



HAL
open science

Modulation de la phase postprandiale du glucose

Julie-Anne Nazare

► **To cite this version:**

Julie-Anne Nazare. Modulation de la phase postprandiale du glucose. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2009. Français. NNT : 2009LYO10292 . tel-00878436

HAL Id: tel-00878436

<https://theses.hal.science/tel-00878436>

Submitted on 30 Oct 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : 292-2009

Année 2009

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le **18 décembre 2009**

par

Julie-Anne Nazare

Modulation de la phase postprandiale du glucose

Directeur de thèse : Pr Martine Laville

JURY :	Dr Hubert Vidal	Président
	Pr Yves Boirie	Rapporteur
	Pr Vincent Rigalleau	Rapporteur
	M Daniel Wils	Examineur

A Gaspard, tim tam

REMERCIEMENTS

Je remercie tous les membres de mon jury de thèse de me faire l'honneur d'assister à ma soutenance.

Je remercie très chaleureusement Pr Martine Laville pour avoir encadré mon travail depuis le D.E.A et pendant ces années de thèse avec enthousiasme, curiosité et énergie.

Je veux aussi lui témoigner ma gratitude pour m'avoir permis de m'épanouir au sein du CRNH tant scientifiquement que personnellement, et de m'avoir fait confiance en me permettant de travailler sur cette thèse et sur d'autres sujets passionnants. J'espère être dans le futur à la hauteur de ses enseignements et de sa confiance, et pouvoir de nouveau travailler avec le CRNH sur de futurs projets de recherche.

Je tiens aussi à remercier tout particulièrement Dr Hubert Vidal pour avoir accepté d'être président de ce jury de thèse, et aussi pour son accueil au sein de l'unité U870, son soutien et ses nombreux conseils pour ma thèse et le futur.

Je remercie Pr Yves Boirie et Pr Vincent Rigalleau d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse, pour leurs commentaires et leurs questions qui m'ont donné de nouvelles pistes de réflexion sur ce travail.

Je remercie Daniel Wils d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de m'avoir fait confiance pendant ces deux années de collaboration sur le projet Nutriose. Nos échanges très ouverts ont été pour moi à la base d'une collaboration très enrichissante.

Je voudrais remercier aussi Pr Besnard et Isabelle Niot avec qui j'ai découvert la nutrition à l'ENSBANA au cours de mon cursus d'ingénieur.

I am really grateful to Pr Daniel and Cindy Gallaher (nutrition lab University of Minnesota) who have introduced me to nutrition research and help me through my first experiments a couple of years ago. I am still really impressed by their meticulous and passionate approach of research, which I have never forgotten.

Je remercie sincèrement Pr Philippe Moulin, Pr Chantal Simon, Pr François Peronnet, Dr Sophie Vinoy pour leurs conseils avisés.

Merci à toute l'équipe U870 et plus particulièrement à Cyrille Debard, et à Marie-Caroline Michalski pour ses conseils pros (et persos !).

Je veux aussi remercier tous les membres du CRNH qui m'ont accueillie et fait une petite place depuis 4 ans, et que je vais avoir bien du mal à quitter aujourd'hui ... vous allez sincèrement me manquer :

Emmanuel Disse, qui m'a accompagnée depuis mes premiers pas au CRNH. Merci pour tous ces échanges, ton œil critique et pertinent, pour ton amitié si généreuse et pour nos projets. J'espère que nous continuerons à partager tout ceci pendant très longtemps.

Christine Maitrepierre, pour son aide précieuse, son amitié et sa très grande générosité. Tu vas me manquer.

Sylvie Normand, incollable sur les protocoles, pour sa rigueur, son aide scientifique précieuse et son inestimable travail de relecture.

Maud Alligier, ma « ptite Maud » plus grande que moi, pour son dynamisme, son humour décapant et... son back-up ! Bonne continuation et à bientôt... au Québec ?

Monique Sothier, notre super diét', bosseuse acharnée et d'une gentillesse à toute épreuve

Jocelyne Peyrat, pour son grand professionnalisme et pour ses pains d'épices aussi bons qu'en Bourgogne !

Valérie et Laure, la fine équipe des « filles des spectros », toujours souriantes et motivées

Merci à Stéphanie Lambert-Porcheron pour nos sympathiques discussions, Michel Désage, pour son aide experte et précieuse pour les analyses de spectrométrie de masse, Zohra, toujours là !, Corinne, experte en dosage et conseils randos, Naura et Emilie dernières arrivées, infirmière et pharmacienne de choc.

Judith, Julien, Christine, Adeline, Stéphanie,... la joyeuse bande des médecins dont les passages au CRNH ont ponctué ces années par nos sessions labo/apéro/diabéto si enrichissantes.

Michael Skilton et Romain Casey, pour m'avoir éclairée de leurs lumières
« Statistiques »

Je remercie aussi tous mes amis qui m'ont suivie et soutenue pendant cette thèse: plus particulièrement Juliane, Isa, toute la bande des lyonnais et plus particulièrement Nane, Elise, Mary B, Fab qui a accepté de « souffler » dans mes tubes, Jean-Yves et ... Nico (merci et bonne chance !)

Bien sûr, un merci plein d'émotion à ma Whanau (« famille élargie » en Maori), pour m'avoir accompagnée dans cette aventure... Mémé Majo, Etienne, Thibaut, Catherine et Gis, ma Sof, Dominique et Annie pour leur soutien, Papa et Maman toujours présents, et surtout Gaspard et mon petit Augustin pour leur patience et leur amour.

RESUME

La réduction des excursions glycémiques postprandiales a été proposée comme un moyen pour limiter le risque de développement du diabète de type 2. L'intérêt s'est donc porté sur les outils nutritionnels susceptibles de moduler la biodisponibilité des glucides et ainsi leur impact sur la glycémie postprandiale. Les travaux réalisés au cours de cette thèse avaient pour but d'étudier les effets de différents ingrédients modifiant la biodisponibilité du glucose, non seulement sur la glycémie postprandiale à court terme (2 heures) mais aussi sur les cinétiques du débit d'apparition et de disparition de glucose (total, exogène et endogène - isotopes stables) et les autres paramètres métaboliques de la phase postprandiale au cours de la journée.

Dans la première étude (*β-glucanes*), nous avons montré que l'addition de fibres β-glucanes à un repas glucidique chez des sujets sains en surpoids ralentit l'absorption du glucose dans le plasma. Ceci a prolongé la réponse insulinaire et par conséquent l'inhibition de la lipolyse et de la production endogène de glucose.

Dans la deuxième étude (*Eurostarch*), nous avons montré que la diminution de la biodisponibilité du glucose au petit-déjeuner (amidon lentement digestible, index glycémique bas) diminue l'apparition du glucose exogène dans le plasma et pourrait avoir un effet second-repas chez des sujets sains en surpoids. Mais nous n'avons pas mis en évidence d'amélioration de ces effets métaboliques à plus long terme (5 semaines).

Dans la troisième étude présentée (*Nutriose*), nous avons montré que l'addition de dextrine résistante NUTRIOSE®10 (fermentescible) au petit-déjeuner chez des sujets sains, diminue les réponses glycémiques, insulinales postprandiales et le profil de ghréline au cours de la journée (en comparaison à une maltodextrine). En parallèle, la prolongation observée de la fermentation et l'oxydation du NUTRIOSE®10 pourraient fournir de l'énergie en phase postprandiale tardive.

En conclusion, l'analyse des paramètres métaboliques au-delà de 2 heures après le repas, a permis de mettre en évidence les effets métaboliques à plus long terme de la modulation de l'apparition du glucose dans le plasma (ralentissement, prolongation, réduction) sur les cinétiques du glucose, la réponse insulinaire, la lipolyse et l'oxydation des substrats.

Mots clés : métabolisme postprandial du glucose / biodisponibilité du glucose / fibres / index glycémique / isotopes stables / insuline / lipolyse / ghréline / sujets sains / surpoids

ABSTRACT

The reduction of the postprandial glycemic excursions has been proposed as to limit risk of type 2 diabetes. There has been growing interest in the development of dietary ingredients that could potentially modulate carbohydrates bioavailability and thus their impact on postprandial glycemia. The aim of this thesis was to investigate the effects of the modulation of glucose bioavailability by different ingredients on 2-hour glycemic response but also on glucose kinetics (total, exogenous and endogenous - stable isotopes) and on other daylong metabolic parameters.

In the first study (*β-glucanes*), we showed that the addition of β-glucan fiber to a carbohydrate meal in healthy overweight subjects reduced the appearance of glucose in plasma. As a consequence, insulin response was also prolonged and induced a prolonged inhibition on lipolysis and endogenous glucose production.

In the second study (*eurostarch*), the reduction in glucose availability (slowly available glucose, low GI) at breakfast decreased plasma exogenous glucose appearance and tended to improve glucose control at the subsequent lunch. But we did not observe the improvement of such metabolic effects in the long-term (5 weeks).

In the last study, we showed that the addition of a resistant dextrin, NUTRIOSE®10, decreased postprandial glycemic and insulinemic response as well as daylong satiety-related ghrelin profile, compared to maltodextrin. In parallel, the prolonged fermentation and oxidation pattern of NUTRIOSE®10 up to 10 hours after ingestion at breakfast could induced an extended energy release with NUTRIOSE®10 in the late postprandial phase.

In conclusion, the follow-up of metabolic parameters beyond 2 hours after the meal have highlighted the longer-term metabolic effects of the modulation of glucose appearance in plasma (delay, extension, reduction) on glucose kinetics, insulin response, lipolysis and nutrients oxidation.

Keywords : postprandial glucose metabolism / glucose bioavailability / fiber / glycemic index / stable isotopes / insulin / lipolysis / ghrelin / healthy subjects / overweight

« Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes »
« Régulations métaboliques, Nutrition et Diabète » INSERM U870//INRA U1235
Faculté de Médecine Lyon Sud, 165 Chemin du grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite, France

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABBREVIATIONS	15
TRAVAUX PUBLIES / TRAVAUX PERSONNELS	17
INTRODUCTION	19
CHAPITRE 1 - METABOLISME DU GLUCOSE	23
1. Métabolisme du glucose à jeun	25
1.1 Production endogène de glucose	25
Les tissus gluco-formateurs	25
La glycolyse	25
La néoglucogénèse	26
1.2 Utilisation du glucose	26
2. Métabolisme du glucose à l'état postprandial	28
2.1 Digestion et absorption des glucides	28
Les différents glucides	28
Digestion des glucides	29
Absorption des glucides	30
2.2 Transport et utilisation du glucose	31
Les transporteurs du glucose	31
Utilisation du glucose	32
Oxydation du glucose	34
2.3 L'insuline	35
Synthèse de l'insuline	35
Sécrétion de l'insuline	35
Régulation de la sécrétion de l'insuline	36
Insuline et métabolisme du glucose	36
Insuline et métabolisme des acides gras	37
2.4 Autres régulations de la glycémie	37
L'hyperglycémie	37
Régulations hormonales	37
Système nerveux	39
CHAPITRE 2 - MODULATION DE LA GLYCEMIE POSTPRANDIALE	41
1. Pourquoi moduler la glycémie postprandiale :	
implication dans les maladies métaboliques	43
1.1 Epidémiologie du diabète	43
1.2 Du sujet sain, vers l'intolérance au glucose, jusqu'au sujet diabétique de type 2	44
1.3 Hyperglycémie postprandiale et autres risques métaboliques	45

associés	
2. Comment moduler la glycémie postprandiale : outils nutritionnels	47
2.1 Rôle de la nutrition	47
2.2 L'index glycémique (IG)	48
Index glycémique : définition et calcul	48
Facteurs influençant l'index glycémique	49
Index glycémique des aliments	50
Charge glycémique (CG)	51
IG, CC et effets physiologiques	51
2.3 Notion d'aliment fonctionnel	54
2.4 Les fibres alimentaires	56
Définition	56
Sources	57
Types de fibres alimentaires	58
Apports et recommandations	59
Fermentation des fibres	60
Effets physiologiques des fibres	61
Les B-glucanes	68
CHAPITRE 3 - HYPOTHESES ET OBJECTIFS	71
CHAPITRE 4 - SUJETS, MATERIELS ET METHODES	75
1. Etude B-glucanes	77
1.1 Conception	77
1.2 Produits et régime testés	79
1.3 Sujets	81
2. Etude Eurostarch	82
2.1 Conception	82
2.2 Produits et régimes testés	85
2.3 Sujets	89
3. Etude Nutriose	91
3.1 Conception	91
3.2 Produits et régime testés	93
3.3 Sujets	98
4. Méthodes	99
4.1 Recrutement et inclusion des sujets	99
4.2 Mesures anthropométriques	99
4.3 Dosages biochimiques	100
4.4 Mesure du taux d'hydrogène expiré	100

4.5 Mesure de calorimétrie indirecte	101
4.6 Enquêtes alimentaires	101
4.7 Scores de satiété	102
4.8 Analyses isotopiques	102
5. Calculs	106
5.1 Analyses isotopiques du glucose	106
5.2 Oxydation des substrats et métabolisme de base	109
5.3 Index d'insulino-résistance	110
5.4 Index et charges glycémiques (étude Eurostarch)	110
5.5 Analyse des courbes et cinétiques : calcul aire sous courbe et pics	110
6. Analyses statistiques	111
6.1 Calcul effectif	111
6.2 Tests statistiques	112
CHAPITRE 5 - RESULTATS	115
Etude B-glucanes	117
Résumé	118
Introduction	119
<i>Article</i>	
Discussion	121
Etude Eurostarch	123
Résumé	124
Introduction	125
<i>Article</i>	
Discussion	129
Etude Nutriose	133
Résumé	134
Introduction	135
<i>Article</i>	
Discussion	137
CHAPITRE 6 - REFLEXIONS ET PERSPECTIVES	141
BIBLIOGRAPHIE	152
ANNEXES	175

LISTE DES ABREVIATIONS

AGCC	acides gras à chaîne courte
AGNE	acides gras non estérifiés
AMP	adénosine monophosphate
ANOVA	analyse de la variance
APE	atom per excess
ARNm	acide ribonucléique messenger
ASC	aire sous la courbe
ATP	adénosine triphosphate
AUC	area under the curve
BG	B-glucanes
CCK	cholécystokinine
CG	charge glycémique
CHO	carbohydrates
CPG	chromatographie phase gazeuse
CV	cardio-vasculaire
DE	dépense énergétique
DPP-IV	dipeptidyl peptidase-4
EGP	endogenous glucose production
EI	enrichissement isotopique
ESM	erreur standard à la moyenne
GI	glycemic index
GIP	glucose-dependent insulintropic peptide
GL	glycemic load
GIP	glucose-dependent insulintropic peptide
GLP-1	glucagon-like peptide 1
GLD	glucides lentement digestibles
GRD	glucides rapidement digestibles
HbA1c	hémoglobine glyquée
HDL	high density lipoprotein
HGI	high glycemic index
iASC	aire sous la courbe incrémentée
IG	index glycémique
IMC	indice de masse corporelle
LDL	low density lipoprotein
LGI	low glycemic index
Malto	maltodextrine
NEFA	non esterified fatty acid
PEG	production endogène de glucose
Pol	polente
PYY	peptide YY
RaE	débit d'apparition du glucose exogène
RAG	rapidly available glucose
RaT	débit d'apparition du glucose total
RdE	débit de disparition du glucose exogène
RdT	débit de disparition du glucose total
RS	resistant starch (amidon résistant)
SD	standard deviation (écart-type)
SAG	slowly available glucose
SMO	spectroscopie de masse organique
SMI	spectroscopie de masse isotopique
TG	triglycéride

TRAVAUX PUBLIES / TRAVAUX PERSONNELS

Travaux présentés dans ce manuscrit

Nazare, Normand, Triantafyllou et al. (2009) Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects: Effects on glucose and insulin kinetics, *Mol Nutr Food Res*;53(3):361-9

Nazare, de Rougemont, Normand, et al. (2009) Effect of postprandial modulation of glucose availability: short and long-term analysis. *Br J Nutr*, en cours d'impression (*accepté le 11 nov 09*)

Nazare, Sauvinet, Normand et al. (2009) NUTRIOSE®10, a resistant dextrin, induces a prolonged oxidation pattern and alters satiety-related ghrelin profile, manuscrit

Travaux présentés en annexe

de Rougemont, Normand, Nazare, et al. (2007) Beneficial effects of a 5-week low-glycaemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects. *Br J Nutr*; 6: 1288-1298.

Nazare, Laville, Biliaderis, et al. (2008) Novel food ingredients for weight control - Part 2: Ingredients from grains, fruit and vegetables for weight control 7. B-glucans, *Woodhead Publishing Limited*

Cugnet-Anceau et Nazare, Björklund et al. (2009) A controlled study of consumption of beta-glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. *Br J Nutr* 28: 1-7.

Autres travaux

Nazare, de la Perrière, Bonnet, et al. (2007) Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy subjects. *Br J Nutr* ; 2: 273-280.

Nazare, Peronnet et Laville (2008), Sucres, métabolisme musculaire et exercice physique. *Cah de Nut. Diet.* 43 (S1): 217-220.

Laville and Nazare (2009) Diabetes, insulin resistance and sugars. *Obes Rev*;10 Suppl 1:24-33.

Nazare, Disse, Vidal et Laville (2009) Link between food and health: From gene expression to nutritional recommendations. *Food Quality and Preference*, Volume 20, Issue 8 : 537-538

INTRODUCTION

Que ton aliment soit ta seule médecine

Hippocrate, 460-377 av J.-C.

Le rôle fondamental de l'alimentation est de fournir suffisamment de nutriments sources d'énergie pour répondre aux besoins métaboliques d'un individu et de donner au consommateur une sensation de satisfaction voire de bien-être, par des vecteurs hédoniques comme le goût. Au-delà de la couverture des besoins nutritionnels classiques, le rôle additionnel des aliments sur certains paramètres physiologiques a été approfondi ces dernières années. En effet, depuis les années 1980, un changement notable des relations alimentation-santé est observé en Europe et aux Etats-Unis. Le rôle de l'alimentation était jusqu'alors cantonné majoritairement à satisfaire les besoins nutritionnels des individus et représentait un facteur de risque potentiel de certaines pathologies cardio-vasculaires ou métaboliques comme le diabète de type 2 ou l'obésité. Puis, la tendance a évolué vers une prise en compte à la fois des aspects négatifs de l'alimentation sur la santé mais aussi de ses interactions positives possibles. Nous sommes ainsi passés d'un concept de régime alimentaire restrictif (moins de sel, de lipides,...) à des implications plus positives (5 fruits et légumes par jour, fibres alimentaires,...)(Pascal et al. 2006). Cela s'est notamment concrétisé par le développement, aux Etats-Unis, en Europe et en France, de Centres de Recherche en Nutrition Humaine pour mieux étudier les relations alimentation-santé, en intégrant des équipes pluridisciplinaires dans des programmes de recherche ciblés.

Dans ce sens, l'impact glycémique de l'alimentation sur la santé, à travers la quantité et la qualité notamment des glucides ingérés, est toujours l'objet de recherches et de débats. L'hyperglycémie postprandiale suite à l'ingestion de certains aliments pourrait constituer un facteur de risque pour certaines pathologies métaboliques. La réduction de cette hyperglycémie postprandiale a été proposée comme outil pour diminuer ce risque de diabète ou de maladies cardio-vasculaires, tout comme la réduction de l'apport de lipides alimentaires en excès.

Selon les recommandations, les glucides devraient représenter environ 50% des apports énergétiques quotidiens. Le glucose est la source d'énergie principale des cellules humaines. Certains tissus comme le cerveau sont même dépendants d'un apport continu de glucose. Par conséquent, il est nécessaire que l'homéostasie du glucose soit respectée et maintenue au niveau de l'organisme. Cette régulation de la production et de l'utilisation du glucose est donc mise en place pour pallier la discontinuité et la variabilité des apports et de l'utilisation au cours de la journée et de la nuit (période de jeun) et ainsi normaliser la glycémie.

