo ioni. Questa tipologia di recettori sembra avere ruoli importanti durante la vita fetale e appare inoltre essere coinvolta in processi di alta specializzazione, quali la vista, l'olfatto

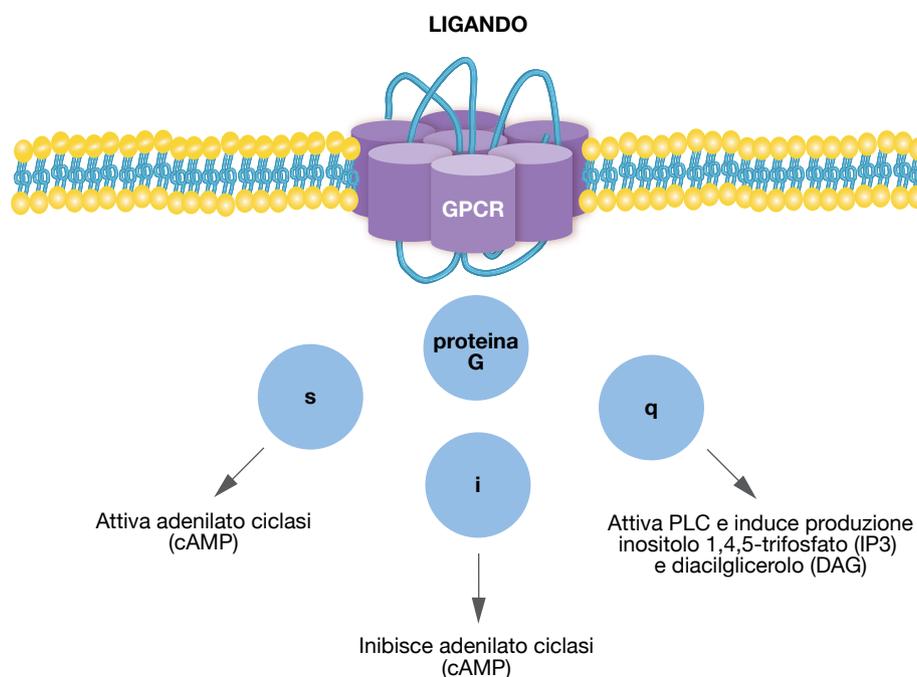
e il gusto. La percezione del gusto a livello della lingua, per esempio, è legata in gran parte a recettori di tipo GPCR. Attualmente lo studio di questi recettori è campo di interesse per molte industrie farmaceutiche, con la finalità di individuare ligandi sintetici impiegabili in patologie importanti tra cui il diabete.

Il legame di questi recettori con i ligandi avviene tramite la porzione esterna N-terminale; la parte interna del recettore (COOH terminale), invece, subisce cambiamenti conformazionali successivi al legame con i substrati, permettendo quindi l'attivazione di proteine di tipo G. Un gran numero di proteine di tipo G è stato identificato e implicato in processi tipici dei recettori GPCR. Queste proteine differiscono nella sequenza aminoacidica della loro subunità *a*; da queste variazioni vengono riconosciute almeno tre diverse subunità, identificate con le lettere *s*, *i* e *q*. Le proteine *G_s* attivano l'enzima adenilato ciclasi, responsabile dell'aumento dei livelli intracellulari di cAMP (AMP ciclico); la subunità *G_i* sembra coinvolta nei processi di inibizione della sintesi di cAMP; *G_q* invece sembra stimolare la produzione di inositolo 1,4,5-trifosfato (IP3) e diacilglicerolo (DAG), implicati nel rilascio di calcio dal reticolo endoplasmico intracellulare (Figura 2). Queste funzioni sembrano rivestire ruoli chiave nelle cellule endocrine intestinali e in particolare nelle cellule L (17, 18).