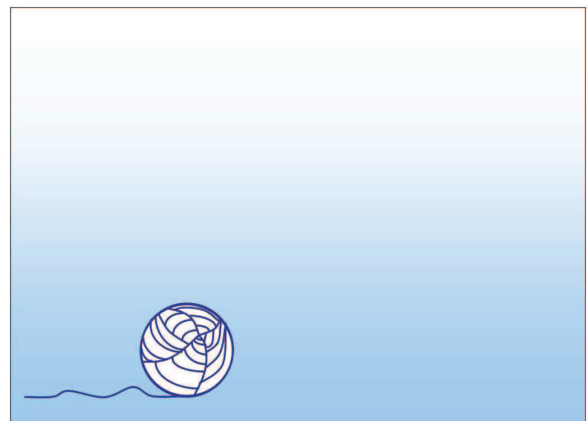
Différents outils nutritionnels ont été développés afin de limiter/moduler ces excursions glycémiques postprandiales en jouant sur le choix des glucides, sur la biodisponibilité du glucose, la vitesse de digestion des glucides, le degré de gélatinisation de l'amidon, la teneur en fibres ... soit par action sur certains aliments amylacés soit par le développement de nouveaux aliments fonctionnels. Cependant, les effets de ces différents aliments sur la cinétique de la réponse glycémique postprandiale (pic, aire sous la courbe, retour à la concentration basale) ne sont probablement pas les mêmes, tout comme leurs effets métaboliques à court et long terme

L'étude de l'effet des aliments sur les fonctions biologiques nécessite une connaissance précise des mécanismes physiologiques concernés et de leur régulation. Il est donc nécessaire de choisir des conditions expérimentales pertinentes et adaptées pour l'étude de ces fonctions. Par exemple, pour ce qui touche à la régulation de la glycémie, il semble primordial d'aborder les effets potentiels de tel ou tel aliment lors de tests dynamiques, non seulement en aigu mais aussi au cours de la journée ou à plus long terme. De plus, l'utilisation d'isotopes stables permet une caractérisation précise des débits d'apparition et de disparition du glucose (total, exogène et endogène) sous-jacentes à la réponse glycémique globale.

De telles approches peuvent permettre de mieux connaître les mécanismes d'action et les effets des différents aliments ou ingrédients fonctionnels sur la réponse glycémique postprandiale et les autres paramètres métaboliques, et d'alimenter ainsi les connaissances sur la relation entre réponse glycémique postprandiale et santé.

CHAPITRE 1

Métabolisme du glucose



1. Métabolisme du glucose à jeun

A jeun, le maintien de la concentration plasmatique de glucose est assuré par la production endogène de glucose. Elle reste stable (5 mmol/l chez le sujet sain), ce qui indique que les débits d'utilisation et de production sont égaux, c'est-à-dire environ 2.2 mg/kg/min (1.8 à 2.6 mg/kg/min) chez les sujets sains.

1.1 La production endogène de glucose

Les tissus glucoformateurs

Les 3 principaux tissus glucoformateurs sont le foie, le rein et l'intestin. Pour des sujets en bonne santé, la production endogène de glucose nette provient de la glycogénolyse et de la gluconéogenèse (Wolever et al. 2008).

Le foie est un organe très important dans l'homéostasie du glucose, qui permet d'éviter les hypoglycémies interprandiales en assurant près de 85% de la production endogène de glucose (Mittelman et al. 1997).

La production de glucose par le rein pourrait atteindre 45% chez le rat (Mithieux et al. 2006) et 20% chez l'Homme (Ekberg et al. 1999). La production de glucose par l'intestin est très faible, inférieure à 10%.

Une enzyme clé de la production endogène de glucose, présente dans ces 3 tissus, est la glucose-6-phosphatase qui transforme le glucose-6-phosphate en glucose qui sera ensuite libéré dans le sang.

La glycogénolyse permet le maintien de la glycémie dans les premiers temps du jeûne, puis la néoglucogénèse intervient si le jeûne se prolonge.

La glycogénolyse

La glycogénolyse est la production de glucose à partir du glycogène. La dégradation du glycogène par la glycogène phosphorylase libère du glucose-1-phosphate. Cette enzyme est activée par le glucagon et l'adrénaline et inhibée par l'insuline et la concentration de glucose intracellulaire (Stalmans et al. 1987). Transformé ensuite en glucose-6-phosphate, il sera transformé via l'action de la glucose-6-phosphatase en glucose qui sera libéré dans la circulation sanguine.

La néoglucogénèse

La notion de néoglucogénèse a été introduite par Claude Bernard, découvrant que le foie était capable de produire du sucre (Bernard 1877). La néoglucogénèse se définit comme la production de glucose à partir de précurseurs non glucidiques et se met en place lorsque les réserves de glycogène ne sont plus suffisantes. Ces précurseurs peuvent être le lactate, le pyruvate, le glycérol et les acides aminés, dont principalement la glutamine et l'alanine. Pour éviter l'activation simultanée de la glycolyse et de la néoglucogénèse à partir de ces substrats, ces voies sont régulées : une forte concentration d'AMP (baisse du niveau d'énergie intracellulaire) active la phosphofructokinase, une enzyme clé unique à la glycolyse, et inhibe la fructose 1,6-biphosphatase de la gluconéogénèse. À l'inverse, l'ATP et le citrate, marqueurs d'un niveau d'énergie cellulaire largement positif, favorisent la néoglucogénèse tout en freinant la glycolyse.

1.2 Utilisation du glucose

A jeun, la majorité de la production endogène de glucose est utilisée par les tissus non insulino-dépendants, le cerveau, les hématies, la rétine...

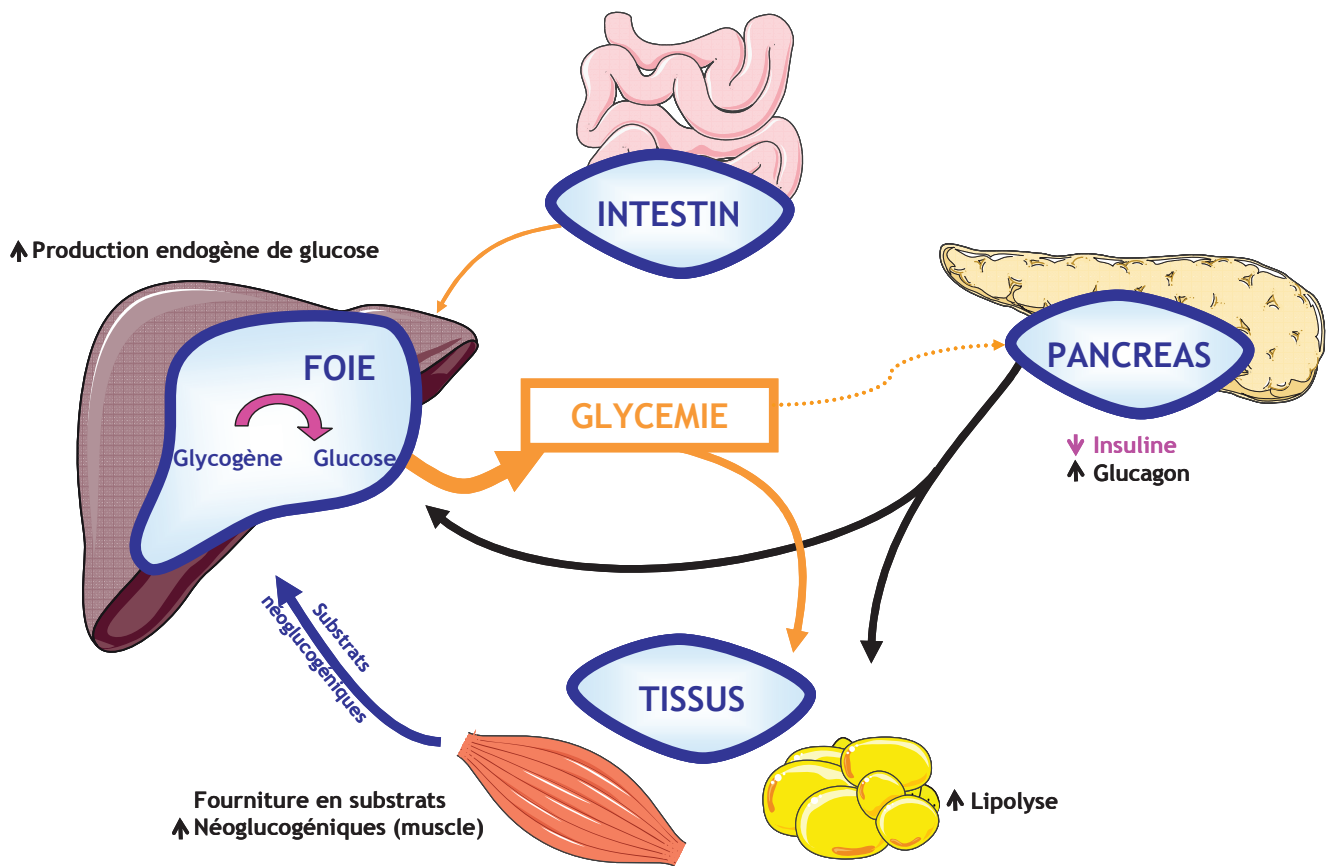


Figure 1 : Métabolisme du glucose à jeun

2. Métabolisme du glucose à l'état postprandial

Après le repas, l'absorption du glucose provoque une arrivée de glucose exogène dans la circulation à un taux 2 fois supérieur à la production endogène de glucose post-absorptive. Quand le glucose est absorbé, la production endogène de glucose est freinée et en parallèle l'utilisation du glucose par les tissus insulino-dépendants est stimulée.

L'homéostasie glucidique est principalement basée sur l'action de l'insuline sur les tissus glucoformateurs (foie, rein, intestin) et sur les tissus utilisateurs (muscles striés squelettiques principalement), mais aussi sur l'action du glucagon, des catécholamines et de certains nutriments ou de messages nerveux.

2.1 Digestion et absorption des glucides

Les différents glucides

Les glucides peuvent être divisés en 3 catégories, selon leur degré de polymérisation :

- Les monosaccharides (glucose, fructose, galactose) et les disaccharides (saccharose, lactose, maltose). Il existe également les polyols.
- Les oligosaccharides, constitués de 3 à 9 saccharides. Ils comprennent :
 - o les malto-saccharides, digestibles, composés d'unités glucose comme les maltodextrines, obtenues par transformation (hydrolyse) de l'amidon
 - o les autres oligosaccharides, peu digestibles et présents naturellement dans les plantes
- Les polysaccharides (au-delà de 10 saccharides):
 - o Les amidons : digestibles et présents dans de nombreux aliments. L'amidon est un mélange de 2 polymères, l'amylose, légèrement ramifié avec de courtes branches (600 à 1000 molécules unités de glucose) et l'amylopectine, molécule ramifiée avec de longues branches toutes les 24 à 30 unités glucose par l'intermédiaire des liaisons α (1-6) (10 000 à 100 000 molécules de glucose). La taille et la morphologie des granules,

les proportions d'amylose et d'amylopectine les composant, dépendent de l'origine botanique de l'amidon et conditionnent sa digestibilité.

- Les autres polysaccharides, non digestibles (cellulose, hémicellulose, hydrocolloïdes,...)

Digestion des glucides

Digestion intestinale des disaccharides et oligosaccharides

Les disaccharides et oligosaccharides de l'alimentation et ceux obtenus après action des α -amylases sont hydrolysés au niveau de la bordure en brosse des entérocytes, qui présente de nombreuses enzymes appelées disaccharidases ou oligosaccharidases. On en distingue deux familles :

- les α -glucosidases, comprenant la saccharase-isomaltase et la glucoamylase qui hydrolysent le saccharose, le maltose et les oligosaccharides provenant de l'action de l' α -amylase sur l'amidon, et la tréhalase qui hydrolyse le tréhalose.
- la lactase, qui hydrolyse le lactose en galactose et en glucose.

Digestion intraluminaire de l'amidon

L'amidon de nos aliments est formé de deux polymères de glucose distincts : l'amylose (linéaire) et l'amylopectine (ramifiée). Les unités qui composent les chaînes d'amidon sont liées entre elles par des liaisons α (1-4) et par l'intermédiaire des liaisons α (1-6) pour les ramifications.

La digestion de l'amidon commence dans la bouche dès la mastication sous l'influence de l' α -amylase salivaire, qui hydrolyse les liaisons α (1-4) de l'amylose et de l'amylopectine. La digestion se poursuit ensuite dans l'estomac. Ensuite, dans la lumière intestinale, elle est essentiellement effectuée par l' α -amylase pancréatique, enzyme majeure du suc pancréatique, qui clive l'amidon au niveau des liaisons α (1-4) glucosidiques de la même manière pour donner des oligosaccharides et des disaccharides. L'activité de cette enzyme dans la lumière duodénale est si importante que l'amidon est majoritairement transformé dès les premières anses jéjunales, permettant aux enzymes de la bordure en brosse des entérocytes de poursuivre très tôt la digestion des glucides.

Suite à l'action de ces enzymes, les glucides sont clivés en leurs trois monosaccharides constitutifs : le glucose (80 %), le galactose et le fructose. C'est sous cette forme qu'ils pourront être absorbés par l'intestin.

Digestion dans le côlon

Certains glucides ne sont pas digérés totalement dans l'intestin grêle, comme par exemple les fibres alimentaires ou les amidons résistants. Dans ce cas, les glucides qui atteignent le côlon vont subir une fermentation bactérienne. Celle-ci débute par l'hydrolyse des polysaccharides en hexoses et pentoses par des enzymes bactériennes extra-cellulaires. Puis, leur fermentation a lieu dans la cellule bactérienne et produit d'une part des acides gras à chaîne courte (acides acétique, propionique, butyrique et lactique) et des gaz (hydrogène, gaz carbonique et méthane), en proportion variable selon la nature de la fibre et de la flore bactérienne. Les produits de la fermentation sont ensuite absorbés par la paroi colique. Ils peuvent aussi être utilisés localement par les bactéries coliques et excrétés dans les selles.

Absorption des glucides (figure 2)

Les glucides, réduits en monosaccharides par la digestion, vont être absorbés au niveau des entérocytes selon des mécanismes différents et spécifiques.

Absorption du glucose et du galactose

C'est le mécanisme prépondérant de l'absorption des glucides puisqu'il permet l'absorption de plus de 80 % des monosaccharides, seul le fructose étant exclu de ce mécanisme. C'est un processus actif, saturable, consommateur d'énergie (ATP), qui permet le transport concomitant d'une molécule de glucose parallèlement à deux ions Na^+ . Le glucose et le Na^+ se fixent au pôle apical de l'entérocyte sur un transporteur appelé SGLUT1. La pompe Na^+-K^+ ATPase permet ensuite de maintenir un gradient de Na^+ dans la cellule en excréant le Na^+ dans la circulation sanguine par le pôle basolatéral.

Le glucose quitte l'entérocyte pour passer dans la circulation sanguine (système porte) par un mécanisme de diffusion facilitée grâce à un transporteur spécifique GLUT2, localisé dans la membrane et saturable pour une concentration de glucose supérieure à 50 mmol/L.

Absorption du fructose

Le fructose possède un transporteur spécifique sur la membrane apicale de l'entérocyte, appelé GLUT5. Son affinité pour le fructose est assez faible, et l'absorption du fructose n'est pas dépendante d'un mécanisme conjoint avec le sodium.

Le fructose quitte l'entérocyte pour passer dans la circulation sanguine par le même transporteur que le glucose, GLUT2, situé sur le pôle basolatéral de l'entérocyte.

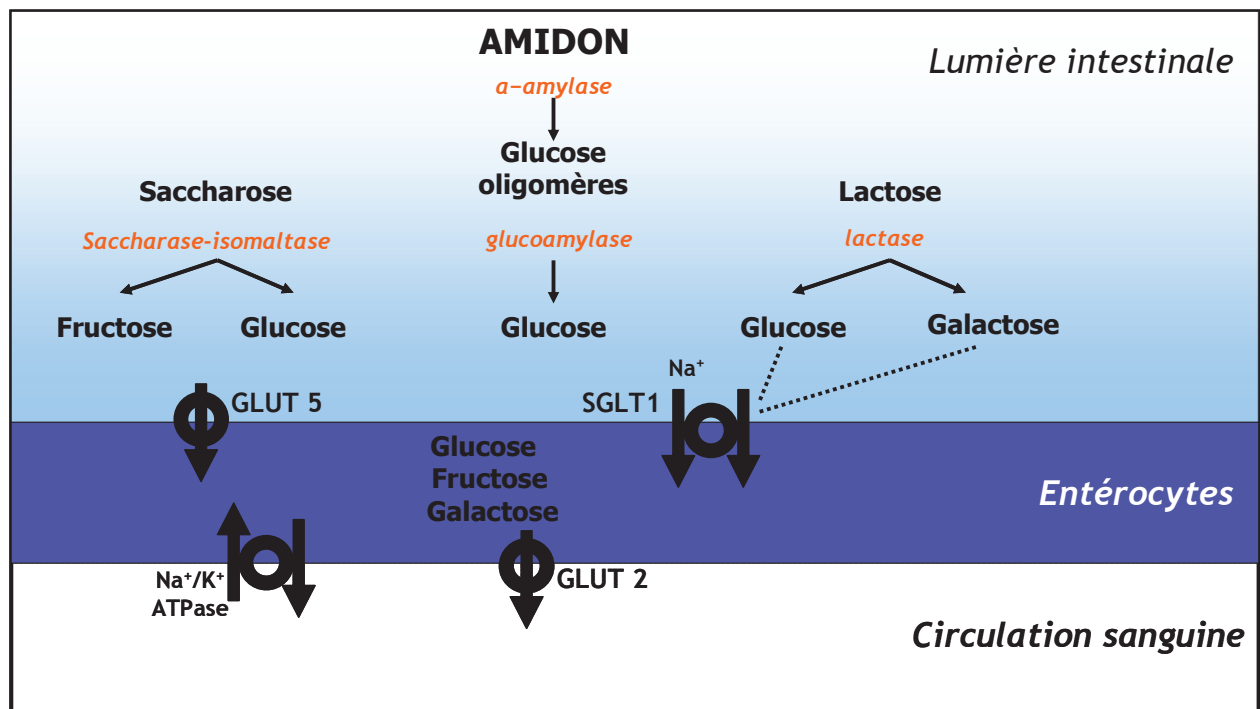


Figure 2 : Absorption des glucides

2.2 Le transport et l'utilisation du glucose

Les transporteurs du glucose

Les transporteurs membranaires du glucose appartiennent à deux familles distinctes:

- les transporteurs réalisant un symport Na⁺ /Glucose (SGLT)
- les transporteurs réalisant un transport facilité du glucose (GLUT)

À ce jour, 12 isoformes ont été caractérisées (GLUT1 à GLUT12). Ces transporteurs diffèrent en termes de distribution cellulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative aux hexoses transportés. Les principales isoformes pour la régulation de l'homéostasie glucidique sont GLUT1, GLUT2, GLUT3, GLUT4 et GLUT5 dont les caractéristiques sont décrites dans le tableau 1 :

Transporteur du glucose	Caractéristiques principales
GLUT1	Très largement répandu. Particulièrement abondant dans la membrane des hématies. Cellules endothéliales, cellules nerveuses, placenta, tissu adipeux.
GLUT2	Prédominant dans la membrane des cellules pancréatiques et dans les cellules hépatiques, transporte également fructose et galactose
GLUT3	Retrouvé principalement dans les neurones cérébraux et dans le muscle fœtal
GLUT4	Retrouvé dans les tissus cibles de l'insuline
GLUT5	Membrane luminale de l'entérocyte (transporteur du fructose). Muscles squelettiques et adipocytes

Tableau 1 : Les transporteurs du glucose

Utilisation du glucose (Figure 3)

Suite à son absorption intestinale, le glucose est déversé dans la veine porte. Environ 30% du glucose absorbé est capté par le foie lors du premier passage et le reste du glucose atteint la circulation sanguine pour être ensuite capté par les tissus périphériques.

Il existe deux types de tissus :

- les tissus non insulino-dépendants pour le glucose : ils ont une consommation régulière et continue en glucose, qui est leur source quasi exclusive d'énergie. Il s'agit du cerveau, des hématies, des leucocytes, de la rétine,...
- les tissus insulino-dépendants pour le glucose: principalement le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux. Dans ces tissus, l'insuline stimule l'utilisation du glucose par l'augmentation de son captage et l'activation de la glycolyse et de ses formes de stockage.

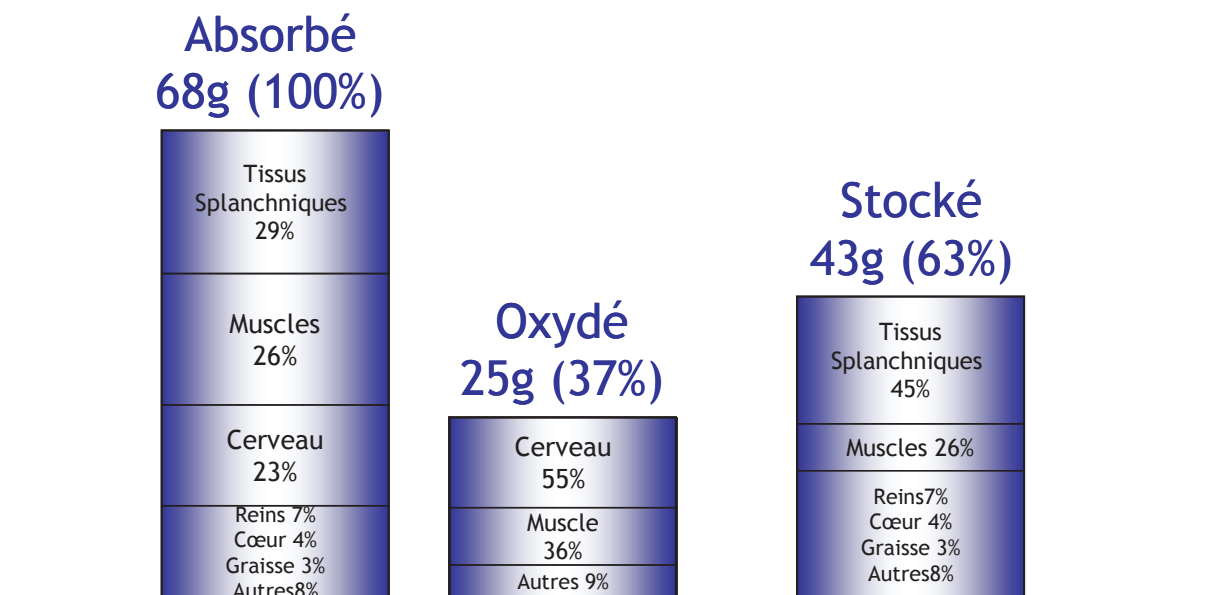


Figure 3 : Devenir métabolique d'une charge orale en glucose chez des sujets sains (D'après Kelley et al. 1988)

Dans le foie

Suite à l'ingestion de glucose, la production hépatique de glucose est freinée et son captage est stimulé.

En effet, le foie minimise l'hyperglycémie postprandiale aussi en augmentant le captage du glucose à partir de la veine porte (Radziuk et al. 1978; Ferrannini et al. 1985). Il est estimé que environ 1/3 du glucose ingéré oralement est capté par le foie (Bratusch-Marrain et al. 1980). Le captage du glucose par les hépatocytes se fait via les transporteurs GLUT-2 non insulino-dépendants et par conséquent dépend principalement de la différence de concentration en glucose de part et d'autre de l'hépatocyte. Le glucose est ensuite phosphorylé en glucose-6-phosphate, puis utilisé soit pour la synthèse de glycogène, soit pour la voie des pentoses phosphates et/ou vers la glycolyse.

L'inhibition de la production endogène de glucose comporte deux aspects : l'inhibition de la glycogénolyse et l'inhibition de la néoglucogénèse, moins sensible. La régulation de la néoglucogénèse se fait essentiellement grâce à l'action d'hormones activatrices (glucagon, adrénaline) ou inhibitrices (insuline) via une régulation des enzymes clé de la néoglucogénèse (pyruvate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxykinase,

fructose-1.6-biphosphatase) et via la modulation de la disponibilité en substrats néoglucogéniques.

La quantité de glucose oxydé par le foie est faible, l'énergie étant plutôt fournie par les autres substrats tels que les acides gras non estérifiés et les acides aminés.

Dans le muscle squelettique

Après un repas, le captage du glucose par le muscle squelettique contribue à environ 1/3 du captage total du glucose (1/3 par le foie et 1/3 par les tissus non insulino-dépendants) (Kelley et al. 1988).

Dans les cellules des muscles squelettiques, l'insuline se fixe sur son récepteur via sa sous-unité α extracellulaire, elle active son activité kinase et, dans un premier temps, l'autophosphorylation de sa sous-unité β transmembranaire. Puis la stimulation de la voie PI3K (Phosphatidylinositol-3 Kinase) initiée par les protéines IRS (*insulin receptor substrate*), provoque la mobilisation rapide d'un pool de transporteurs de glucose GLUT-4 depuis des vésicules intracellulaires vers la membrane plasmique (Saltiel & Kahn 2001). La captation du glucose serait maximale au niveau du muscle pour des insulinémies supérieures à 200 mU/l, cependant l'insulinémie postprandiale chez le sujet sain après ingestion de glucose est de 40 à 100 mU/l (Rizza et al. 1981).

Le transport du glucose est l'étape limitante du métabolisme musculaire du glucose. Le glucose devient une source d'énergie immédiate et est ensuite soit métabolisé au cours de la glycolyse puis oxydé dans le cycle de Krebs, soit donne lieu à la production de lactate, soit est stocké sous forme de glycogène, qui compte pour près de 70% des réserves glucidiques de tout l'organisme. Suite à l'ingestion de 1g/kg de glucose chez des volontaires sains, Kelley a montré que 50% du glucose était oxydé par la voie de la glycolyse, 15% servait à la production de lactate et 35% était stocké (Kelley et al. 1988). La synthèse de glycogène augmente avec la quantité de glucose absorbée (Moeri et al. 1988), mais est aussi régulée au niveau des enzymes impliquées comme la glycogène synthase (mécanismes de phosphorylation) (Andreelli & Girard 2005).

Oxydation du glucose

Moeri a montré que pour des quantités croissantes de glucose ingéré (jusqu'à 150 g), l'oxydation n'augmentait pas de manière proportionnelle, à l'inverse du stockage (Moeri et al. 1988).

2.3 L'insuline

Synthèse de l'insuline

Le gène de l'insuline code pour un ARN m qui permet de produire une prohormone, la proinsuline. La proinsuline subit ensuite une étape de maturation dans l'appareil de Golgi : la proinsuline est clivée pour donner deux hormones, le peptide C et l'insuline, qui sont ainsi produites en quantité équimolaire. L'insuline, contenue dans les granules de sécrétion, est ensuite sécrétée dans le plasma par exocytose. Le glucose agit comme régulateur de l'expression du gène de l'insuline et sur la dégradation de l'ARNm associé.

Sécrétion de l'insuline

L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas directement dans la veine porte en fonction du niveau glycémique. La sécrétion d'insuline dépend tout d'abord de la concentration de glucose plasmatique, et de sa régulation par des facteurs nutritionnels et hormonaux, ou par des neurotransmetteurs. L'action du glucose sur la sécrétion d'insuline est déclenchée par l'entrée de ce dernier dans la cellule β par diffusion facilitée, grâce au transporteur GLUT-2.

Le profil de sécrétion de l'insuline est biphasique de manière caractéristique chez le sujet sain. Il comprend un premier pic de sécrétion ou pic précoce, suivi d'une augmentation plus progressive ou pic tardif qui dure le temps de la stimulation (par exemple tout au long de l'excursion hyperglycémique postprandiale). Il a été montré que la perte du pic précoce de sécrétion d'insuline induite par une perfusion de somatostatine pendant un test de tolérance orale au glucose diminue la tolérance au glucose chez des sujets sains et indique le rôle important de la cinétique de sécrétion de l'insuline dans le contrôle de la glycémie postprandiale (Calles-Escandon & Robbins 1987). La disparition de cette première phase précoce de sécrétion est un des premiers signes de l'apparition du diabète de type 2 et des altérations métaboliques associées.

Une fois sécrétée dans la veine porte, l'insuline sera dégradée à hauteur de près de 50% dans le foie avant de rejoindre la circulation périphérique. Ainsi le foie est exposé à des concentrations en insuline plus importantes que les autres organes (Girard 2007).

Régulation de la sécrétion d'insuline

Le glucose est le plus puissant potentialisateur de la sécrétion d'insuline, indépendamment des autres nutriments. Parmi les autres glucides, l'amidon a un effet moindre comparé au glucose et le fructose ne stimule pas la sécrétion d'insuline.

Le glucagon favorise sa sécrétion, de même que l'acétylcholine. Par contre, sa sécrétion est inhibée par la somatostatine et les catécholamines.

De la même manière les corps cétoniques et les protéines, via l'action des acides aminés, ont un effet insulino-trope (Floyd et al. 1966a; Floyd et al. 1966b; Nilsson et al. 2007).

En chronique, des concentrations élevées en AGNE plasmatiques, altèrent les capacités sécrétoires des cellules β et par conséquent la sécrétion d'insuline (Carpentier et al. 1999). De plus, l'implication des niveaux de concentrations en AGNE dans l'altération de l'action de l'insuline (Boden et al. 1994) et le développement de l'insulino-résistance et du diabète de type 2 a été largement démontrée (Randle et al. 1963; Kahn et al. 2006).

Insuline et métabolisme du glucose

L'insuline est la principale hormone gluco-régulatrice. Elle module la concentration plasmatique en glucose en régulant d'une part la production endogène de glucose par les principaux tissus glucoformateurs (foie, reins, intestin) (inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse) et d'autre part le captage et l'utilisation du glucose par les tissus gluco-utilisateurs.

L'insuline est un inhibiteur puissant de la production endogène de glucose, via son action au niveau de la transcription des gènes et de l'activité des enzymes de la néoglucogénèse. Ainsi, le doublement de l'insulinémie portale réduit de 80% la production hépatique de glucose (Girard 2007). En effet, le foie n'ayant pas de barrière endothéliale est directement en contact avec l'insuline sécrétée dans la veine porte. Au niveau hépatique, l'insuline réduit l'expression de PEPCCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) et de G6P (glucose-6-phosphatase), les deux enzymes limitantes de la néoglucogénèse (Cherrington et al. 1998; Girard 2006).

Mais une partie des actions de l'insuline sur la néoglucogénèse passe indirectement via d'autres tissus cibles de l'insuline. En effet, l'inhibition de la lipolyse (tissu adipeux) et de la protéolyse (muscle squelettique) diminue la biodisponibilité au niveau du foie en

substrats néoglucogéniques (acides aminés et glycérol) et de cette manière inhibe la néoglucogénèse. De plus, l'inhibition de la lipolyse s'accompagne d'une diminution de l'oxydation lipidique qui fournit l'ATP nécessaire aux enzymes de la néoglucogénèse (Coppack et al. 1994). D'autres actions inhibitrices indirectes par l'insuline passeraient par l'inhibition de la sécrétion de glucagon (Mittelman et al. 1997), et aussi par une action au niveau hypothalamique.

Insuline et métabolisme des acides gras

L'insuline est également un puissant inhibiteur de la lipolyse, ce qui favorise l'accumulation de triglycérides dans les adipocytes. Elle inhibe la lipase HSL (hormon-sensible lipase), l'enzyme clé de la lipolyse (Holm 2003). Ainsi, la lipolyse est presque complètement inhibée pour des insulïnémies supérieures à 20mU/l quand l'inhibition de la production endogène de glucose nécessite des insulïnémies supérieures à 40 mU/l (Rizza et al. 1981).

Le tissu adipeux emmagasine de l'énergie principalement sous forme de triglycérides, ce qui représente plus de 80% des réserves d'énergie pour l'organisme. L'insuline stimule aussi l'activation de la lipogénèse, voie néanmoins mineure (Hellerstein et al. 1996) comparée à la captation et à l'estérification d'acides gras libres provenant des lipoprotéines sanguines.

2.4 Autres régulations de la glycémie

L'hyperglycémie

Il a aussi été montré que l'hyperglycémie en elle-même pouvait réguler la réponse glycémique en diminuant la production endogène et en augmentant l'utilisation du glucose (et plus particulièrement le stockage) (Rigalleau et al. 2006).

Régulations hormonales

La régulation de la glycémie postprandiale met en jeu des régulations hormonales complexes. Le métabolisme du glucose est régulé principalement par l'équilibre entre

l'action de l'insuline d'une part et celle des hormones cataboliques (ou de stress) d'autre part: glucagon, adrénaline, cortisol, hormone de croissance.

Le glucagon est la principale hormone contre-régulatrice de l'insuline (Jiang et al. 2003). C'est une hormone synthétisée par les cellules α du pancréas, qui est libérée quand la glycémie est basse. Il stimule la production de glucose par le foie en augmentant la glycogénolyse et la néoglucogénèse et en diminuant la synthèse de glycogène et la glycolyse, ceci par des actions régulatrices sur les enzymes clés de ces différentes voies métaboliques (Jiang et al. 2003). C'est donc le rapport insuline/glucagon qui contrôle la régulation du métabolisme hépatique du glucose. Son action sur les tissus périphériques est plus limitée. La sécrétion de glucagon est inhibée par l'ingestion de glucose et d'acides gras.

L'amyline est une hormone co-sécrétée avec l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas et elle ralentit la vidange gastrique (Castillo et al. 1995).

La notion d'incrétine a été mise en évidence par l'observation d'une sécrétion d'insuline plus importante suite à l'ingestion de glucose par voie orale que par administration par voie veineuse de la même quantité de glucose (Unger & Eisentraut 1969). Les hormones peptidiques intestinales libérées par les cellules de l'intestin potentialisent l'effet du glucose sur la sécrétion d'insuline et sont responsables de 50 à 70 % de la sécrétion d'insuline postprandiale. Les deux principaux peptides responsables de ces effets en réponse à l'ingestion de nutriments sont le GLP-1 (Glucagon-Like Peptide 1) et le GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Peptide) (Holst & Gromada 2004; Drucker & Nauck 2006). Le GIP est produit majoritairement par les cellules K du duodénum et du jéjunum proximal.

Le GLP-1 est produit au niveau des cellules L du jéjunum et de l'iléon, à partir d'une maturation du pro-glucagon. La majorité du GLP-1 circulant est sous sa forme amide : GLP-1 (7-36). Suite à l'ingestion de nutriments, le GLP-1 est sécrété rapidement dans les 5 à 15 minutes, avec un pic entre 30 et 60 minutes selon le type de nutriments ingérés (Meier et al. 2002). Il est très rapidement inactivé dans la circulation par son clivage par la protéase DPP-IV. Le GLP-1 a un rôle important au niveau iléal, puisqu'il régule le flux de nutriments entre l'estomac et l'intestin grêle (Nauck et al. 1997). Le GIP et le GLP-1 exercent leur effet insulinothopique au niveau des cellules β -pancréatiques, après fixation sur des récepteurs spécifiques. Leur action n'est enclenchée qu'en présence

d'un état de normoglycémie, et ils n'ont pas d'effet insulino-trope en l'absence de glucose ce qui évite les risques d'hypoglycémie.

L'adrénaline a les mêmes effets que le glucagon dans le foie, elle permet la libération des substrats de la néoglucogénèse et inhibe l'utilisation du glucose via les récepteurs β -adrénergiques. Elle stimule la lipolyse dans le tissu adipeux, augmente les AGNE circulants, favorise l'oxydation des lipides au profit de l'oxydation des glucides. Elle inhibe également la sécrétion d'insuline via les récepteurs α -adrénergiques au niveau des cellules B du pancréas.

Le cortisol, principal glucocorticoïde, est sécrété lors d'un stress physiologique et quand l'organisme doit mobiliser ses réserves. Le cortisol inhibe l'utilisation du glucose dans le muscle et le tissu adipeux et augmente la production hépatique du glucose. Il stimule aussi la lipolyse.

L'hormone de croissance présente les mêmes effets.

Le système nerveux

Au niveau du foie, la stimulation du système nerveux sympathique active la glyco-génolyse et la néoglucogénèse et par conséquent la production de glucose. Alors que le système nerveux parasympathique, à l'inverse, augmente la glyconéogénèse et la glycolyse et par conséquent l'utilisation hépatique du glucose (Pénicaud 2001).

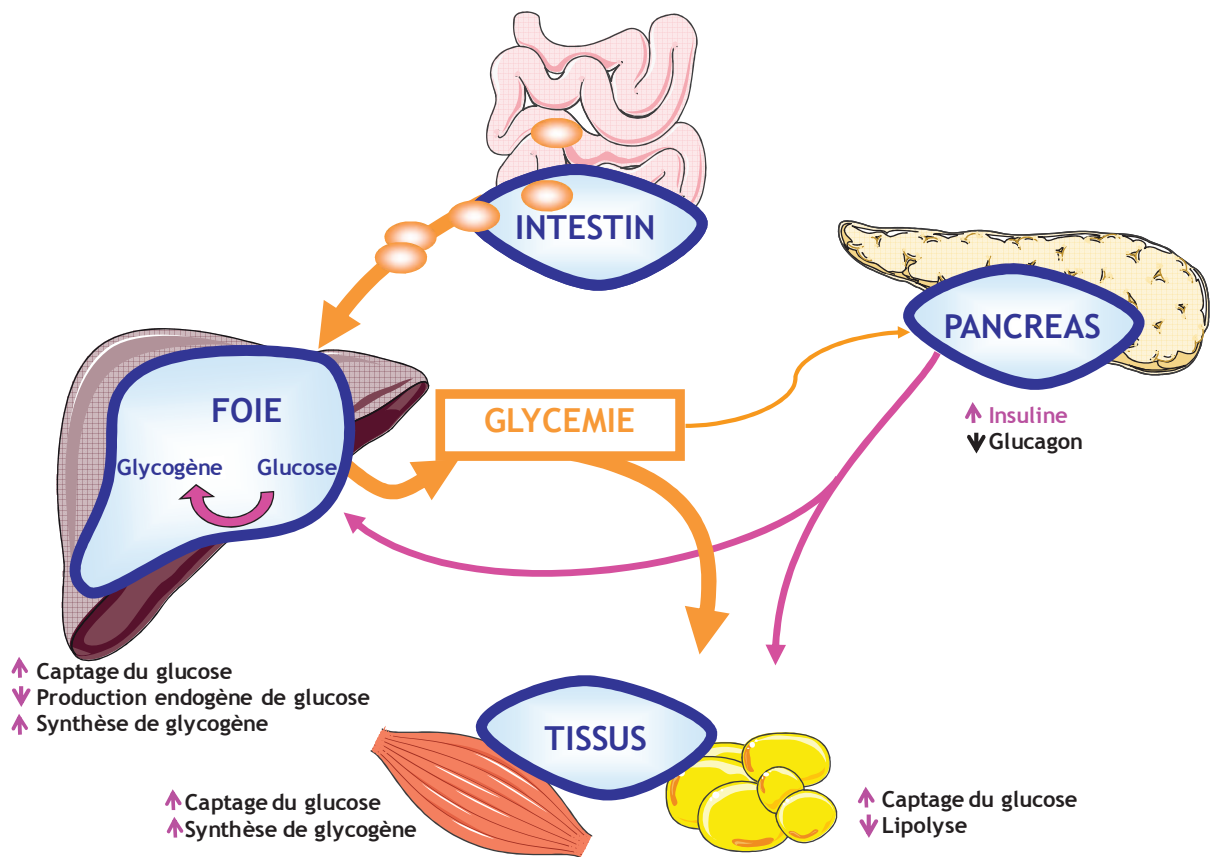


Figure 4 : Métabolisme du glucose à l'état postprandial

CHAPITRE 2

Modulation de la glycémie postprandiale



1. Pourquoi moduler la glycémie postprandiale : implication dans les maladies métaboliques

1.1 Epidémiologie du diabète

Actuellement le nombre de personnes diabétiques dans le monde est estimé à 246 millions (International Diabetes Federation 2006), dont 85 à 95% sont atteintes de diabète de type 2. Cette maladie est maintenant devenue l'une des principales causes de décès dans les pays industrialisés et la même tendance apparaît aussi dans les pays en voie de développement. En effet, d'après les estimations, le nombre de diabétiques pourrait augmenter de 50% d'ici 2030, plus particulièrement en Afrique, Asie et Amérique du Sud (Wild et al. 2004). En France, la prévalence du diabète diagnostiqué est de l'ordre de 3,95%, soit environ 2,5 millions de patients en 2007.

Une grande partie des coûts médicaux et socio-économiques associés à cette maladie sont principalement causés par les complications associées. Chez les patients diabétiques, la morbidité et la mortalité cardiovasculaires sont multipliées par 2 à 4 par rapport aux personnes non diabétiques (Zimmet et al. 2001). L'obésité est un des facteurs de risque principaux du diabète de type 2 (Colditz et al. 1995).

Des facteurs de prédisposition génétique mais aussi environnementaux sont impliqués dans le développement du diabète de type 2. La présence d'antécédents familiaux multiplie par 2 à 4 le risque de diabète de type 2 (Pierce et al. 1995). L'appartenance à un groupe ethnique à risque est aussi un facteur de risque majeur (Rabasa-Lhoret & Laville 2001). Il est estimé que 90 % des cas de diabète sont dus au mode de vie (sédentarité, obésité) (Hu et al. 2001). Chez les personnes à risque, les modifications du mode de vie telles que l'augmentation de l'activité physique, la réduction des apports alimentaires, la perte de poids réduisent le développement du diabète. Un autre facteur aggravant important, dont le rôle a été récemment identifié, est le manque de sommeil (Spiegel et al. 1999).

1.2 Du sujet sain, vers l'intolérance au glucose, jusqu'au diabète de type 2

La figure 5 présente les critères diagnostiques du diabète de type 2 et des autres formes d'état hyperglycémique non diabétique : les personnes intolérantes au glucose et les personnes présentant une hyperglycémie à jeun. Ces dernières sont considérées comme pré-diabétiques, car elles ont un risque accru de développer un diabète de type 2 par la suite (de Vegt et al. 2001) ou une pathologie CV (Schnell & Standl 2006).