Esempi di integrazione del metabolismo del glucosio e dei recettori GPCR: le cellule del gusto

Nell'uomo il primo contatto con il cibo avviene a livello della bocca. Qui la lingua, attraverso recettori sensoriali, discrimina il cibo buono da quello che va evitato. A livello della lingua esistono apparati sensoriali in grado di percepire il gusto. Questi sensori presentano similitudini con le cellule endocrine del sistema endocrino-intestinale. Ogni abbozzo sensoriale nella lingua è composto da gruppi di 50-100 cellule differenti. Queste cellule appartengono prevalentemente a quattro diverse tipologie: il tipo I rappresentato da cellule simil gliali; il tipo II costituito da cellule proprie del gusto; il tipo III è composto da cellule che presentano sinapsi dirette con afferenze nervose; il tipo IV è rappresentato da cellule di tipo basale, deputate alla ripopolazione di questi abbozzi (Figura 3). Le cellule più studiate sono quelle di tipo II (19-21). La caratteristica di queste cellule è quella di possedere recettori di membrana legati a proteine

Figura 2 Rappresentazione dei recettori legati a proteine G e sistema di trasduzione del segnale



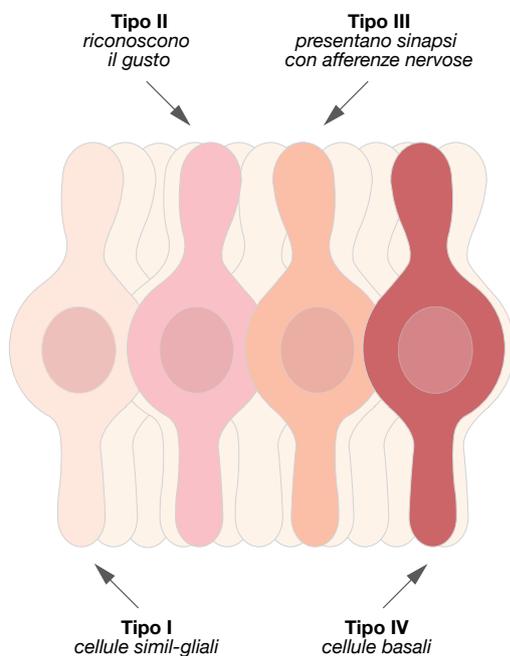
I recettori legati a proteine G (G protein-coupled receptors noti anche come GPCR) sono recettori di membrana appartenenti alla famiglia dei recettori a sette domini trans-membrana, che trasmettono informazioni dall'esterno all'interno delle cellule tramite l'attivazione di proteine di tipo G. Le proteine G attivano l'enzima adenilato ciclasi responsabile dell'aumento dei livelli intracellulari di cAMP (AMP ciclico); la subunità Gi inibisce la sintesi di cAMP; Gq sembra invece stimolare la produzione di inositolo 1,4,5-trifosfato (IP3) e diacilglicerolo (DAG), coinvolti nel rilascio di calcio dal reticolo endoplasmico intracellulare.

G e di trasdurre i segnali dall'esterno all'interno della cellula e dall'interno alle fibre nervose tramite l'ausilio di molecole di ATP e quindi del metabolismo mitocondriale del glucosio (22). Queste cellule costituiscono un esempio di integrazione e di interazione dei due moduli comuni riscontrati in tutti i modelli endocrino-intestinali fino a oggi conosciuti (Figura 4). I recettori a proteine G presenti su queste cellule sono stati ampiamente studiati in questi ultimi anni. Sono noti a oggi recettori che riconoscono il dolce, il salato, l'amaro, l'acido e l'umami ("quinto gusto" o gusto per il sodio glutammato, tipico di pietanze orientali). Il dolce, l'umami e il salato permettono di identificare il cibo che contiene energia ed elettroliti; l'amaro e l'acido invece consentono di difenderci da cibi rancidi o nocivi. Per distinguere questi gusti ci serviamo di recettori accoppiati a eventi molecolari che partono da recettori di membrana. Nell'uomo questi recettori sono individuati e riconosciuti con la sigla T1R (*taste receptor 1*); sono note varie tipologie e combinazioni (23). Per questi recettori sono state identificate 25 famiglie di geni nel genoma umano. È stato inoltre dimostrato che questi trasducono il segnale

tramite proteine di tipo G e successivamente mediante moduli proteici comuni; tra questi una proteina, nota con il nome di α gustducina, è ampiamente presente e conservata lungo il tubo digerente. Questa proteina è stata riscontrata a livello delle cellule endocrine intestinali e in particolare nelle cellule L intestinali. A livello delle cellule L intestinali l'eterodimero T1R2/T1R3, per esempio, sembra coinvolto nella secrezione del GLP-1; topi KO (*knockout*) per gustducina mostrano riduzione della secrezione sia di GLP-1 sia di GIP (24). Inoltre, questi recettori sono stati identificati anche in colture di cellule β -pancreatiche (MIN 6) e in isole pancreatiche di topo (25).