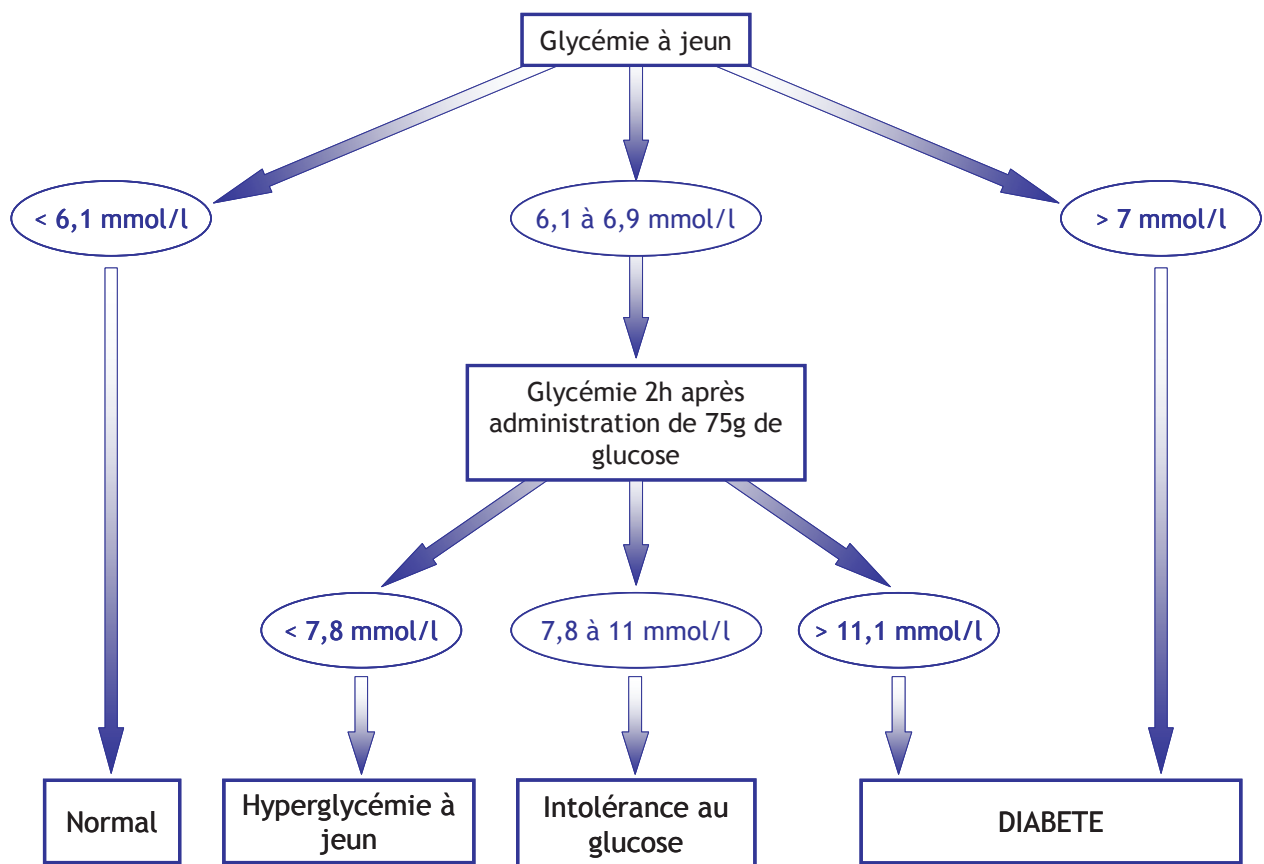


Figure 5: Critères diagnostiques du diabète de type 2 (D'après American Diabetes Association 2007)

Chez les personnes ayant une tolérance normale au glucose, l'excursion glycémique au delà de la valeur basale dépasse rarement deux heures.

L'intolérance au glucose est un état défini par une élévation de la glycémie deux heures après une charge orale en glucose. Cet état se caractérise par une augmentation de la glycémie postprandiale causée par une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus

périphériques cibles et par un hypersinsulinisme réactif. A cette étape, les dégradations du contrôle glycémique restent limitées à la phase postprandiale.

Ensuite, le diabète de type 2 peut apparaître, caractérisé par une glycémie à jeun supérieure à 7 mmol/l. Le passage entre ces deux états se fait par :

- une dégradation progressive accentuée de la sensibilité à l'insuline et par conséquent de la sensibilité hépatique à l'insuline pour freiner la production endogène de glucose
- une dégradation progressive de l'insulino-sécrétion avec la perte du pic précoce de sécrétion d'insuline. Ceci entraîne une augmentation de la glycémie à jeun mais aussi des glycémies postprandiales.

Il a été démontré que la dégradation des glycémies postprandiales contribuait à l'hyperglycémie globale observée chez les diabétiques de type 2 (Monnier et al. 2006).

L'hyperglycémie basale et l'hyperglycémie postprandiale participent toutes deux aux complications diabétiques. Les hyperglycémies postprandiales répétées pourraient ainsi initier un cycle d'hyperinsulinémie et d'insulino-résistance qui altérerait la fonction des cellules β . De plus, l'hyperglycémie *per se* a un effet délétère sur la fonction des cellules β par le phénomène de glucotoxicité (Rossetti et al. 1990). Ainsi, Ludwig suggère que les régimes qui induisent des réponses glycémiques élevées sont susceptibles d'induire des phénomènes d'hyperinsulinémie, de glucotoxicité et de lipotoxicité qui contribuent à l'altération des cellules β (Ludwig 2002).

1.3 Hyperglycémie postprandiale et autres risques métaboliques associés

Il est admis à présent que la relation progressive entre glycémie postprandiale et risque cardiovasculaire s'étendait bien au dessous du seuil lié au diabète (Stratton et al. 2000). Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la relation entre la glycémie et le risque cardiovasculaire était un continuum qui commençait dès la tolérance normale au glucose pour s'accroître avec des glycémies croissantes (Coutinho et al. 1999). A la fois chez des sujets tolérants et intolérants au glucose, les études suggèrent que la relation entre maladies CV et glycémie est plus marquée avec la glycémie postprandiale à 1h ou 2h qu'avec les glycémies à jeun (The DECODE study group 1999). Il a été suggéré que des

traitements ou régimes visant à améliorer la glycémie à jeun et la glycémie postprandiale permettent un meilleur contrôle glycémique (Sorkin et al. 2005; Woerle et al. 2007; Monnier et al. 2007). De plus, les traitements ciblant la glycémie postprandiale réduisent les évènements vasculaires. En effet, une méta-analyse a montré qu'il y avait une réduction des évènements CV lorsque l'on diminuait les excursions de la glycémie postprandiale par un traitement par acarbose (Hanefeld et al. 2004). L'acarbose est un inhibiteur de l' α -glucosidase qui réduit la production de glucose à partir des disaccharides et des polysaccharides de l'alimentation au niveau de l'intestin grêle. Des résultats similaires ont été trouvés avec l'essai STOP-NIDDM dans lequel des personnes intolérantes au glucose traitées par acarbose avaient une réduction significative du risque de maladie CV (Chiasson et al. 2003). De même, des sujets diabétiques traités par des analogues de l'insuline à action rapide pour mieux contrôler la glycémie postprandiale présentent une amélioration des marqueurs de risques CV (Ceriello et al. 2002).

Plusieurs études ont montré que les fluctuations de la glycémie postprandiale avaient un effet déclencheur plus spécifique du stress oxydatif que l'hyperglycémie chronique chez les sujets diabétiques et chez les sujets sains (Monnier et al. 2006; Ceriello et al. 2008). Ces sujets seraient soumis à des périodes de stress oxydatif induites par les excursions glycémiques.

L'hyperglycémie induit des dysfonctions endothéliales qui ont un rôle majeur dans le développement des complications liées au diabète (Brownlee 2001; Ceriello et al. 2002). Ces dysfonctions seraient dues à la surproduction d'ions superoxydes par la chaîne de transport mitochondrial (Brownlee 2005).

2. Comment moduler la glycémie postprandiale : outils nutritionnels ?

2.1 Rôle de la nutrition

L'hyperglycémie postprandiale constituerait donc un facteur de risque pour certaines pathologies métaboliques. D'où l'intérêt d'un suivi des apports glucidiques autant au point de vue quantitatif que qualitatif, pour optimiser la régulation de la glycémie postprandiale chez les sujets sains ou à risque et ainsi utiliser des interventions nutritionnelles ciblées pour prévenir plutôt que guérir les pathologies associées à l'hyperglycémie postprandiale.

La composition et les propriétés physico-chimiques des aliments affectent cette réponse métabolique postprandiale. Par exemple, plusieurs études ont montré que l'addition de fibres solubles et visqueuses à un repas ralentissait l'absorption des glucides et améliorait la régulation de la glycémie (Jenkins et al. 1978; Wolever et al. 1991; Liljeberg et al. 1996; Tappy et al. 1996; Bourdon et al. 1999; Juntunen et al. 2002; Kabir et al. 2002; Behall et al. 2006). L'effet observé des fibres alimentaires sur les réponses postprandiales serait en partie dû à l'augmentation de la viscosité du bol alimentaire et donc à un ralentissement de la vidange gastrique. Dans d'autres études, c'est l'addition de matière grasse au repas ou d'acides gras à chaîne courte (acide lactique, acide acétique, acide propionique) qui diminue la vidange gastrique, diminue l'absorption du glucose exogène et module ainsi la glycémie postprandiale (Gannon et al. 1993; Liljeberg et al. 1998; Normand et al. 2001; Frost et al. 2003). L'ajout de protéines à un repas principalement composé de glucides affecte la réponse glycémique à ce repas en abaissant la réponse glucidique et en augmentant la sécrétion d'insuline (Floyd et al. 1966a; Floyd et al. 1966b; Nuttall et al. 1985; Le Floch et al. 1992; Nilsson et al. 2004). L'effet obtenu dépend du type et de la quantité de protéines et de lipides ajoutés, ainsi que du type de sujets. D'autres facteurs propres à l'aliment amylicé entrent aussi en jeu : la variété de l'aliment et sa composition (ex : teneur en amylose pour les produits amylicés, proportion de glucose et de fructose, la maturité d'un fruit ou d'un légume, la forme physique (aliment entier vs. en cubes, en purée, jus...), le traitement culinaire ou technologique (le mode de cuisson, la température de cuisson, la teneur en eau du milieu de cuisson etc... ex : un traitement mécanique peut modifier la structure de l'amidon (taille des particules, degré de gélatinisation) et le rendre ainsi plus disponible à l'action des amylases) (Brand et al. 1985; Holt & Miller 1994; Bornet 1992).

2.2 L'index glycémique

Index glycémique : définition et calcul

Les glucides ont longtemps été classifiés en fonction de leur composition chimique (longueur de leurs chaînes d'amidon, rapidité de digestion et de leur absorption au niveau du petit intestin). Suite à la constatation que des quantités identiques de glucides différents induisaient des réponses glycémiques postprandiales différentes, le concept d'index glycémique fut proposé pour la première fois par David Jenkins en 1981, qui a publié une liste de 51 aliments avec leur IG respectif (Jenkins et al. 1981). L'index glycémique permet de classer des portions d'aliments contenant des quantités équivalentes de glucides en fonction de leur potentiel d'élévation de la concentration de glucose dans le sang. Le principe de l'IG est donc de pouvoir quantifier le pouvoir hyperglycémiant d'un aliment donné par rapport à celui d'un glucide de référence (glucose dans l'eau ou pain blanc).

L'IG est calculé en mesurant la surface sous la courbe de la glycémie en fonction du temps, suite à l'ingestion de 50 g de glucides provenant d'un aliment donné, et en la divisant par la surface sous la courbe de la glycémie induite par 50 g de glucides provenant de l'aliment contrôle, généralement le glucose ou le pain blanc (Wolever et al. 1991; Wolever et al. 2003). La figure 6 illustre le calcul de la surface sous la courbe de l'augmentation de la glycémie utilisée dans le calcul de l'IG d'un aliment. La surface sous la courbe d'un aliment s'effectue par le calcul de la surface sous la courbe de l'augmentation de la glycémie au-dessus de la ligne de base (correspondant à la glycémie à jeun). On parle d'aire sous courbe incrémentée. Par gramme de glucides, un aliment avec un IG élevé produit un pic glycémique plus important en situation postprandiale et/ou une réponse glycémique plus élevée au cours des 2 premières heures, qu'un aliment avec un IG bas (Figure 6).

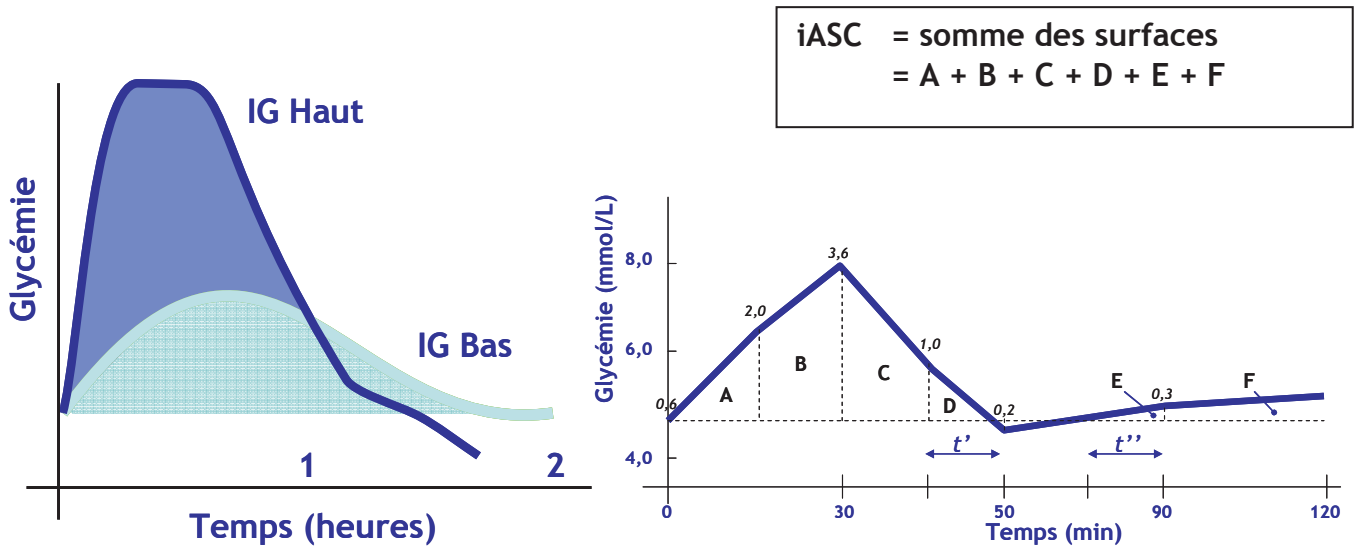


Figure 6 : L'index glycémique : illustration et principe de calcul (d'après Wolever et al. 1986), iASC : Aire sous courbe incrémentée

Facteurs influençant l'index glycémique

Les facteurs influençant la réponse glycémique décrits précédemment ont évidemment un impact sur l'index glycémique. Ce qui implique que l'IG d'un aliment consommé au cours d'un repas sera différent de l'IG de l'aliment consommé de manière isolée. Ces facteurs influencent l'IG et la reproductibilité de son calcul. Ainsi, le concept d'IG a été étendu à une combinaison de différents aliments glucidiques avec une composition énergétique variable en protéines et en lipides, et le calcul de l'IG du repas ou du plat est dans ce cas basé sur la contribution de l'IG de chacun des éléments du repas (Wolever et al. 1985; Chew et al. 1988). Ce calcul permet de classer la réponse glycémique d'un repas grâce à l'IG respectif de chacun des aliments composant le menu.

Il existe des variations intra et inter-individuelles importantes de l'IG. Comme cela a été démontré par Rasmussen chez des sujets diabétiques, les composantes intra et interindividuelles représentent 26% et 74% de la variance totale des IG (Rasmussen 1993). L'utilisation de l'IG et la comparaison entre les études nécessitent une standardisation de la méthodologie par la communauté scientifique (Wolever et al. 1990; Wolever et al. 1991; Wolever et al. 2008).

Index glycémique des aliments

Jusqu'à ce jour, plus de 750 aliments ont été testés afin de mesurer leur IG (Foster-Powell et al. 2002). Les aliments présentant un IG bas incluent la majorité des légumes et des fruits, les légumineuses et le pain à grains entiers, contrairement aux aliments avec un IG élevé qui incluent tous les produits céréaliers raffinés (comme le pain blanc), les pommes de terre et le riz. Il a été montré que la réponse glycémique à un repas complexe peut être prédite à partir de l'IG des constituants de ce repas, de manière relativement précise en utilisant les méthodes de mesures standardisées (Wolever et al. 1986; Chew et al. 1988; Wolever et al. 1996; Wolever et al. 2006).

Aliment	IG référence glucose	IG référence pain blanc
Saccharose	67	92
Glucose	100	138
Fructose	23	32
Miel	75	104
Lait	28	39
Lentilles	22-30	30-40
Pâtes	36-51	50-70
Pain Blanc	72	100
Pain complet	42	58
Pomme de terre	87	120
Banane entière	31	43
Oranges	45	62
Tomates	9	13

Tableau 2 : Index glycémique (IG) de quelques aliments usuels, (d'après Foster-Powell et al. 2002)

Charge glycémique (CG)

Un autre concept a été proposé pour quantifier la réponse glycémique d'une portion d'un aliment : la charge glycémique (ou glycemic load en anglais), qui est calculée en multipliant l'IG par la quantité de glucides contenue dans la portion servie de l'aliment (Foster-Powell et al. 2002).

IG, CG et effets physiologiques

Suite aux nombreux travaux publiés ces trente dernières années sur le sujet, plusieurs effets bénéfiques ont été associés à la consommation de produits à index glycémique faible, tels qu'une amélioration du contrôle glycémique et de la sensibilité à l'insuline, une amélioration du profil lipidique et une augmentation de la satiété (Jenkins et al. 2002a; Brand-Miller et al. 2003). En effet, plusieurs études ont démontré que la consommation chronique d'une diète ayant une charge glycémique élevée est associée à une augmentation du risque de développer le diabète de type 2 ou une maladie cardiovasculaire (Liu et al. 2000; Ludwig 2002).

En 2008, une méta-analyse a été réalisée par Livesey pour faire le point sur les relations entre index glycémique, charge glycémique et santé (Livesey et al. 2008a; Livesey et al. 2008b). D'après cette méta-analyse réalisée sur 45 études (au total 972 sujets), si les effets bénéfiques des aliments à index glycémique bas en termes de contrôle glycémique sont dorénavant admis chez les personnes diabétiques de type 2, le débat est toujours ouvert en ce qui concerne les sujets sains.

IG, métabolisme glucidique, sensibilité à l'insuline et diabète

Deux études, la Nurses' Health Study (Salmerón et al. 1997), et la Health Professional Study (Salmerón et al. 1997) ont trouvé une relation inverse entre l'IG et le risque de développer un diabète de type 2. De cet fait, la possibilité qu'une diète d'IG élevé, et à faible teneur en fibres augmente le risque de diabète de type 2 chez une population présentant une obésité, une intolérance au glucose ou une résistance à l'insuline a été soulevée. L'hypothèse de Kopp est que la consommation régulière d'aliments glucidiques avec un IG élevé, induit une demande insulinique accrue au niveau du pancréas créant ainsi une hypertrophie et une dysfonction des cellules β , résultant en une hyperinsulinémie postprandiale et éventuellement à une résistance à l'insuline (Kopp 2003). Toutefois, la perte de fonction des cellules β du pancréas pourrait aussi être liée à

une glucotoxicité causée par l'hyperglycémie elle-même ou à une mobilisation excessive des AGNE secondaire à l'hypoglycémie postprandiale (Willett et al. 2002).

A l'inverse, il semble qu'une diète composée de glucides de faible IG améliore la sensibilité à l'insuline, diminue la glycémie postprandiale et le risque d'hypoglycémie secondaire à l'absorption des glucides (Brand-Miller et al. 2002; Roberts et Pitta 2003; Brand-Miller et al. 2003). En effet, une baisse de l'ordre de 10 % de l'IG d'un repas résulte en une augmentation de 30 % de la sensibilité à l'insuline chez le patient diabétique (Rizkalla et al. 2002). Une méta-analyse effectuée par Miller à partir de 11 études, s'échelonnant sur une période de 2 à 12 semaines, comparant des régimes d'IG bas avec des régimes d'IG élevés dans le traitement du diabète, a permis d'observer une diminution significative de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), et de la glycémie journalière suite à l'utilisation de régimes d'IG bas (Willett et al. 2002; Miller 1994). La combinaison d'un IG bas et d'une teneur en fibres élevée a un rôle bénéfique en terme d'économie d'insuline chez des femmes à risque de diabète de type 2 (Ostman et al. 2006). Les produits d'IG bas améliorent la tolérance au glucose chez les sujets sains ou diabétiques (Wolever et al. 1988a; Liljeberg & Bjorck 2000).

Livesey a mis en évidence dans sa méta-analyse que la glycémie à jeun et le taux d'hémoglobine glyquée étaient réduits suite à l'ingestion de régime à IG et CG bas chez les personnes dont la glycémie à jeun était à la base supérieure à 5 mmol/L. De plus, l'augmentation de la consommation de glucides non digestibles aurait un effet additif sur l'IG. La sensibilité à l'insuline serait de même améliorée par la consommation de régimes d'IG/CG bas et à haute teneur en glucides non digestibles, mais de manière non significative si seule la population de poids normal est prise en compte.

Les effets métaboliques des produits à IG bas sur la réponse glycémique seraient liés majoritairement au taux d'absorption plus faible des glucides dans l'intestin (Jenkins et al. 1981; Wolever et al. 1991; Jenkins et al. 2002b). En plus d'un effet réducteur de la glycémie postprandiale en aigu, il a été démontré dans plusieurs études que l'ingestion de repas d'IG bas pouvait diminuer aussi la réponse glycémique au repas suivant, ceci indiquant une amélioration de la régulation glycémique au cours de la journée (Jenkins et al. 1982). Ainsi l'ingestion de repas d'IG bas au petit-déjeuner modifie la réponse glycémique au déjeuner suivant (Liljeberg et al. 1999; Liljeberg & Bjorck 2000), de même cet effet a été observé entre l'ingestion du dîner d'IG bas sur le petit déjeuner suivant (Brighenti et al. 2006; Granfeldt et al. 2006; Nilsson et al. 2006).

D'autre part, il a été montré qu'un régime d'IG bas pouvait améliorer le profil lipidique (diminution du LDL-cholestérol et des triglycérides ainsi qu'une augmentation du

HDL-cholestérol) (Jenkins et al. 1985; Frost et al. 1999; Ford & Liu 2001; Augustin et al. 2002; Sloth et al. 2004).

Il est possible de diminuer la charge glycémique d'un régime soit par la diminution de la quantité totale de glucides ou par la baisse de l'IG de l'aliment, ce qui a pour effet de diminuer la glycémie postprandiale. Toutefois, les effets sur les niveaux de concentrations en insuline, AGNE et triglycérides seront différents en fonction des changements effectués (Wolever et al. 2003).

IG et poids/satiété

La quantité ainsi que la qualité des glucides alimentaires pourraient jouer un rôle important dans la prévalence de l'obésité (Ludwig 2003).

Une grande majorité des études qui ont analysé l'impact de l'IG sur la satiété ont démontré une augmentation de la satiété, un retour retardé de la sensation de faim, ou une diminution de la prise alimentaire après l'ingestion de produits à IG bas comparés aux produits à IG élevé (Ludwig 2000; Roberts 2003; Ball et al. 2003; Anderson et al. 2003).

Une diminution rapide de la glycémie postprandiale pourrait augmenter la sensation de faim et provoquer un grignotage plus fréquent, à prendre en compte en termes de management de la prise de poids (Ludwig 2003). L'hypothèse avancée est que l'ingestion d'un repas à IG élevé induit une augmentation de la libération d'insuline et une inhibition parallèle de la sécrétion de glucagon et de la lipolyse, limitant ainsi la disponibilité des réserves énergétiques de l'organisme. De plus, l'augmentation de l'appétit suite à la consommation d'aliments avec un IG élevé s'expliquerait par la diminution rapide de la glycémie (l'hypoglycémie relative étant un signal qui stimule la faim), conséquence de la régulation de la réponse hormonale activée afin de normaliser les niveaux de glucose circulant (Roberts 2003). Inversement, la consommation d'aliments avec un faible IG pourrait être une méthode efficace afin de faciliter la réduction de l'apport énergétique journalier et le contrôle du poids corporel du fait de leur effet sur la satiété (Anderson & Woodend 2003), ou en privilégiant l'oxydation des AGNE comme source d'énergie (Brand-Miller et al. 2002).

2.3 Notion d'aliment fonctionnel

Tout aliment est fonctionnel de par sa fonction de fourniture de nutriments et d'énergie à l'organisme. Le terme d'aliment fonctionnel désigne plus spécifiquement un aliment pour lequel une allégation santé a été documentée dans le cadre d'une alimentation courante (Basdevant 2001). Il se définit à travers cette allégation c'est-à-dire : « Tout message, mention ou représentation qui énonce, implique ou suggère qu'une denrée alimentaire possède des caractéristiques, propriétés ou effets particuliers liés notamment à sa nature, sa composition, sa valeur nutritive, son mode de production et de transformation ou toute autre qualité, quel que soit le moyen ou la forme de transmission de ce message. Une allégation établit un lien explicite entre l'aliment et une fonction physiologique, un marqueur, un état lié à la santé, une maladie ».

L'aliment fonctionnel est un aliment à part entière et fait partie d'une alimentation équilibrée, même s'il a des qualités particulières et agit sur une fonction physiologique précise. L'attention doit porter particulièrement sur les effets des aliments sur des fonctions biologiques bien identifiées qui touchent de manière directe la santé et/ou la réduction du risque d'une pathologie.

Le développement des aliments fonctionnels est évidemment un enjeu de santé publique (amélioration de la santé, réduction des dépenses et coûts associés) mais aussi un enjeu économique (commercialisation de nouveaux produits, concurrence avec l'industrie pharmaceutique).

Par conséquent, les modalités d'utilisation des allégations sont à définir de manière rigoureuse et consensuelle. L'évaluation des aliments fonctionnels est un processus méthodologique bien précis et déterminé au niveau européen. Cette évaluation comprend deux parties : une première série d'évaluations, « classiques » comme pour tout aliment (hygiène, sécurité, conformité,...) et une série d'évaluations spécifiques sur sa fonction avancée. L'aliment fonctionnel doit « entraîner une variation d'une amplitude suffisante d'un indicateur pertinent (biologique, physiologique, clinique ou épidémiologique) de l'état de santé quand il est consommé en quantité raisonnable (consommation courante sans altérer l'équilibre nutritionnel)».

Au niveau européen, une action concertée a été mise en place pour discuter des aliments fonctionnels : FUFOSE (Functional Food Science in Europe). Cette instance a notamment proposé un schéma pour associer les allégations fonctionnelles à une justification scientifique rigoureuse basée sur des preuves scientifiques solides. Une fois, les composants alimentaires ayant un effet potentiel identifiés, les mécanismes par lesquels ils modulent les fonctions impliquées dans la santé ou la réduction des risques de

pathologie doivent être étudiés. Puis une fois que des hypothèses ont été émises sur les mécanismes d'action des aliments, celles-ci doivent être étayées d'études d'intervention nutritionnelle chez l'homme, dans la population générale et/ou dans la population à risque visée. Pour ce faire, il faut identifier des marqueurs pertinents et robustes pour l'effet sur la santé, une fonction biologique ou le risque de pathologie, et quantifier l'effet de l'aliment sur ces paramètres.

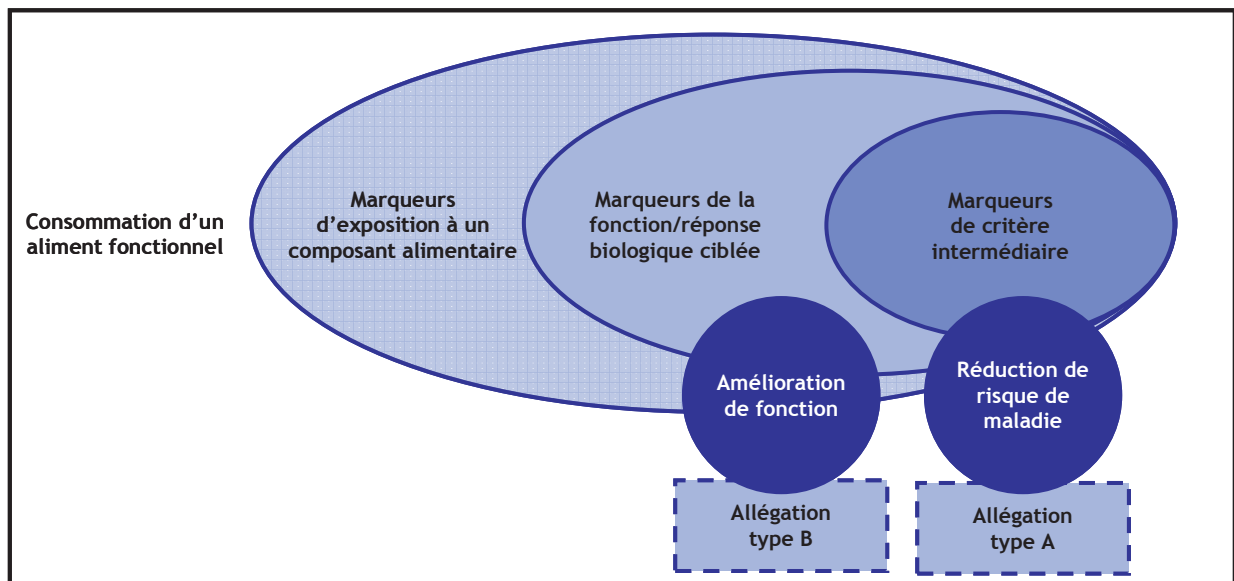


Figure 7 : Justification scientifique des allégations nutritionnelles (d'après Aggett et al. 2005)

2.4 Les fibres alimentaires

Définition

Le concept de « fibre alimentaire » a considérablement évolué durant les 10 dernières années. Il regroupe maintenant un groupe de substances beaucoup plus large que ce qui est communément admis à la base. Le débat se poursuit en effet pour savoir sur quelle base une fibre alimentaire doit être définie : ses propriétés structurales et/ou originelles et/ou physiologiques.

Depuis sa définition initiale au début des années 50 puis 70 comme « les composants des parois végétales peu digérés par l'Homme » (Hipsley 1953; Trowell et al. 1976), la définition n'a cessé d'évoluer. Et les différentes instances scientifiques nationales et internationales ont proposé de nouvelles définitions qui prennent en compte les caractéristiques physiologiques des fibres alimentaires. L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) a repris ces dernières définitions en 2002 pour fournir une définition plus complète, plus compréhensive mais aussi plus complexe, et se rapportant principalement aux fibres d'origine végétale ou synthétique mais excluant les fibres d'origine animale ou microbienne (AFSSA 2002). Les fibres alimentaires regroupent :

- des polymères glucidiques (degré de polymérisation > 3) d'origine végétale : cellulose, hémicellulose, gommés végétales, pectines, inuline, lignine, ... ou des polymères non glucidiques (polyphénols, cires, cutine, phytates, phytostérols)
- des polymères glucidiques (degré de polymérisation > 3) transformés (physiquement, enzymatiquement ou chimiquement) ou synthétiques: fructo-oligosaccharides, oligofructoses, amidon résistant, ...

De plus, une fibre alimentaire n'est ni digérée, ni absorbée dans l'intestin grêle. Elle possède au moins une des propriétés suivantes :

- Augmente la production de selles
- Stimule la fermentation colique
- Réduit les concentrations plasmatiques de cholestérol à jeun
- Réduit les concentrations plasmatiques de glucose et/ou d'insuline postprandiaux

Sources

Dans notre alimentation, les sources principales de fibres alimentaires sont les végétaux tels que les céréales, les légumineuses, les légumes, les fruits et les graines, ainsi que les produits à base d'avoine ou d'orge riches à la fois en fibres insolubles et en β -glucanes solubles.

Nous consommons généralement un mélange de fibres diététiques solubles et insolubles (différentes proportions selon les aliments) et il est par conséquent difficile de séparer leurs effets respectifs.

Les céréales complètes définissent les céréales pour lesquelles tous les composants de la graine sont intacts (son, germe, endosperme) et présents dans leur proportion originale. Les céréales complètes sont à haute teneur en fibres alimentaires (12 %) (amidon résistant et oligo-saccharides non digestibles) et leur consommation est fortement corrélée à la consommation de fibres alimentaires céréalières (Schulze et al. 2007). D'autres fibres alimentaires sont dérivées de glucides non digestibles isolés ou synthétisés.

Type de fibre	Principales sources (naturelle ou synthétique/isolée)
Cellulose	Légumes, plantes ligneuses, son de céréales
Hémicellulose	Graines de céréales
Lignine	Son de céréales, coque de riz et légumineuses, plantes ligneuses
β -glucanes	Graines (avoine, orge, seigle, blé)
Pectines	Fruits, légumes, légumineuses, sucre de betterave, pommes de terre
Gommes	Légumineuses, algues, micro-organismes
Inuline, oligofructoses/fructooligosaccharides	Chicorée, topinambour, oignons
Oligosaccharides	Légumineuses, graines
Amidons résistants	Céréales complètes, Céréales partiellement moulues, légumes et légumineuses

Tableau 3 : Sources naturelles des fibres alimentaires (d'après (ILSI (International Life Sciences Institute) 2006))

Type de fibres alimentaires

Les amidons résistants (en anglais resistant starch RS)

Ils regroupent les amidons et produits de dégradation de l'amidon qui ne sont pas absorbés au niveau de l'intestin grêle chez l'homme. Il existe 4 classes d'amidon résistant (FAO/WHO 1997):

- RS1 : amidon physiquement inaccessible aux amylases (amidon des céréales complètes, des céréales partiellement moulues, légumes et légumineuses). Les procédés culinaires et le broyage permettent de diminuer ou d'éliminer ces amidons résistants.
- RS2 : granules d'amidon natif qui résiste à la digestion par sa structure cristalline (pommes de terre crues, bananes non mûres, maïs à haute teneur en amylose). Le chauffage de ces amidons en milieu aqueux les rend digestibles.
- RS3 : amidon rétrogradé (cuisson, refroidissement et stockage sans séchage, répétition de cycles cuisson/refroidissement)
- RS4 : amidon modifié chimiquement

La composition en amidon résistant des produits alimentaires peut changer en fonction du stockage, de la température, de la teneur en eau et du type de préparation de la nourriture.

La cellulose et les hémicelluloses

La cellulose est un polysaccharide linéaire et non ramifié constitué uniquement de glucose, jusqu'à 10 000 unités de glucose par molécule. Sa structure serrée la rend résistante à la digestion par les enzymes du tractus digestif humain. Principal composant de la paroi cellulaire de nombreux végétaux, on la retrouve dans les fruits, les légumes, les céréales, le son des céréales.

Les gommages et mucilages

Ils sont dérivés d'exsudats de végétaux (gomme arabique, de guar,...), de graines, d'extraits d'algues (agar agar, carraghénanes,...). Ils sont utilisés à faible quantité comme agent gélifiant, épaississant, stabilisant ou émulsifiant dans certains produits alimentaires.

La lignine

La lignine n'est pas un polysaccharide mais est intimement associée aux composants de la paroi cellulaire des végétaux (céleri, céréales,..)

Les oligosaccharides non digestibles

Malgré leur degré de polymérisation faible (3 à 10), ces oligosaccharides sont considérés comme des fibres alimentaires du fait de leur caractère non digestible qui leur confère les mêmes propriétés physiologiques que les polysaccharides. Ils sont généralement hautement fermentescibles et peuvent avoir un effet prébiotique. Les plus connus sont les fructanes à partir desquels sont fournis les oligofructosaccharides ou oligofructoses, obtenus par hydrolyse enzymatique des inulines ou de leurs analogues (produits à partir du saccharose).

Les pectines

Les pectines sont des polysaccharides solubles dans l'eau chaude et qui forment des gels en refroidissant. Elles sont présentes dans les fruits et les légumes et sont utilisées comme agents gélifiants et épaississants dans différents produits alimentaires.

Autres dérivés synthétiques

Comme la cellulose, ses dérivés synthétiques (comme la méthylcellulose et l'hydroxyméthylcellulose) sont non digestibles. Mais elles sont solubles et peu fermentées par la flore colique. De même, les dextrines résistantes produites à partir de l'amidon (degré de polymérisation environ 15) sont partiellement digérées par les enzymes dans l'intestin grêle et partiellement fermentées dans le colon.

Les β -glucanes

Voir paragraphe spécifique (page 68).

Apports et recommandations

Les apports moyens en fibres totales tous pays confondus sont de 12 à 29 g par jour, avec une consommation plus faible chez les femmes attribuée à une prise alimentaire et calorique globale plus faibles chez les femmes. En France, les apports moyens en fibres ont été déterminés notamment à partir des données résultant de l'étude SUVIMAX et sont de 21 et 17 g/j, respectivement chez les hommes et chez les femmes (Lairon et al. 2003).

La recommandation est fixée à au moins 25 g/j, si possible 30g/j.

Fermentation des fibres

La plupart des fibres alimentaires sont fermentescibles mais leur degré de fermentation varie de manière importante selon la fibre considérée : les fibres solubles (comme la pectine, l'inuline et les β -glucanes), les amidons résistants et les oligosaccharides sont plus fermentés que la cellulose ou les hémicelluloses (Weickert & Pfeiffer 2008). Les fibres alimentaires sont les principaux substrats de la fermentation bactérienne colique mais d'autres glucides (amidon et dérivés de l'hydrolyse de l'amidon non digérés) ainsi que des protéines et des lipides peuvent être fermentés. Les oligosaccharides et les fibres solubles sont fermentés complètement dans le côlon, alors que d'autres fibres insolubles telles que le son de blé ne sont fermentées que partiellement. L'amidon et les amidons résistants qui atteignent le côlon sont eux aussi fermentés complètement.

Cette fermentation anaérobie est réalisée par les bactéries saccharolytiques du côlon. Les micro-organismes hydrolysent les polysaccharides, ce qui conduit à la formation d'acides gras à chaîne courte (AGCC) : propionate, acétate, butyrate (ces 3 derniers représentent 90% des acides gras à chaîne courte produits), succinate, lactate ; mais aussi de l'éthanol, de l'hydrogène et du CO_2 et éventuellement du méthane (Pomare et al. 1985). Ces acides organiques seront ensuite réabsorbés par la muqueuse colique (Ruppin et al. 1980). Des études chez l'homme ont montré que l'acétate, l'AGCC majoritairement produit dans le côlon, passe par la circulation périphérique pour être ensuite métabolisé par le muscle (Skutches et al. 1979). Le butyrate est largement utilisé par les colonocytes et seule une faible quantité est extraite du côlon vers le foie. Le propionate est récupéré par le foie (Cummins et al. 1987). Les ratios acétate/propionate/butyrate sont modifiés par la disponibilité et le type de substrat, ainsi que par la nature de la flore bactérienne colique. Chez des sujets sains, consommant un régime standard, ce ratio est approximativement 60:25:15.

Les AGCC issus de la fermentation colique des glucides non digestibles, plus particulièrement le propionate, pourraient aussi moduler le métabolisme glucidique (Venter et al. 1990; Thorburn et al. 1993; Berggren et al. 1996; Nilsson et al. 2006) en inhibant la production hépatique de glucose. Des études chez l'homme et chez le babouin ont montré que des repas supplémentés en fibres et en propionate diminuent la glycémie à jeun ainsi que la réponse glycémique et le pic d'insuline postprandiaux (Venter et al. 1990 ; Todesco et al. 1991; Wong et al. 2006). Il a été démontré sur des cultures d'hépatocytes de rats que le propionate diminue la néoglucogénèse à partir du lactate et

du pyruvate en inhibant la voie du pyruvate. De plus, le propionate stimule la glycolyse sur des hépatocytes de rats (Anderson & Bridges 1984). L'administration rectale de propionate (Wolever et al. 1989) ou gastrique (Laurent et al. 1995) diminue les concentrations en AGNE plasmatiques, mécanisme pouvant induire une amélioration de la sensibilité à l'insuline.

Effets physiologiques des fibres alimentaires (Figure 8)

Il été attribué aux fibres alimentaires différents effets physiologiques à partir d'études observationnelles. Ainsi, une consommation insuffisante en fibres pourrait contribuer au développement de pathologies comme la constipation, les diverticules, les hémorroïdes, l'appendicite, les varices, le diabète, l'obésité, les maladies cardiovasculaires, et certains cancers comme celui de l'intestin.

Dans les études d'intervention ou à plus court terme, ce sont les fibres solubles (visqueuses, fermentescibles) qui présentent des effets métaboliques bénéfiques sur les réponses glycémique, insulinique et lipidique (Braaten et al. 1991; Würsch & Pi-Sunyer 1997; Brown et al. 1999). Pourtant, d'après plusieurs études épidémiologiques, les fibres insolubles (non visqueuses et lentement fermentescibles) sont plus particulièrement associées à un risque réduit de diabète de type 2 et de maladies CV (Salmerón et al. 1997; Salmerón, Ascherio et al. 1997; Schulze et al. 2004; de Munter et al. 2007). Les effets physiologiques bénéfiques des fibres seraient attribués à leurs propriétés physico-chimiques (viscosité, solubilité, formation de gel en solution aqueuse) qui ralentissent la vidange gastrique et l'absorption des nutriments, à leur degré de fermentation, à leurs propriétés probiotiques, à leur potentiel d'amélioration de l'absorption de certains minéraux, de modulation de certains marqueurs d'inflammation, et à leur potentiel effet satiétogène...(Jenkins et al. 1978; Jenkins et al. 2000; Weickert & Pfeiffer 2008). Au niveau métabolique plus particulièrement, la consommation de fibres solubles réduit la réponse glycémique postprandiale ainsi que les niveaux de cholestérol total et de LDL cholestérol. Ces propriétés sont généralement associées à leur viscosité et à leur capacité à former des gels au sein du bol alimentaire qui ralentissent la vidange gastrique et l'absorption des macronutriments dans l'intestin grêle.