Questi aspetti di similitudine tra cellule del gusto e cellule endocrine intestinali si manifestano non solo a livello dell'espressione di recettori di membrana, ma anche per la presenza di alcuni ormoni gastrointestinali espressi all'interno delle cellule del gusto. Sono state dimostrate per esempio in cellule sensoriali della lingua l'espressione di ghrelina (ormone gastrico) e di GLP-1 e in cellule endocrine intestinali la co-espressione di GIP, di GLP-1 e di GLP-2 e α gustducina

Figura 3 Rappresentazione delle cellule del gusto

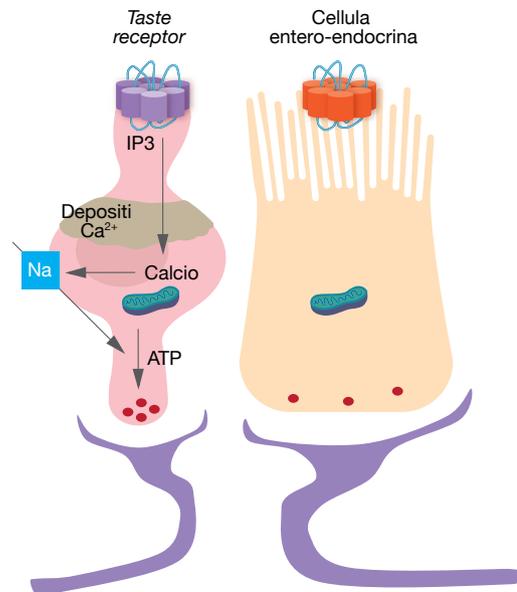


Nell'uomo il riconoscimento del cibo e dei sapori avviene a livello della lingua. Il gusto è deputato ad abbozzi cellulari composti da gruppi di 50-100 cellule. Queste cellule appartengono prevalentemente a 4 differenti tipologie: il tipo I rappresentato da cellule simil gliali; il tipo II costituito da cellule proprie del gusto; il tipo III è composto da cellule che presentano sinapsi dirette con afferenze nervose; il tipo IV è rappresentato da cellule di tipo basale, deputate alla ripopolazione di questi abbozzi

(26, 27). Questo fenomeno è stato documentato anche nell'uomo, con differente comportamento in soggetti con e senza diabete. Inoltre, sembra che le cellule doppiamente positive al GLP-1 e al GIP aumentino con la durata del diabete (27).

Queste evidenze supporterebbero l'ipotesi dell'origine comune di queste cellule e della loro funzione integrata attraverso tutta la lunghezza dell'apparato digerente. L'importanza di questa similitudine risiede nel fatto che, così come avviene per le cellule del gusto, a livello delle cellule endocrine intestinali potrebbero verificarsi fenomeni non solo di secrezione ormonale evocata dal cibo, ma anche di comunicazione e di integrazione con il sistema nervoso centrale. Questo renderebbe l'intestino ancora più un organo al centro dell'interesse dell'organismo. La migliore comprensione di questi fenomeni apporterà sicuri avanzamenti nel campo di questi ormoni e in quello del diabete.

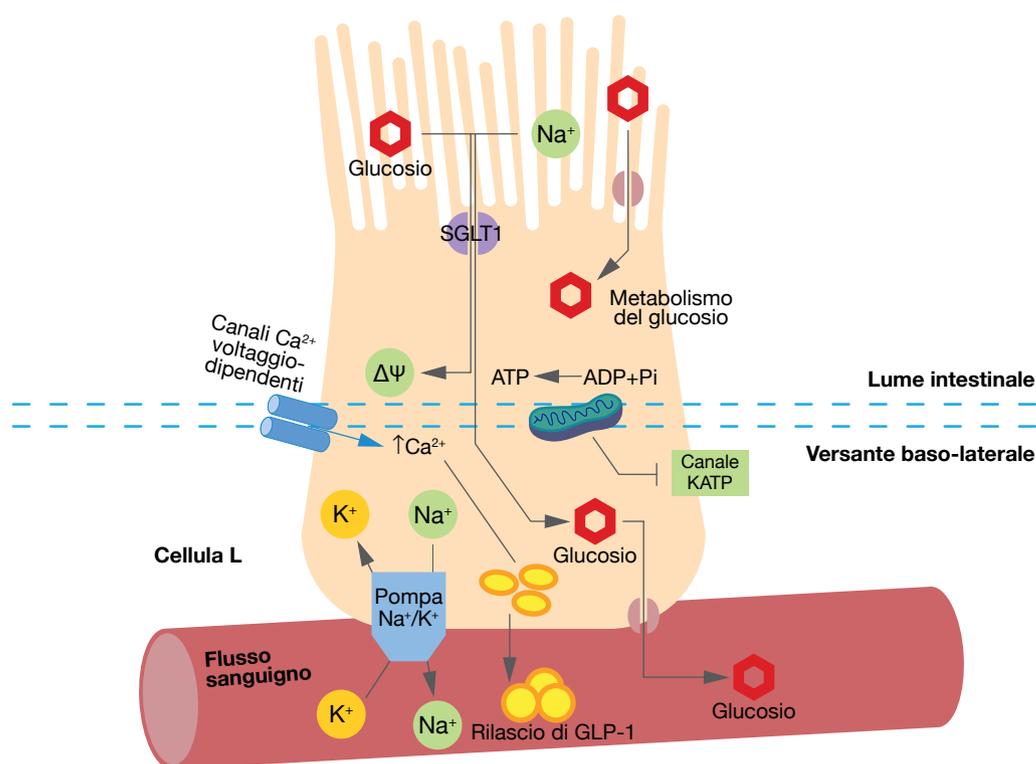
Figura 4 Rappresentazione delle cellule del gusto e similitudini con le cellule endocrine intestinali



Le cellule del gusto e le cellule endocrine intestinali condividono recettori e apparati di trasduzione. In particolare, recettori a G proteina, mitocondri e contatti con terminazioni nervose sembrano accomunare cellule del gusto e cellule endocrine intestinali

Versante luminare e baso-laterale

Un aspetto rilevante ma poco studiato fino a oggi è rappresentato dalla doppia esposizione delle cellule endocrine intestinali. Ogni cellula endocrina dell'intestino, oltre che prendere contatto diretto con le sostanze e i nutrienti presenti all'interno del tubo digerente, risente di stimoli provenienti dalla circolazione generale, tramite il contatto con la membrana baso-cellulare (Figura 5). Questo aspetto di notevole interesse è stato in parte studiato dal gruppo di Holst. In un lavoro *in vitro* del 2004, mediante l'ausilio di porzioni di intestino di maiale, isolate e perfuse sia dal versante luminare sia da quello della circolazione generale, si è evidenziato come anche gli stimoli ematici fossero in grado di modulare la secrezione di GLP-1 (28). L'aspetto importante di questi studi risiede nel fatto che è possibile immaginare come stimoli provenienti dalla circolazione generale, quali la glucotossicità e/o la lipotossicità, potrebbero alterare la funzione delle cellule endocrine dell'intestino. Questo solleverebbe aspetti nuovi anche per la terapia del dia-

Figura 5 **Rappresentazione della cellula L intestinale**

La cellula L, presa ad esempio di cellula endocrina intestinale, prende contatto con il versante luminare dell'intestino e con il versante baso-laterale. Questa particolarità la rende suscettibile a stimoli provenienti sia dalla circolazione generale sia dal lume intestinale

bete. Scindere e studiare il contributo specifico dei due versanti di queste cellule potrebbe aiutarci a comprendere meglio la fisiopatologia di questo sistema ancora oggi poco conosciuto.

Taste receptors e recettori a proteine G per gli acidi grassi e gli acidi biliari

La letteratura degli ultimi anni ha preso in considerazione ampiamente il ruolo dei recettori del gusto (*taste receptors*) per la funzione delle cellule endocrine gastro-intestinali. Nonostante il dibattito ancora aperto, esiste un buon numero di evidenze che indicano l'esistenza dei recettori del gusto sulle cellule endocrine dell'intestino e in particolare sulle cellule L e sulle cellule K (23, 24, 29). Studi di espressione genica effettuati su cellule L e cellule K comprovano chiaramente la presenza e l'importanza di questi recettori sulle cellule endocrine intestinali (30, 31). Il loro ruolo tuttavia risulta ancora

non definito e sono necessari studi ulteriori per comprenderne il significato e la funzione.

Quello che invece è confermato è che attraverso questi recettori molte sostanze presenti normalmente nella dieta stimolano la secrezione ormonale intestinale. Questo è il caso degli acidi grassi liberi e degli acidi biliari.