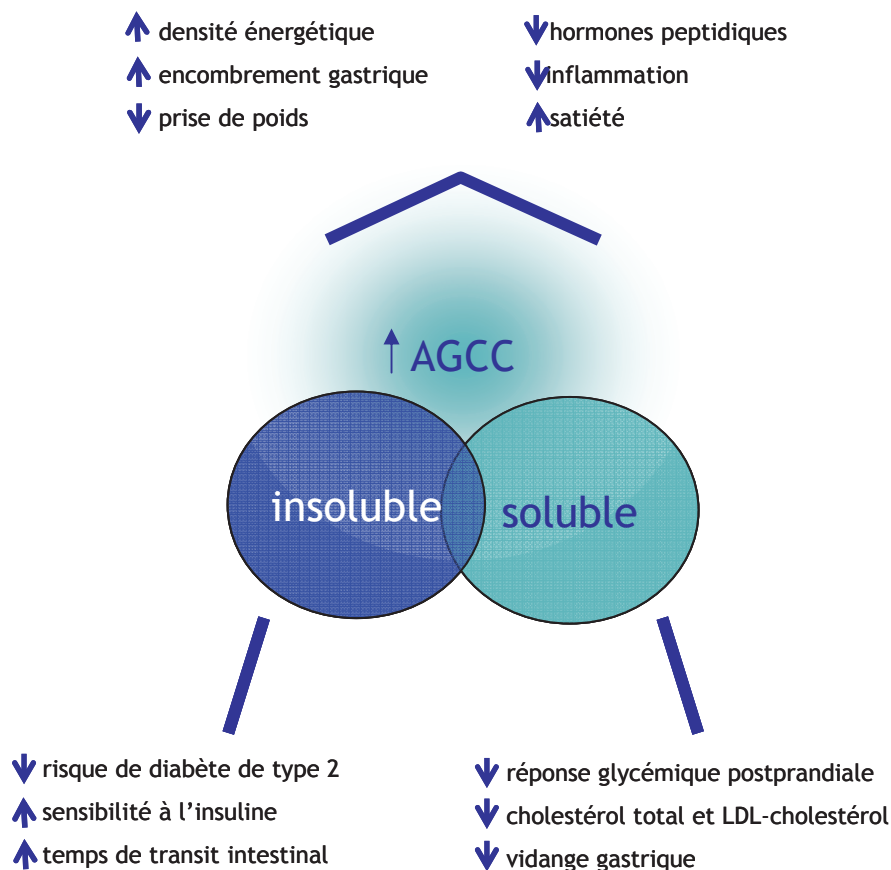


Figure 8 : Effets physiologiques des fibres (d'après Weickert et Pfeiffer 2008)

Il est important de noter de toute manière que les produits naturellement riches en fibres contiennent généralement à la fois des fibres solubles et insolubles en quantité variable. Les céréales complètes sont riches en fibres, mais il semble que les effets protecteurs des céréales complètes aillent au-delà de ceux des fibres (Slavin 2004). L'intérêt des céréales complètes est en grande partie lié au fait que la graine est consommée en intégralité, ce qui se traduit par un apport en vitamines (vitamines B et E), en minéraux (fer, magnésium, zinc, potassium, sélénium), en acides gras essentiels, en composés phytochimiques (composants des plantes physiologiquement actifs qui ont des effets fonctionnels positifs) et autres nutriments bioactifs. On estime que ces nutriments, ainsi que d'autres composants des céréales complètes, ont, en termes de santé, un effet accru dû à leur synergie s'ils sont consommés ensemble. Généralement, les produits riches

en fibres sont aussi à index glycémique faible. 40% de la variance de l'IG des produits amylacés peut être expliqué par la composition en fibres (Trout et al. 1993).

Fibres alimentaires et risque de diabète de type 2

Le risque de développer un diabète de type 2 est multiplié par 2 par la consommation d'un régime riche en glucides et pauvre en fibres (Salmerón et al. 1997; Würsch & Pi-Sunyer 1997; Meyer et al. 2000). La consommation quotidienne de 2 portions de céréales complètes réduirait le risque de diabète de type 2 de 21%. Une autre étude a révélé que la consommation de fibres totales mais aussi de fibres solubles ou insolubles est inversement corrélée au degré de résistance à l'insuline (Ylönen et al. 2003).

Les effets anti-diabétiques des fibres seraient liés à leur action sur le métabolisme glucidique et lipidique. L'addition de fibres type bêta-glucanes réduit l'hyperglycémie postprandiale chez des sujets diabétiques de type 2 avec un effet dose-réponse : réduction de la réponse glycémique de 67%, 42% et 38% avec l'addition de 4, 6 et 8,4 g de bêta-glucanes ajoutées à des petits-déjeuners par rapport à des petits-déjeuners sans ajout de fibres (Tappy et al. 1996).

En ce qui concerne les effets des fibres alimentaires sur l'HbA1c, ils ont été peu étudiés et la question est toujours débattue (Vuksan et al. 1999; Reyna et al. 2003 ; Jenkins et al. 2008; Weickert & Pfeiffer 2009). Certains ont montré une diminution modérée de l'HbA1c ou de la concentration en fructosamine chez des patients diabétiques suite à l'ingestion de régime enrichi en fibres (Vuksan et al. 1999; Reyna et al. 2003) ou d'un régime d'IG bas (Jenkins et al. 2008). Weickert a aussi montré une amélioration de la sensibilité à l'insuline en utilisant la méthode du clamp euglycémique-hyperinsulinémique lors de l'ingestion de fibres insolubles d'origine céréalière chez des sujets en surpoids ou obèses (Weickert et al. 2006). De même, Robertson a observé une augmentation de la sensibilité à l'insuline après 1 mois d'un régime enrichi en amidon résistant (Robertson et al. 2005). Mais d'autres études n'ont pas retrouvé de tels effets (Jenkins et al. 2002a, Jenkins et al. 2002b).

Fibres alimentaires et métabolisme glucidique

Les effets bénéfiques des fibres (psyllium, gommages, amidon résistant, bêta-glucanes, avoine ou orge, arabinoxylanes, son de blé, inuline,...) sur les paramètres métaboliques postprandiaux et le contrôle glycémique ont fait l'objet de nombreux travaux chez les sujets sains ou diabétiques de type 2 (Braaten et al. 1991; Wolever et al. 1991; Raben et al. 1994; Ranganathan et al. 1994; Wood et al. 1994; Granfeldt et al. 1995;

Hallfrisch et al. 1995; Liljeberg et al. 1996; Tappy et al. 1996; Würsch & Pi-Sunyer 1997; Anderson 1999; Bourdon et al. 1999; Lu et al. 2000; Wood et al. 2000; Battilana et al. 2001; Jenkins et al. 2002b; Juntunen et al. 2002; Kabir et al. 2002; Frost et al. 2003; Björklund et al. 2005; Weickert et al. 2005; Delzenne et al. 2005; Behall et al. 2006).

Il a été montré dans plusieurs études que les fibres solubles réduisent les excursions glycémiques postprandiales. Ces effets, nous l'avons dit, seraient associées à leur viscosité et à leur capacité à former des gels au sein du bol alimentaire, ralentissant la vidange gastrique et réduisant l'absorption des nutriments (Wood et al. 1994; Anderson et al. 1999; Battilana et al. 2001). Battilana a montré que l'effet des β -glucanes sur le métabolisme glucidique était principalement dû à une action des fibres qui ralentissent et réduisent l'absorption des glucides. En effet, dans cette étude, les auteurs ont administré de manière fractionnée des repas additionnés ou non de fibres, de manière à reproduire les effets des fibres (c'est-à-dire une absorption réduite et ralentie), et n'ont pas observé de différence significative entre les deux repas. Ceci tend à montrer que l'effet des fibres solubles est principalement dû à un ralentissement de l'absorption des glucides (Battilana et al. 2001). Il a aussi été montré que le taux de digestion de l'amidon par les amylases pancréatiques in vitro était diminué par l'addition de fibres, probablement par un effet des fibres sur l'interaction enzyme/substrat (Dutta & Hlasko 1985). Une autre hypothèse serait, que les produits de la fermentation colique des fibres (et de tout glucide non digestible), les AGCC, une fois réabsorbés réduiraient la glycémie postprandiale en inhibant la production endogène de glucose (Dutta & Hlasko 1985). Les fibres non solubles et non visqueuses ont des effets moindres sur la vidange gastrique et l'absorption des nutriments dans l'intestin et par conséquent sur la réponse glycémique et le profil lipidique (Jenkins et al. 2000). Weickert a observé une amélioration de la sensibilité à l'insuline après un régime de 3 jours enrichi en fibres insolubles (Weickert et al. 2006), qui ne peut être imputée à un effet sur la vidange gastrique ou à la diminution de l'absorption intestinale. Et selon d'autres études précédentes, cette amélioration serait indépendante également de la fermentation colique (Weickert et al. 2005). Cependant, si les mécanismes mis en jeu ne sont pas encore éclaircis, une hypothèse serait une sécrétion d'insuline plus précoce qui accélérerait l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (Schenk et al. 2003; Weickert et al. 2005).

Les amidons résistants diminuent aussi les réponses glycémiques et insuliniques postprandiales chez des sujets sains ou intolérants au glucose (Krezowski et al. 1987; Behall & Hallfrisch 2002).

Fibres alimentaires et métabolisme lipidique

Au cours de ces 30 dernières années, de nombreuses études ont examiné l'association entre la consommation de fibres alimentaires et le risque CV. Dans la majorité des cas, il y a une relation négative entre la consommation de fibres et le risque de développer une maladie CV (Liu et al. 1982; Khaw & Barrett-Connor 1987; Hallfrisch et al. 1988; Anderson & Hanna 1999; Liu et al. 1999; Wolk et al. 1999). Dans la Nurses' Health Study, la réduction du risque CV est associée plus fortement à la consommation de fibres d'origine céréalière que de fibres provenant de sources type fruits et légumes (Rimm et al. 1996; Wolk et al. 1999; Liu & Willett 2002). Il a été d'autre part démontré qu'un régime riche en fibres tendait à diminuer les concentrations de cholestérol total et de LDL cholestérol chez des sujets hypercholestérolémiques (Brown et al. 1999). Dans cette méta-analyse, Brown et al. évaluent l'effet hypocholestérolémiant de différentes fibres (pectine, psyllium, son d'avoine, gomme de guar). Ils concluent que ces fibres réduisent les concentrations plasmatiques de cholestérol total et de cholestérol LDL, de manière modeste mais significative.

Une des hypothèses pour expliquer l'action des fibres sur le métabolisme lipidique serait un ralentissement de l'absorption intestinale engendré par les fibres qui diminuerait l'apparition de glucose et par conséquent la réponse insulinaire, et ainsi limiterait la synthèse de triglycérides par le foie (Flourié & Nancey 2003). Une autre hypothèse est liée à la diminution de l'absorption des acides biliaires. Ces derniers seraient adsorbés aux fibres au niveau de l'intestin, la formation des micelles en serait altérée et par conséquent les acides biliaires excrétés en plus grande quantité dans les selles. Moins d'acides biliaires arrivant donc au foie pour la formation de cholestérol. Les fibres d'avoine par exemple, augmentent de plus de deux fois l'excrétion fécale des acides biliaires (Marlett et al. 1994). L'effet inhibiteur des AGCC produits au niveau du côlon sur la synthèse hépatique de cholestérol reste mineur (Wright et al. 1990; Anderson 1995). L'effet hypocholestérolémiant des fibres serait basé sur la combinaison de ces deux effets : l'augmentation de l'excrétion des acides biliaires et la diminution de la synthèse hépatique.

Fibres alimentaires et poids corporel

Plusieurs études ont montré un effet satiétogène des régimes riches en fibres solubles et insolubles (Blundell & Burley 1987; Delargy et al. 1995; Howarth et al. 2001). En ce qui concerne les fibres solubles leur action sur la satiété serait inhérente encore une fois à leurs propriétés physico-chimiques, plus particulièrement à leur viscosité qui modifie

la texture, la densité énergétique et la palatabilité des produits (Burton-Freeman 2000). L'addition de fibres conduit à un retard de la vidange gastrique qui retarde le retour de la sensation de faim en parallèle à une diminution de la réponse glycémique (Benini et al. 1995). La plupart des études ont indiqué une réduction de poids modérée suite à l'ingestion d'un régime riche en fibres (Burton-Freeman 2000; Howarth et al. 2001; Slavin 2005 ; Weickert & Pfeiffer 2008). La consommation de >14g de fibres par jour pendant plus de 2 jours serait associée à une diminution de 10% de la prise calorique (Howarth et al. 2001). Plusieurs études épidémiologiques présentent une association inverse entre la consommation de fibres ou de céréales complètes et la prise de poids (Ludwig et al. 1999b; Koh-Banerjee et al. 2004). Dans l'étude de Koh-Banerjee réalisée chez 27802 hommes (8 années d'observation), la consommation de fibres était inversement associée à la prise de poids, indépendamment de la consommation de céréales complètes.

Les études d'intervention dans ce domaine amènent cependant des résultats contradictoires (Howarth et al. 2001). L'ajout de fibres dans l'alimentation étant souvent associé à des régimes de restriction calorique, il est d'autant plus difficile d'isoler l'effet des fibres seules dans la modification de poids corporel. Cependant, il semblerait que les sujets adhèrent plus facilement à un programme diététique de perte de poids quand des fibres ont été intégrées au régime (Burton-Freeman 2000).

Fibres alimentaires et réponses hormonales

La consommation de fibres alimentaires affecte aussi la sécrétion de diverses hormones gastro-intestinales, telles que la cholecystokinine (CCK), le GIP, le GLP-1, indépendamment ou non de la réponse glycémique, et ainsi agit sur l'homéostasie du glucose ou la satiété.

La CCK est sécrétée par l'intestin grêle suite à l'ingestion de nourriture. Les effets physiologiques de la CCK sont un retard de la vidange gastrique, une diminution des excursions glycémiques, une augmentation de la satiété (Liddle et al. 1988 ; Bourdon et al. 1999). Les effets hypoglycémiques des fibres pourraient passer par une action sur la sécrétion de CCK (Mössner et al. 1992). L'ingestion de fibres augmente (Heini et al. 1998) et/ou prolonge (Holt et al. 1992 ; Bourdon et al. 1999) la sécrétion de CCK au niveau de l'intestin. La gomme de guar hydrolysée (Heini et al. 1998), les β -glucanes d'orge (Bourdon et al. 1999), les fibres des légumineuses (Bourdon et al. 2001) induisent une sécrétion plus importante et prolongée de CCK en phase postprandiale. Les glucides sont de puissants stimulateurs de la sécrétion de GLP-1. Cependant, la réponse en GLP-1 varie selon le type de glucide ingéré, ainsi les concentrations postprandiales en GLP-1 augmentent après

l'ingestion de glucose mais pas après l'ingestion d'orge ou de riz complet (Elliott et al. 1993). L'effet des fibres alimentaires sur les hormones incrétines (GLP-1 et GIP) a été peu étudié jusqu'à présent chez l'homme. Cependant, il semblerait que les fibres diététiques modifient la réponse postprandiale en GLP-1, même si les études sont discordantes sur l'effet engendré, certainement dû au type et/ou à la quantité de fibres (Karhunen et al. 2008). Par exemple, l'ingestion d'amidon résistant réduit la réponse en GLP-1 comparée à l'ingestion d'amidon digestible (Raben et al. 1994). Weickert rapporte que l'ingestion de pain enrichi en fibres (blé, avoine) ou en amidon résistant accélère les réponses postprandiales insulinique et du GIP, les effets restent cependant mineurs (Weickert et al. 2005). Certaines études ont montré un effet satiétogène de certaines fibres type oligofructose et autres fructanes, dont la consommation était associée à une augmentation des concentrations circulantes d'hormones anorexigènes type GLP-1 et Peptide YY, et à une réduction des concentrations de ghréline chez le rat (Cani et al. 2004) ; et des réponses postprandiales en GLP-1 et Peptide YY chez l'homme (Cani et al. 2009). L'ingestion de lipides et de protéines stimulent aussi la sécrétion postprandiale de GLP-1 (Blom et al. 2006).

La ghréline est une hormone peptidique produite principalement dans l'estomac. Elle exerce diverses fonctions biologiques dont la plus importante semble être son rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique (Kojima et al. 1999; Cummings 2006). A l'inverse des autres hormones peptidiques satiétogènes, la ghréline augmente la mobilité gastro-intestinale et diminue la sécrétion d'insuline (Karhunen et al. 2008). La ghréline joue aussi un rôle dans l'initiation des repas, les niveaux de ghréline circulante augmentent graduellement juste avant un repas et diminuent brusquement juste après. A plus long terme, la ghréline jouerait un rôle dans la régulation du poids corporel et de la balance énergétique. En effet, les concentrations de ghréline sont liées aux modifications de poids corporel (Cummings et al. 2002). En termes d'action des nutriments, les glucides seraient les plus efficaces pour inhiber les concentrations de ghréline postprandiales (Monteleone et al. 2003).

Les concentrations postprandiales de peptide YY augmentent après l'ingestion d'un repas, de manière proportionnelle à la charge calorique mais aussi en fonction de la composition du repas. En ce qui concerne l'effet des fibres sur la libération de peptide YY, les résultats encore une fois diffèrent selon les études, c'est à dire souvent selon le type de fibres (Karhunen et al. 2008).

Les β -glucanes

Parmi les fibres alimentaires, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux β -glucanes qui ont fait l'objet de travaux présentés dans cette thèse (Etude « β -glucanes » qui sera détaillée ultérieurement et travaux présentés en annexes).

Généralités

Les β -glucanes sont des fibres alimentaires, solubles, composés saccharidiques, hautement visqueuses et fermentescibles. Les β -glucanes sont les constituants principaux de la paroi cellulaire des graines d'avoine et d'orge (environ 75% des parois cellulaires de l'endosperme), mais sont présents en faible quantité seulement dans le blé ou le riz. Ce sont des polysaccharides linéaires de résidus D-glucanopyrosyl avec des liaisons β -(1-3) et β -(1-4). Grâce à certains croisements, il est possible d'obtenir des variétés d'orge et d'avoine avec des concentrations variables de β -glucanes (Kianian et al. 2000).

Les β -glucanes des céréales présentent différentes caractéristiques structurales et moléculaires, qui leur confèrent différentes propriétés physiques comme leur solubilité dans l'eau, leur viscosité et leur capacité à former des gels c'est-à-dire leurs propriétés rhéologiques. Le poids moléculaire, la viscosité et la solubilité des β -glucanes ainsi que la matrice alimentaire à laquelle ils sont associés sont des paramètres importants à prendre en compte dans leurs effets physiologiques (Kerckhoffs et al. 2003; Onning et al. 1999; Poppitt 2007). En effet, plus leur viscosité et leur solubilité sont importantes, plus leur effet est marqué.

β -glucanes et métabolisme lipidique

L'effet des β -glucanes sur la concentration en cholestérol a été étudié dans plus de 50 études. Les effets des fibres d'avoine et d'orge sur les concentrations plasmatiques en cholestérol ont été étudiés dans de nombreuses études. La plupart (Ripsin et al. 1992; Brown et al. 1999; Behall et al. 2004) mais pas toutes les études (Lovegrove et al. 2000; Keogh et al. 2003; Cugnet-Anceau et al. 2009) ont conclu à un effet hypocholestérolémiant des suppléments en β -glucanes. Ces différences entre les études peuvent s'expliquer par des différences de viscosité, solubilité, poids moléculaires des préparations de fibres utilisées. Malkki a de plus évalué que l'effet dose-réponse des β -glucanes sur le cholestérol n'était pas probant (Malkki 2001). La Food and Drug Administration (FDA) a répertorié 37 études sur l'effet des fibres d'avoine sur les concentrations de cholestérol, 17 montrant un effet positif de ces fibres sur le cholestérol total et le LDL cholestérol (FDA 1996). La

conclusion générale était que les β -glucanes d'avoine pouvaient diminuer les concentrations plasmatiques de cholestérol, plus particulièrement de LDL cholestérol. La FDA a donc autorisé l'utilisation d'une allégation précise sur les β -glucanes: "Diets high in oat bran or oat meal and low in saturated fat and cholesterol may reduce the risk of heart diseases". Les produits utilisant cette allégation doivent contenir au moins 0,75g de fibres β -glucanes solubles par portion, sachant que l'apport journalier recommandé est de 3g. Il est cependant bien reconnu que l'effet hypolipémiant est plus important chez les sujets présentant les concentrations de cholestérol initiales les plus élevés.