È noto per esempio che l'ingestione di grassi rappresenta un potente stimolo per la secrezione di ormoni gastro-intestinali; GIP, GLP-1, ma anche colecistochina sono stimolati da un pasto grasso. Inoltre il colesterolo, spesso presente nei cibi ma anche nella bile, risulta in grado di indurre il rilascio di ormoni intestinali. Anche la motilità intestinale è influenzata dalla composizione del cibo; è noto che sia gli acidi grassi a catena lunga sia i chilomicroni sono capaci di rallentare il transito intestinale e di causare sazietà, probabilmente anche tramite la loro azione di stimolo secretorio ormonale (32, 33). Queste funzioni sono mediate in gran parte da recettori di tipo G presenti nelle cellule endocrine dell'intestino. Per esempio, il recettore CD36, un

tipico trasportatore di acidi grassi, è stato riscontrato sia nelle papille gustative della lingua, sia a livello delle cellule L intestinali (34–36). Questo recettore è responsabile delle depolarizzazioni della membrana cellulare in seguito al rilascio di calcio dai depositi intracellulari. Recentemente è stato dimostrato che CD36 agisce in cooperazione con altri recettori legati a proteine G e tra questi GPR120 e GPR119. Questi recettori sono stati identificati a livello delle cellule L intestinali e modelli *knockout* per questi recettori hanno mostrato alterazioni in termini della regolazione della fame e della sazietà, oltre che alterati livelli di secrezione di GLP-1 (30, 31). Tali alterazioni sembrano coinvolgere vie molecolari che includono l'attivazione di *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR)- α (37, 38).

Oltre che gli acidi grassi, anche gli acidi biliari presenti nell'intestino sembrano avere una funzione nella modulazione della secrezione di ormoni gastrointestinali. Gli acidi biliari rivestono un ruolo importante nella solubilizzazione e nell'assorbimento dei lipidi della dieta. Questi, secreti con la bile a livello del piccolo intestino, ritornano in parte al fegato tramite il loro riassorbimento intestinale e il circolo portale. Recentemente è stato riportato che TGR5, recettore appartenente sempre alla famiglia dei recettori a proteine G, è in grado di legare gli acidi biliari, di determinare aumento dei livelli intracellulari di cAMP in cellule intestinali e di promuovere la secrezione di GLP-1 in cellule endocrine intestinali (39).

La comprensione di questi meccanismi molecolari, ancora poco definiti, risulta necessaria per la conoscenza della funzione endocrina intestinale.

Flora microbica e funzione endocrina intestinale

L'obesità e il diabete mellito tipo 2 sono condizioni cliniche fortemente associate a fattori ambientali e a uno stile di vita sedentario. Negli ultimi anni evidenze scientifiche hanno identificato nuovi fattori di rischio che è possibile associare a quelli già noti e che necessitano di essere riconosciuti per la cura di queste patologie. Tra questi emerge sempre più forte il ruolo della flora microbica intestinale come fattore responsabile di condizioni di alterato metabolismo energetico che determinano lo sviluppo di obesità. I batteri dell'intestino sono stati chiamati in causa per spiegare condizioni quali alterazioni dell'equilibrio di zuccheri e lipidi, nonché alterazioni a carico del sistema immunologico nell'uomo (40).

Per flora batterica di un individuo si intende una vasta popolazione di microrganismi (batteri, virus, archeobatteri ed eucarioti unicellulari) che normalmente popola ogni organismo multicellulare della terra. Nell'uomo si stima che siano presenti circa 10^{14} microrganismi residenti e di questi la maggior parte è localizzata a livello del colon. È riportato inoltre che lo stile di vita di un individuo e la tipologia dell'alimentazione condizionano fortemente la composizione della flora batterica, arrivando a determinare oltre il 57% della composizione delle specie batteriche esistenti (41). Queste evidenze hanno suggerito che una diversa popolazione batterica residente nell'intestino può essere responsabile di cambiamenti nella composizione del contenuto intra-intestinale e questo quindi può essere causa di differenti risposte dell'organismo anche in termini di produzione ormonale. La secrezione di incretine è stata correlata con la flora intestinale microbica, ma ad oggi poche sono le evidenze certe. È però noto che i batteri, agendo tramite il metabolismo degli acidi grassi liberi (FFA), sono in grado di scindere gli FFA a catena lunga in FFA a catena più corta e mediante queste reazioni si potrebbe condizionare quindi la stimolazione delle cellule endocrine intestinali. Con lo stesso meccanismo anche proteine e zuccheri potrebbero mostrare risposte stimolatorie differenti in base al loro stato metabolico. Queste evidenze supporterebbero il fatto che la genetica potrebbe influenzare lo stato iniziale della flora batterica di un individuo e la qualità dell'alimentazione mantenuta nel corso della vita potrebbe nel tempo modularne la composizione successiva. L'interazione di questi due aspetti nell'uomo determinerebbe il risultato metabolico e microbiologico finale e questi infine condizionerebbero lo stato endocrino intestinale.

In questa ottica obesità e diabete vengono visti in maniera differente. Futuri studi e analisi integrate sono necessari per la comprensione anche di questi aspetti.

Conclusioni

Il sistema endocrino intestinale rappresenta un nuovo aspetto della medicina, indispensabile per la comprensione e la gestione di malattie complesse, quali obesità e diabete mellito. I sensori presenti lungo il tratto gastro-intestinale (cellule endocrine intestinali) inducono una serie di risposte fisiologiche coordinate in grado di condizionare il riconoscimento dei cibi, la loro analisi, la percezione della loro composizione chimica e la

necessità di continuare o abbandonare la loro ricerca. Queste cellule inoltre, comunicando con il sistema nervoso centrale, coordinano e predispongono i successivi tratti dell'intestino al passaggio del cibo; la secrezione ormonale prepara invece l'organismo intero all'effetto che i cibi determineranno. L'intestino, i tessuti periferici dell'organismo e il sistema nervoso centrale, agendo in coordinazione, ottimizzerebbero l'ingestione del cibo, il transito e l'utilizzazione. Le cellule endocrine intestinali (*open type*, *closed type*, *tuft cells*) rivestirebbero così il ruolo di sensori in grado di comportarsi come *network* organizzato e di trasferire informazioni tramite la produzione ormonale. Sebbene siano stati descritti molti recettori (GPCR) e siano stati proposti molti meccanismi di funzione (metabolismo del glucosio, trasportatori per il glucosio o per gli FFA), le nostre conoscenze risultano ancora rudimentali. La comprensione di questi sistemi e del ruolo degli ormoni prodotti fornirà nei prossimi anni sicuri avanzamenti nel campo del diabete, dell'obesità e di molte patologie metaboliche e sistemiche.