Comme nous en avons parlé précédemment pour les fibres, l'hypothèse relative à l'effet des β -glucanes sur le cholestérol serait liée à une augmentation de la viscosité du contenu intestinal et/ou à une diminution du captage intestinal des acides biliaires qui conduirait à une redirection du cholestérol hépatique vers la synthèse d'acides biliaires et à une diminution de l'absorption du cholestérol intestinal (Lia et al. 1995; Naumann et al. 2006). Une étude récente a d'ailleurs montré que l'ingestion quotidienne de 5g de β -glucanes diminuait significativement la concentration en cholestérol total et en LDL cholestérol, de par une diminution significative de l'absorption de cholestérol au niveau de l'intestin (Naumann et al. 2006).

β -glucanes et métabolisme glucidique

Il a été suggéré que les β -glucanes agiraient sur le métabolisme glucidique via la modulation de la réponse glycémique et insulinique (Jenkins et al. 1978; Braaten et al. 1991; Wood et al. 1994; Tappy et al. 1996; Liljeberg et al. 1996; Bourdon et al. 1999; Battilana et al. 2001; Jenkins et al. 2002b; Juntunen et al. 2002; Kabir et al. 2002; Brennan 2005). En ralentissant l'absorption des nutriments, les excursions glycémique et insulinique postprandiales sont par conséquent diminuées. L'addition de β -glucanes à un repas augmente la viscosité du bol alimentaire et de ce fait réduit l'absorption et ainsi réduit la glycémie postprandiale. Ainsi, il a été montré que la présence de 8 à 10% de β -glucanes dans un produit céréalier pouvait diminuer le pic glycémique de 50% (Würsch & Pi-Sunyer 1997). Jenkins a aussi montré que chaque gramme de β -glucanes pouvait induire une diminution de l'IG de 4 unités, sachant que l'effet n'est pas modifié par le procédé de fabrication (Jenkins et al. 2002b). Une étude de Battilana chez des sujets sains a de plus mis en évidence que l'effet des β -glucanes sur la glycémie postprandiale était principalement dû à un ralentissement de l'absorption intestinale (Battilana et al. 2001). En effet, plusieurs études ont montré que la viscosité des fibres était positivement corrélée à leur degré d'action inhibitrice de la réponse glycémique postprandiale par un

effet dose-dépendant (Wolever et al. 1991; Wood et al. 1994; Tappy et al. 1996; Bourdon et al. 1999). 79 à 96% des altérations des réponses glycémique et insulinaire postprandiales seraient dues à la viscosité du bol alimentaire induite par les β -glucanes. Wood a aussi montré que le pic glycémique postprandial était corrélé au poids moléculaire et à la concentration en β -glucanes, en mesurant ces paramètres suite à plusieurs tests de tolérance au glucose (50g de glucose et concentrations en β -glucanes de 0,8 à 14,5 g/500 ml) (Wood et al. 2000).

Les fibres et/ou produits à index glycémique bas peuvent donc affecter le métabolisme glucidique immédiatement après le repas, mais peuvent aussi moduler le métabolisme glucidique au cours de la journée, voire même avoir un effet à plus long terme sur la tolérance au glucose ou la sensibilité à l'insuline. C'est sur cette base bibliographique que se sont fondées nos hypothèses de travail.

CHAPITRE 3

Hypothèses et objectifs



S'il apparaît que divers moyens peuvent être mis en œuvre pour moduler la glycémie postprandiale dans le sens d'une réduction des excursions glycémiques (modulation la digestion des produits amylacés, diminution l'apport en fibres disponibles, choix de sucres simples peu hyperglycémiant comme le fructose, stimulation de la sécrétion d'insuline, ralentissement de la digestion des glucides,...), tous ces moyens ne semblent pas avoir les mêmes effets physiologiques sur la glycémie au cours de la journée et pour les autres paramètres métaboliques, et par conséquent sur la santé.

Ceci nous a amené à nous poser plusieurs questions :

Quels sont les différents biomarqueurs (au-delà de l'IG, c'est-à-dire l'intégration de la réponse glycémique postprandiale de 2 heures) utiles et pertinents pour explorer la modulation de la glycémie par la nourriture ?

Dans ce sens, nous avons intégré à nos études du métabolisme postprandial, le suivi des débits d'apparition et de disparition du glucose total, exogène et endogène (utilisation d'isotopes stables du glucose), ainsi que les concentrations en AGNE et le profil d'oxydation des nutriments pour avoir une approche intégrative des mécanismes sous-jacents impliqués dans la réponse glycémique.

Quelles sont les différences entre une réponse glycémique postprandiale aplanie à faible niveau et une excursion glycémique aigüe en termes de conséquences métaboliques ?

En dehors de la différence d'aire sous la courbe, nous pensons que les modulations de la cinétique de la réponse glycémique peuvent avoir des effets différents sur la réponse insulinaire, la lipolyse, ... selon la « forme » de la courbe de glycémie.

Pour tenter de répondre à ces questions, 3 études cliniques ont été réalisées, avec comme point commun la diminution de la réponse glycémique en phase postprandiale aigüe par l'utilisation d'ingrédients spécifiques:

Etude « β -glucanes » : Addition de β -glucanes d'avoine, fibres solubles visqueuses et fermentescibles, à un repas glucidique (polente à base d'amidon de maïs)

Etude « Eurostarch » : Modulation de la biodisponibilité de l'amidon de produits céréaliers et par conséquent de leur index glycémique (IG), en faisant varier leur composition en glucides lentement ou rapidement digestibles

Etude « Nutriose » : Addition d'une nouvelle dextrine résistante (fermentescible), NUTRIOSE®10 à un petit déjeuner standard

Les objectifs des travaux présentés dans cette thèse étaient donc d'utiliser des fibres ou des glucides lentement digestibles pour réduire l'excursion glycémique en aigu, puis d'étudier et de comparer les conséquences métaboliques du ralentissement et/ou de l'allongement et/ou de la diminution de l'absorption du glucose qui peuvent être induites par ces différents ingrédients.

Par un suivi prolongé des paramètres métaboliques en phase post-prandiale, nous avons voulu mettre en évidence, au-delà d'une réduction commune de la réponse glycémique à 2 heures, les implications différentielles de la modulation de la biodisponibilité du glucose sur les cinétiques du glucose, le contrôle de la glycémie, sur la réponse insulinique, la lipolyse, l'oxydation des nutriments et les marqueurs de satiété (étude Nutriose) au cours de la journée.

CHAPITRE 4

Sujets, matériels et méthodes



1. Etude « β -glucanes »

1.1 Conception

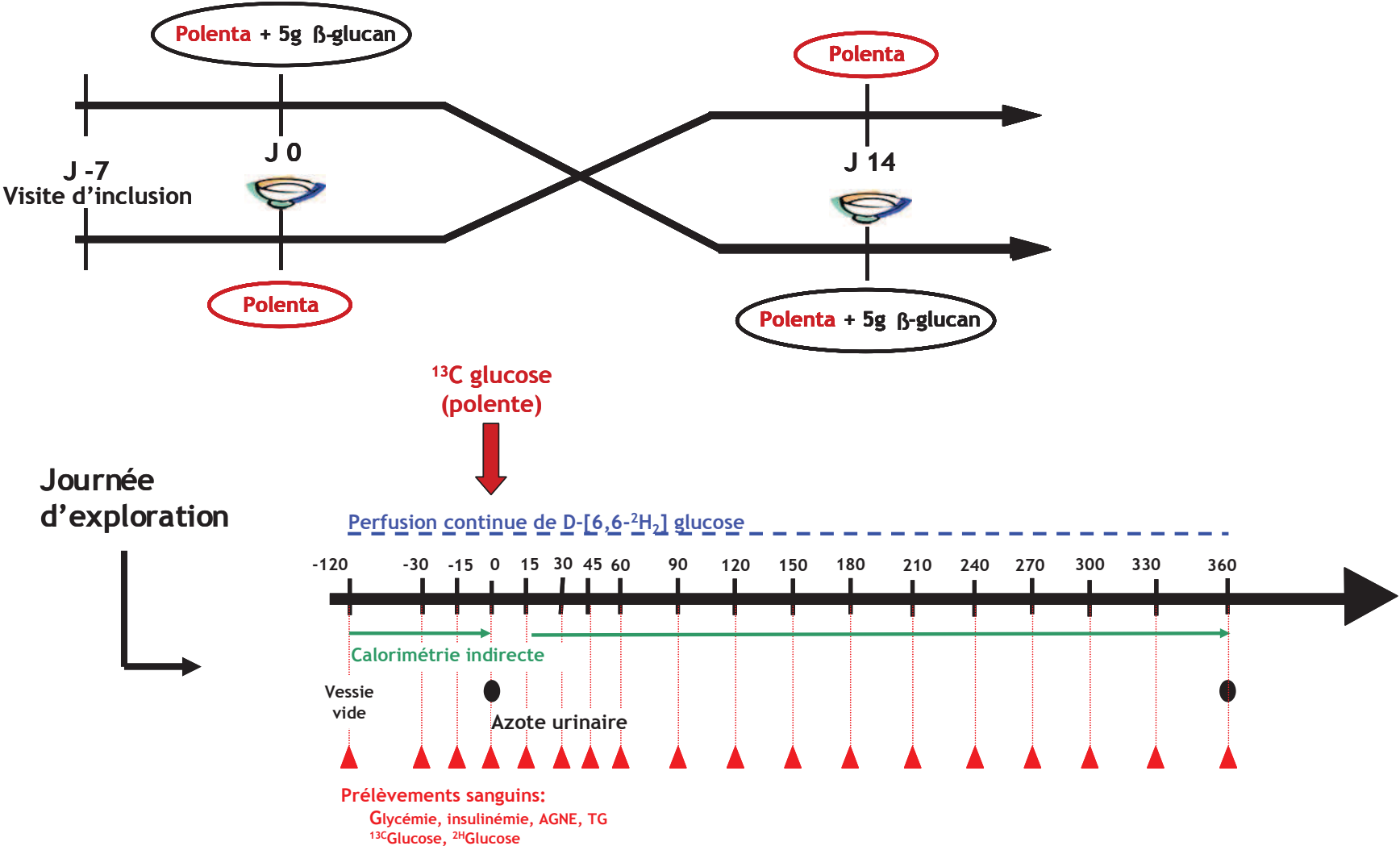
Dans l'étude « β -glucanes », nous avons comparé les effets de deux repas tests sur les paramètres métaboliques chez des sujets sains. Cette étude a été réalisée en aigu, chaque produit était testé lors d'une journée métabolique unique. Dans cette étude croisée, chaque sujet était donc son propre témoin, afin de limiter les facteurs d'interférence dus aux sujets.

L'étude « β -glucanes » (Figure 9) était une étude randomisée croisée, en simple aveugle. Lors de deux journées d'investigation métabolique distinctes (séparées d'au minimum deux semaines), les sujets volontaires (hommes sains en surpoids), à jeun depuis la veille au soir, ingéraient soit un repas composé de polente (Pol) soit un repas composé de polente supplémentée en β -glucanes (5g, Pol+BG).

Dans cette étude, le but était de suivre le devenir d'un repas glucidique additionné ou non de fibres. La polente (farine de maïs) est naturellement riche en ^{13}C , c'est donc le devenir du glucose de la polente qui a été suivi dans les deux conditions expérimentales.

Parallèlement, les sujets étaient perfusés à l'aide de glucose deutéré (^2H) pendant toute la durée de la journée d'exploration et de ce fait, la mesure des enrichissements isotopiques du glucose plasmatique en ^{13}C et en ^2H a permis de calculer les débits d'apparition et de disparition du glucose exogène, endogène et total. Des échantillons sanguins ont été prélevés toutes les 15 minutes pendant la première heure puis toutes les heures jusqu'à T360. Grâce à ces échantillons, les cinétiques de concentrations plasmatiques postprandiales en glycémie, insulïnémie, peptide C, concentrations en acides gras non estérifiés, triglycérides ont été mesurées pendant 6 heures suite à l'ingestion du repas test. Des mesures de calorimétrie indirecte ont été aussi réalisées pour évaluer le métabolisme de repos et l'oxydation des substrats.

Figure 9 : Etude « β -glucanes »



1.2 Produits et régime testés

Les β -glucanes

(Cf paragraphe spécifique dans l'introduction page 68)

Produits tests pour l'étude β -glucanes

La préparation de β -glucanes utilisée

Cette étude avait pour but d'étudier les effets métaboliques des fibres β -glucanes.

La préparation de fibres utilisée dans cette étude était un concentré à base d'avoine contenant principalement la fraction soluble des β -glucanes. Cette préparation de β -glucanes a été extraite et concentrée selon une méthode déposée par Oatly AB (Landskrona, Suède). Le tableau ci-dessous présente la composition de la préparation de fibres.

	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Fibres dont β -glucanes	β -glucanes
<i>Pour 100g</i>	g	g	g	g	g
Préparation de β -glucanes	29,1	14,8	19,1	30,1	23

Tableau 4 : Composition de la préparation de β -glucanes

Le repas test : la polente

Pour étudier les effets des β -glucanes sur le métabolisme postprandial glucidique, la préparation de β -glucanes a été ajoutée à un repas de polente (farine de maïs). Le maïs est une plante qui présente un enrichissement naturel en ^{13}C car elle fixe le CO_2 au sein d'un intermédiaire métabolique de la voie Hatch-Slack alors que la plupart des autres plantes fixent le CO_2 dans un intermédiaire métabolique à 3 carbones par la réaction de Calvin-Benson. Ces deux voies métaboliques diffèrent par leur discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C du CO_2 atmosphérique et ceci conduit à des différences significatives en termes d'enrichissement isotopique en ^{13}C (Schoeller et al. 1980). Ainsi, l'utilisation de polente à base d'amidon de maïs a permis de suivre l'utilisation du ^{13}C -glucose provenant du repas test dans les conditions expérimentales décrites c'est-à-dire avec ou sans l'ajout de fibres β -glucanes.

La polente de maïs précuite (Tipiak, Pont Saint Martin, France) était cuite dans de l'eau bouillante (500ml additionnée de 3g de sel) pendant 5 minutes au CRNH par les infirmières pour chaque sujet et de la même manière pour chaque journée d'exploration, puis servie aux volontaires.

	Quantité	Equivalent glucose	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Fibres sans β -glucanes	β -glucanes	Energie
	g	g	g	g	g	g	g	kcal
Repas test Polente seule	92,7	80	6,3	0,9	72,3	1	0	323
Repas test Polente + β -glucanes	109,1	80	12,3	4,1	72,3	2,4	5	375

Tableau 5 : Composition des deux repas tests (Etude β -glucanes)

Enrichissement isotopique en ^{13}C des repas tests

Dans l'étude β -glucanes, c'est le repas glucidique (polente) qui était naturellement marqué (à base de maïs), afin d'étudier les effets de l'addition de fibres sur le devenir du repas glucidique. L'enrichissement isotopique en ^{13}C des 2 repas a donc été déterminé après hydrolyse enzymatique avec de l'amyloglucosidase et de la saccharase. Le glucose obtenu a été purifié sur résines échangeuses d'ions avant dérivation en glucose pentacétate et analysé par couplage Chromatographie Phase Gazeuse-Combustion-Spectrométrie de Masse Isotopique (CPG-C-SMI) (Isoprime, VG instruments).

	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	Atom ^{13}C
Repas test Polente seule	-34,89	1,07288
Repas test Polente + β -glucanes	-35,51	1,07219

Tableau 6 : Enrichissement isotopique en ^{13}C des deux repas tests (Etude β -glucanes)

Régime concomitant

Pour cette étude dans laquelle des analyses isotopiques ont été réalisées (mesure de l'enrichissement en ^{13}C -glucose dans le plasma et en ^{13}C dans le CO_2 expiré, il a été

demandé aux sujets d'éviter la consommation de produits naturellement riches en ^{13}C (maïs, sucre de canne, fruits exotiques, conserves, produits à base d'amidon de maïs modifié, entremets et desserts lactés...) pendant la semaine et la veille de chaque journée d'exploration métabolique. Une liste des aliments riches en ^{13}C à supprimer de l'alimentation a été fournie à cet effet. De plus, il a été demandé aux sujets de ne prendre aucune thérapeutique susceptible d'interférer avec le métabolisme et le comportement alimentaire.

1.3 Sujets

12 hommes sains en surpoids ont été recrutés pour cette étude et ont complété l'étude (tableau 7).

Sujets en surpoids (n=12)	
Age (ans)	34 ± 2
Poids (kg)	84,0 ± 1.7
IMC ((kg/m ²)	27,5 ± 0.3
Glycémie (mmol/l)	5,07 ± 0.09
Cholestérol total (mmol/l)	4,86 ± 0.22

Tableau 7 : Caractéristiques des sujets recrutés pour l'étude β -glucanes à l'inclusion

2. Etude « Eurostarch »

2.1 Conception

Dans l'étude « Eurostarch », le suivi était cette fois réalisé à court et à long terme (5 semaines). Le type d'étude croisée n'était pas cette fois-ci réalisable car les effets de l'intervention pouvaient être de plus longue durée et nous ne connaissions pas la période nécessaire à l'élimination de l'effet (le critère principal de l'étude était la perte de poids).

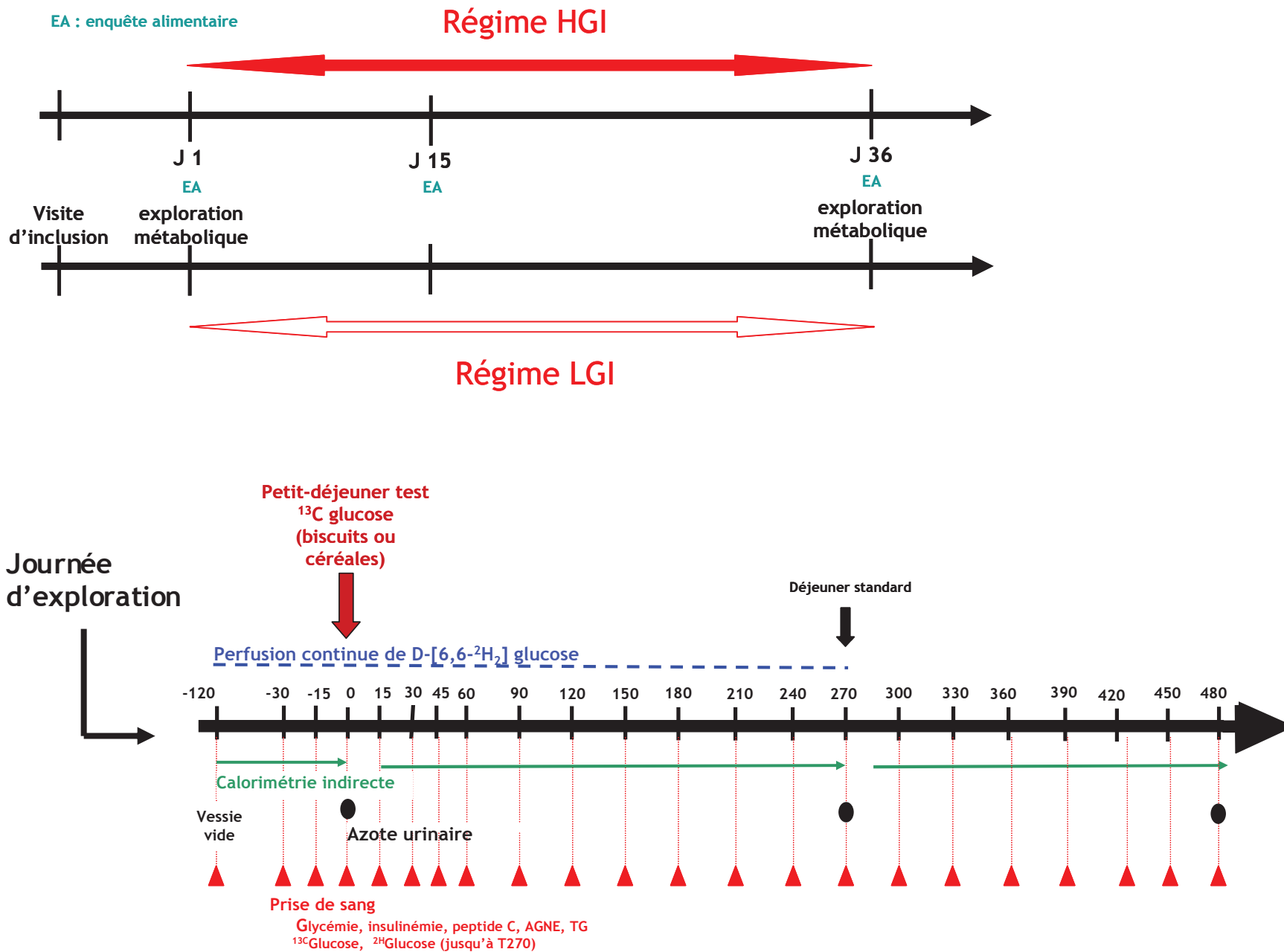
Dans cette étude (Figure 10) randomisée ouverte en groupes parallèles, les sujets (hommes et femmes sains en surpoids) consommaient pendant 5 semaines un régime alimentaire à index glycémique bas (Low Glycemic Index : LGI) ou à index glycémique élevé (High Glycemic Index : HGI) (des aliments à LGI ou HGI étaient conseillés et fournis pour certains en remplacement de leurs aliments amylicés habituels). Cette étude étant relativement longue (5 semaines) et le critère de jugement principal étant le changement de poids lié au régime, l'étude ne pouvait pas être réalisée croisée, les sujets ne pouvant pas être dans les mêmes conditions en basal et au début de chaque bras (LGI ou HGI). Deux groupes de 19 personnes ont donc été réalisés qui ont alors suivi en parallèle soit le régime LGI (9 hommes et 10 femmes) soit le régime HGI (11 hommes et 8 femmes).