Bibliografia

1. Bayliss WM, Starling EH. The mechanism of pancreatic secretion. *J Physiol* 28: 325–353, 1902.
2. Larder R, O'Rahilly S. Shedding pounds after going under the knife: Guts over glory—why diets fail. *Nat Med* 18: 666–667, 2012.
3. Tolhurst G, Reimann F, Gribble FM. Intestinal sensing of nutrients. *Handb Exp Pharmacol* 209: 309–335, 2012.
4. Rehfeld JF. A centenary of gastrointestinal endocrinology. *Horm Metab Res* 36: 735–741, 2004.
5. Jarvi O, Keyrilainen O. On the cellular structures of the epithelial invasions in the glandular stomach of mice caused by intramural application of 20-methylcholantren. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl* 39: 72–73, 1956.
6. Drucker DJ, Jin T, Asa SL, et al. Activation of proglucagon gene transcription by protein kinase-A in a novel mouse enteroendocrine cell line. *Mol Endocrinol* 8: 1646–1655, 1994.
7. Diakogiannaki E, Gribble FM, Reimann F. Nutrient detection by incretin hormone secreting cells. *Physiol Behav* 106: 387–393, 2012.
8. de Araujo IE, Ferreira JG, Tellez LA, et al. The gut-brain dopamine axis: A regulatory system for caloric intake. *Physiol Behav* 106: 394–399, 2012.
9. Zhang H, Li J, Liang X, et al. Uncoupling protein 2 negatively regulates glucose-induced glucagon-like peptide 1 secretion. *J Mol Endocrinol* 48: 151–158, 2012.
10. Ritzel U, Fromme A, Ottleben M, et al. Release of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) by carbohydrates in the perfused rat ileum. *Acta Diabetol* 34: 18–21, 1997.
11. Sykes S, Morgan LM, English J, Marks V. Evidence for preferential stimulation of gastric inhibitory polypeptide secretion in the rat by actively transported carbohydrates and their analogues. *J Endocrinol* 85: 201–207, 1980.
12. Morgan EL, Mace OJ, Affleck J, Kellett GL. Apical GLUT2 and Cav1.3: regulation of rat intestinal glucose and calcium absorption. *J Physiol* 580: 593–604, 2007.
13. Stearns AT, Balakrishnan A, Rhoads DB, Tavakkolizadeh A. Rapid upregulation of sodium-glucose transporter SGLT1 in response to intestinal sweet taste stimulation. *Ann Surg* 251: 865–871, 2010.
14. Ahren B. Islet G protein-coupled receptors as potential targets for treatment of type 2 diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 8: 369–385, 2009.
15. Lagerstrom MC, Schiöth HB. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 7: 339–357, 2008.
16. Gloriam DE, Fredriksson R, Schiöth HB. The G protein-coupled receptor subset of the rat genome. *BMC Genomics* 8: 338, 2007.
17. Neves SR, Ram PT, Iyengar R. G protein pathways. *Science* 296: 1636–1639, 2002.
18. Wellendorph P, Johansen LD, Brauner-Osborne H. The emerging role of promiscuous 7TM receptors as chemosensors for food intake. *Vitam Horm* 84: 151–184, 2010.
19. Roper SD. Cell communication in taste buds. *Cell Mol Life Sci* 63: 1494–1500, 2006.
20. Huang AL, Chen X, Hoon MA, et al. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 442: 934–938, 2006.
21. Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJ, Zuker CS. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 444: 288–294, 2006.
22. Iwatsuki K, Ichikawa R, Hiasa M, et al. Identification of the vesicular nucleotide transporter (VNUT) in taste cells. *Biochem Biophys Res Commun* 388: 1–5, 2009.
23. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, et al. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose co-transporter 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 15075–15080, 2007.
24. Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 15069–15074, 2007.
25. Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, et al. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS one* 4: e5106, 2009.
26. Shin YK, Martin B, Kim W, et al. Ghrelin is produced in taste cells and ghrelin receptor null mice show reduced taste responsivity to salty (NaCl) and sour (citric acid) tastants. *PLoS one* 5: e12729, 2010.
27. Theodorakis MJ, Carlson O, Michopoulos S, et al. Human duodenal enteroendocrine cells: Source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E550–E559, 2006.
28. Hansen L, Hartmann B, Mineo H, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1 secretion is influenced by perfusate glucose concentration and by a feedback mechanism involving somatostatin in isolated perfused porcine ileum. *Regul Pept* 118: 11–18, 2004.
29. Dyer J, Daly K, Salmon KS, et al. Intestinal glucose sensing and regulation of intestinal glucose absorption. *Biochem Soc Trans* 35: 1191–1194, 2007.
30. Parker HE, Habib AM, Rogers GJ, et al. Nutrient-dependent secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from primary murine K cells. *Diabetologia* 52: 289–298, 2009.
31. Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, et al. Glucose sensing in L cells: A primary cell study. *Cell Metab* 8: 532–539, 2008.

32. Glatzle J, Kalogeris TJ, Zittel TT, et al. Chylomicron components mediate intestinal lipid-induced inhibition of gastric motor function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282: G86–91, 2002.
33. Hunt JN, Knox MT. A relation between the chain length of fatty acids and the slowing of gastric emptying. *J Physiol* 194: 327–336, 1968.
34. Sclafani A, Ackroff K, Abumrad NA. CD36 gene deletion reduces fat preference and intake but not post-oral fat conditioning in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1823–1832, 2007.
35. Simons PJ, Boon L. Lingual CD36 and obesity: A matter of fat taste? *Acta Histochem* 113: 765–767, 2011.
36. Simons PJ, Kummer JA, Luiken JJ, Boon L. Apical CD36 immunolocalization in human and porcine taste buds from circumvallate and foliate papillae. *Acta Histochem* 113: 839–843, 2011.
37. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al. Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- α . *Nature* 425: 90–93, 2003.
38. Schwartz GJ, Fu J, Astarita G, et al. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety. *Cell Metab* 8: 281–288, 2008.
39. Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G. Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. *Biochem Biophys Res Commun* 329: 386–390, 2005.
40. Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *J Obes* 2012: 879151, 2012.
41. Zhang C, Zhang M, Wang S, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J* 4: 232–241, 2010.