Le premier jour (jour 1) et le dernier jour de l'étude (jour 36), le poids, la composition corporelle, la glycémie, l'insulinémie, les concentrations plasmatiques en cholestérol total, HDL- et LDL-cholestérol, AGNE, triglycérides, et peptide C ont été mesurées pour évaluer les effets métaboliques de l'intervention nutritionnelle. Des mesures de calorimétrie indirecte ont été réalisées pour évaluer le métabolisme de repos et l'oxydation des substrats. Des enquêtes alimentaires (formulaire sur 5 jours) ont été réalisées juste avant, 3 semaines après le début et à la fin de l'intervention. De plus, lors des deux journées d'exploration métabolique (jour 1 et jour 36), les volontaires ingéraient selon leur groupe un petit-déjeuner test (enrichi naturellement en ^{13}C) à haut IG dans le groupe HGI et à faible IG dans le groupe LGI.

Dans cette étude, le but était de suivre le devenir des deux produits céréaliers du petit-déjeuner LGI ou HGI. Les biscuits LGI et les céréales extrudées HGI utilisés lors des journées tests étaient uniformément marqués en ^{13}C , ce qui a permis de suivre leur devenir métabolique dans le plasma. Un même déjeuner standard a été servi aux sujets quel que soit leur groupe à T300. Les sujets étaient perfusés à l'aide de glucose deutéré (^2H) jusqu'à T270 et de ce fait, la mesure des enrichissements isotopiques en ^{13}C et en ^2H

du glucose plasmatique a permis de calculer les débits d'apparition et de disparition du glucose exogène, endogène et total. Des échantillons sanguins ont été prélevés toutes les 15 minutes pendant les premières 90 minutes puis toutes les 30 minutes jusqu'à T600. Ainsi, les cinétiques de concentrations plasmatiques postprandiales en glycémie, insulémie, concentrations en AGNE, peptide C ont été mesurées.

Figure 10 : Etude « Eurostarch »



2.2 Produits et régimes testés

Les glucides lentement/rapidement digestibles

Les glucides lentement ou rapidement digestibles (GLD ou GRD) correspondent à différentes fractions des glucides disponibles dans un aliment, identifiées sur la base de la rapidité de libération d'unités glucose dans le sang (Englyst et al. 2000). Les glucides sont en effet digérés et absorbés à des vitesses différentes, d'où cette classification basée sur la vitesse de digestion qui correspond en anglais aux SAG et RAG (*slowly available glucose and rapidly available glucose*). Les glucides lentement digestibles induisent donc une libération plus lente de glucose dans le sang et par conséquent une réponse glycémique atténuée (Englyst et al. 2003). De plus, le pourcentage de RAG d'un produit amylicé est corrélé à l'index glycémique de ce produit mesuré in vitro (Englyst et al. 1999). La teneur en glucides lentement digestibles est liée à l'accessibilité de l'amidon, au degré de gélatinisation, à la taille des particules d'amidon ingérées et au ratio amylose/amylopectine. Mais, le procédé de fabrication et/ou cuisson peut aussi avoir des effets importants sur la structure physico-chimique de l'amidon et donc sa digestibilité (quantité et vitesse)(Vinoy 2001).

Produits céréaliers tests pour l'étude Eurostarch

Les produits céréaliers

Les aliments testés lors des deux journées test ont été fabriqués selon le même procédé de fabrication. Les produits céréaliers ingérés pendant les 2 journées d'intervention métabolique étaient identiques à ceux consommés durant les 5 semaines d'intervention, la seule différence venait des ingrédients utilisés, à savoir :

- pour les journées d'exploration : de la farine enrichie en ^{13}C (obtenue à partir de blé - cultivé en atmosphère enrichie en $^{13}\text{CO}_2$) et du sucre de canne naturellement riche en ^{13}C . L'enrichissement final en ^{13}C des produits testés (biscuit et céréales extrudées) a été établi sur l'enrichissement en ^{13}C du sucre de canne. Ainsi tous les glucides des produits testés ont été enrichis de manière homogène.
- Pour les autres jours du protocole : de la farine et du sucre du commerce ont été utilisés.

Les deux produits céréaliers ont été analysés selon une méthode d'évaluation de la biodisponibilité in vitro des glucides (Englyst et al. 1992). Cette méthode se base sur une caractérisation in vitro de plusieurs fractions glucidiques. Elle permet de classer les aliments en fonction de leur teneur en amidon lentement digestible. Plus le produit contient d'amidon lentement digestible, plus le glucose issu de la digestion de ce produit est libéré progressivement et, donc, absorbé lentement.

Les différentes fractions des deux produits céréaliers testés étaient très différentes. En effet, la fraction de glucides lentement digestibles (GLD ou SAG) était en plus grande quantité dans les biscuits que dans les céréales extrudées (26g versus 0,4g/100g de produit respectivement). Au contraire, la fraction de glucides rapidement digestibles (GRD ou RAG) était prédominante dans les céréales par rapport aux biscuits (66g versus 40g pour 100g de produit respectivement).

Enrichissement des produits céréaliers tests

Dans l'étude Eurostarch, ce sont les produits céréaliers qui étaient marqués dans leur intégralité afin de caractériser leur devenir métabolique en fonction de leur composition respective.

L'enrichissement isotopique en ^{13}C des 2 produits a été déterminé après hydrolyse enzymatique avec de l'amyloglucosidase et de la saccharase. Le glucose obtenu a été purifié sur résines échangeuses d'ions avant dérivation en glucose pentacétate et analysé par couplage CPG-C-SMI (Isoprime, VG instruments).

	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	Atom ^{13}C
Biscuits	-34,59	1,07320
Céréales	-35,72	1,07196

Tableau 8 : Enrichissement isotopique en ^{13}C des deux produits tests (Etude Eurostarch)

Les repas test

Les petits-déjeuners tests

Durant toute la période d'intervention, les produits amylicés composant les petits-déjeuners (biscuits et céréales) ont été fournis et ingérés de manière identique quotidiennement. Ils étaient composés :

- pour le groupe LGI (Low Glycemic Index) de : 80g de biscuits et 180 mL de lait demi-écrémé et d'une boisson chaude non sucrée ou édulcorée
- Pour le groupe HGI (High Glycemic Index) de : 80g de céréales type flakes extrudés et 180 mL de lait demi-écrémé et d'une boisson chaude non sucrée ou édulcorée

Les petits-déjeuners étaient standardisés et isocaloriques (environ 430 kcal). Ils représentaient environ 15 à 25% des apports énergétiques journaliers et avaient été uniformisés en termes de proportion des différents macro-nutriments. La seule différence entre ces deux produits céréaliers était leur IG (45 ± 6 pour les biscuits versus 70 ± 12 pour les céréales extrudées), ceci étant dû à leur composition différente en SAG et RAG comme expliqué précédemment.

	Quantité	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Amidon	GLD	GRD	Energie
		g	g	g	g	%	%	kcal
Petit-déjeuner LGI								
Biscuits	80 g	7,0	9,8	58,6	39,8	26	40	351
Lait demi-écrémé	180 ml	5,8	2,9	8,1	//	//	//	82
<i>Total</i>		<i>12,8</i>	<i>12,7</i>	<i>64,7</i>	<i>39,8</i>			<i>433</i>
Petit-déjeuner HGI								
Céréales extrudées	80 g	6,9	9,5	58,6	39,8	<1	66	348
Lait demi-écrémé	180 ml	5,8	2,9	8,1	//	//	//	82
<i>Total</i>		<i>12,7</i>	<i>12,4</i>	<i>66,7</i>	<i>39,8</i>			<i>430</i>

Tableau 9 : Composition des deux petits-déjeuners tests (Etude Eurostarch)

Le déjeuner standardisé

Un déjeuner standardisé a été servi à T270 aux sujets lors des deux journées d'explorations métaboliques, le même pour les deux groupes de sujets.

	Quantité	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Energie
		g	g	g	g
Déjeuner standardisé					
Steak haché (15% MG)	150 g	27,0	22,0	0	306
Purée de pommes de terre	200 g	4,4	3,4	27,4	158
Pain type baguette	55 g	4,4	0,6	30,3	144
Fromage camembert	30 g	6,4	6,6	0	85
Yaourt au lait entier + fruits	125 g	4,4	3,4	22,5	138
<i>Total</i>		<i>46,6</i>	<i>36</i>	<i>80.2</i>	<i>831</i>

Tableau 10 : Composition du déjeuner standardisé (Etude Eurostarch)

Régime concomitant

Les mêmes précautions ont été prises pour cette étude en ce qui concerne la limitation de la consommation de produits naturellement riches en ¹³C et la prise de thérapeutique pouvant interférer avec le protocole.

Les régimes LGI ou HGI concomitants ne comportaient pas de restriction calorique. Il a été cependant demandé aux sujets de remplacer tous les féculents de leur alimentation selon leur groupe par, soit des produits amylicés à haut IG (supérieur à 70), soit des produits amylicés à faible IG (inférieur à 50). Ainsi en fonction du groupe de régime auquel ils appartenaient, les sujets recevaient une liste de produits qu'ils pouvaient ou non consommer pendant la durée de l'intervention ; cette liste de produits ayant été élaborée grâce aux tables d'index glycémique de Foster-Powell et al. (Foster-Powell et al. 2002). Les produits tels que les biscuits, les extrudés, le pain noir, l'Ebly® ont été fournis aux sujets.

Une diététicienne a suivi chaque sujet de manière individualisée, avec des conseils adaptés à leur mode de consommation au début et à la troisième semaine de régime. Pour optimiser l'observance, les petits-déjeuners et certains produits comme le pain noir ont été fournis aux sujets. Les sujets devaient en outre conserver au maximum leurs habitudes alimentaires en termes qualitatif et quantitatif, si ce n'est sur le type de produit amylicé.

	Produits amylacés autorisés	Produits amylacés proscrits
Régime LGI	Biscuits tests ^b (IG=45)	Céréales extrudées test ^b (IG=70)
	Pain noir ^b (Pumpernickel de Harris, IG=50)	Pain blanc, pain complet (IG=95)
	Spaghetti al dente (IG=32)	Purée de pommes de terre (IG=75)
	Autres pâtes (IG=48)	Pomme de terre bouillie 35 min (IG=75)
	Blé précuit ^b (Ebly, IG=40)	ou cuite au four (IG=70)
	Boulgour (IG=48)	Frites, chips (IG=75)
	Semoule (IG=55)	Gnocchi (IG=70)
		Aliments à base de farine de blé: pizza, quiche, etc... (IG=70-80)
Régime HGI	Riz (IG imprédictible) Tout produit amylacé sur la liste de l'autre groupe de régime	

Tableau 11 : Liste des produits amylacés autorisés et proscrits pour chaque groupe (Etude Eurostarch), ^b ces produits ont été fournis aux sujets.

2.3 Sujets

40 hommes et femmes sains en surpoids ont été recrutés pour cette étude, ayant un poids stable au cours des 3 derniers mois. Ces sujets devaient prendre un petit-déjeuner (10 à 25% de l'apport énergétique quotidien) de manière régulière. Seules 38 personnes ont terminé l'étude : deux femmes (une dans chaque groupe) n'ont pu participer à la journée d'exploration métabolique finale (une pour raison grippale, l'autre à cause d'une impossibilité à poser les cathéters). Les sujets ont ensuite été répartis de manière aléatoire en deux groupes : le groupe LGI (9 hommes et 10 femmes) et le groupe HGI (11 hommes et 8 femmes)(tableau 12).

	Groupe LGI (n=19)	Groupe HGI (n=19)
Age (ans)	36,3 ± 2,0	40,4 ± 2,2
Poids (kg)	77,2 ± 2,2	77,3 ± 2,1
IMC (kg/m ²)	27,5 ± 0,3	27,2 ± 0,3
Masse grasse (kg)	24,5 ± 3,2	22,1 ± 4,3
Glycémie (mmol/l)	5,15 ± 0,15	5,31 ± 0,08
Insulinémie (mU/l)	9,7 ± 1,4	8,9 ± 0,8
Cholestérol total (mmol/l)	5,21 ± 0,23	5,20 ± 0,18
HDL-cholestérol (mmol/l)	1,51 ± 0,08	1,59 ± 0,11
LDL-cholestérol (mmol/l)	3,07 ± 0,24	3,12 ± 0,18
Total/HDL-cholestérol (mmol/l)	3,68 ± 0,28	3,50 ± 0,24
LDL/HDL-cholestérol (mmol/l)	2,21 ± 0,24	2,17 ± 0,22
Triglycérides (µmol/l)	954 ± 493	879 ± 285
Acides gras non estérifiés (µmol/l)	472 ± 119	448 ± 158

Tableau 12 : Caractéristiques des sujets recrutés pour l'étude Eurostarch à l'inclusion

3. Etude « Nutriose »

3.1 Conception

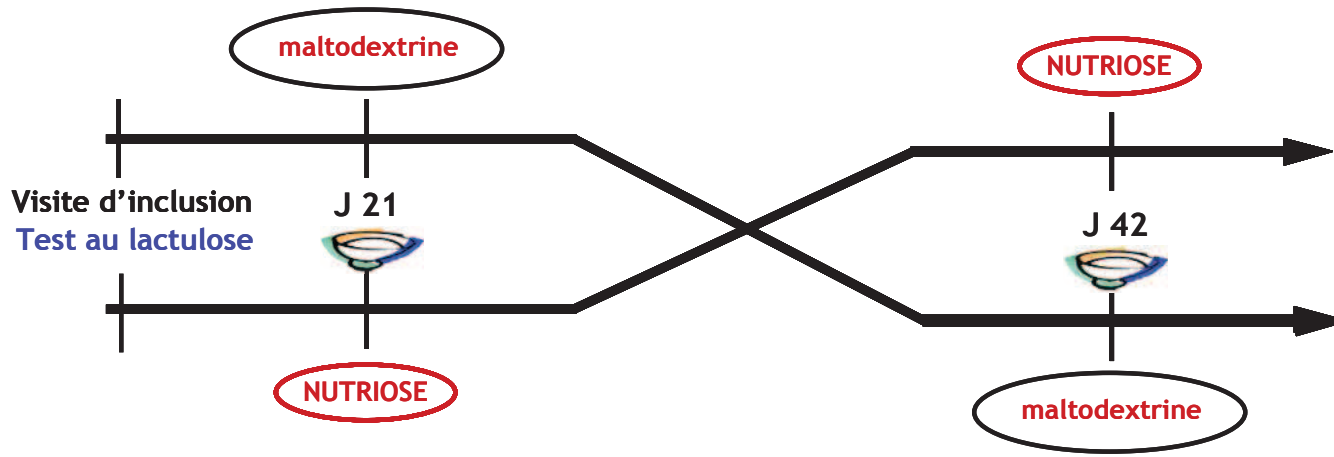
L'étude « Nutriose » (figure 11) était une étude randomisée croisée, en simple aveugle. Comme pour l'étude « β -glucanes », cette étude était croisée et chaque sujet était son propre témoin.

Lors de deux journées d'investigation métabolique distinctes (séparées d'au minimum trois semaines), 12 hommes sains de poids normal, à jeun depuis la veille au soir, ingéraient un petit-déjeuner standard additionné soit d'une solution de maltodextrine (malto), soit d'une solution de Nutriose (NUTRIOSE[®]10) (50g dans 100ml).

Le but de cette étude était de suivre cette fois-ci le devenir de la fibre fermentescible Nutriose[®]10, ingérée lors d'un petit-déjeuner standard non marqué au ¹³C. La maltodextrine et le Nutriose ont été tous les deux fabriqués à base de farine de maïs, naturellement enrichie en ¹³C, et de féculé de pomme de terre (cultivée en atmosphère enrichie en ¹³CO₂) ce qui a permis de suivre leur devenir métabolique dans le plasma (apparition du ¹³C-glucose provenant des produits tests) et dans le CO₂ expiré (apparition du ¹³CO₂ provenant de l'oxydation des produits tests). Un déjeuner léger standard sans fibre a été servi aux sujets à T300.

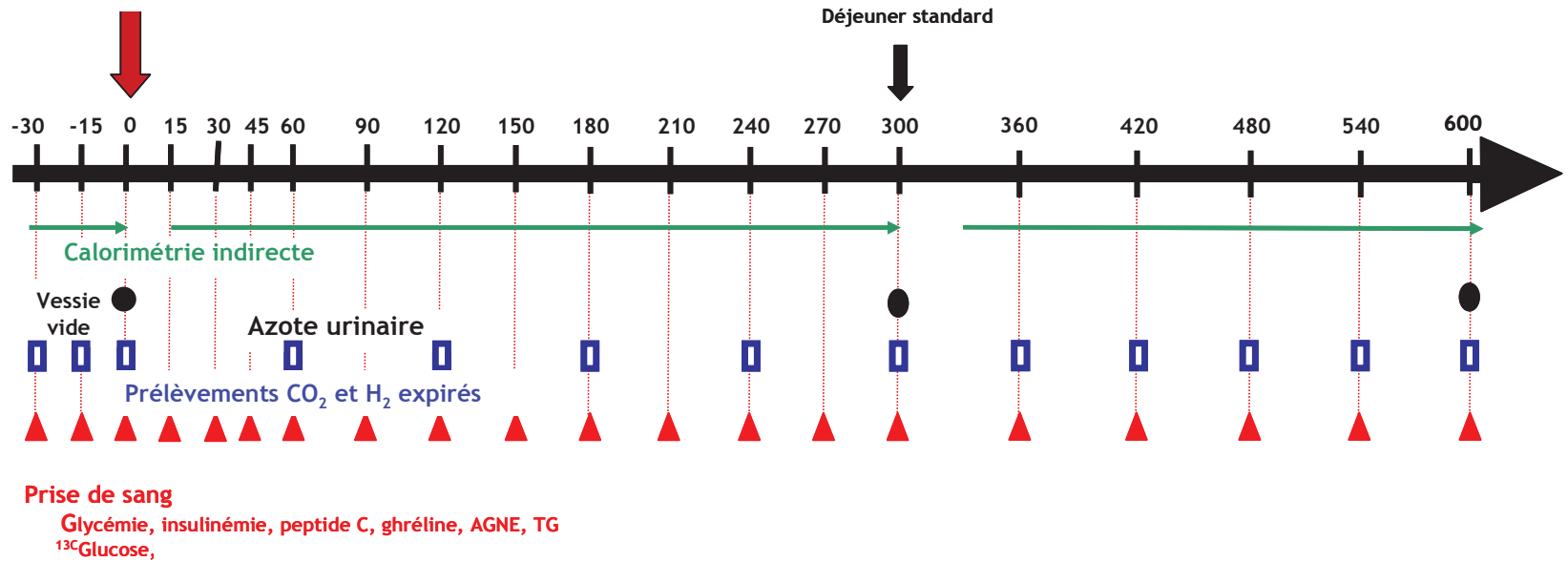
Des échantillons d'air expiré ont été collectés à jeun pendant 10 heures suite à l'ingestion des petits-déjeuners tests pour mesurer la quantité d'hydrogène expiré (fermentation colique) et l'enrichissement en ¹³C du CO₂ expiré. En parallèle, des échantillons sanguins ont été prélevés en basal, puis toutes les 15 minutes pendant la première heure, toutes les 30 minutes jusqu'au déjeuner puis toutes les heures jusqu'à T600. Ainsi, les cinétiques de concentrations plasmatiques postprandiales en glucose, insuline, AGNE, ghréline totale ont été mesurées pendant 10 heures suite à l'ingestion des petits-déjeuners tests. Des mesures de calorimétrie indirecte ont été aussi réalisées pour évaluer l'oxydation des substrats.

Figure 11 : Etude « Nutriose »



Journée d'exploration

Petit-déjeuner test
¹³C glucose



3.2 Produits et régimes testés

Produits testés dans l'étude Nutriose

Dextrine modifiée NUTRIOSE®10

La dextrine NUTRIOSE®10 est une fibre soluble, non visqueuse et hautement fermentescible. Il s'agit d'une dextrine de maïs modifiée issue de la fragmentation de l'amidon de maïs. C'est un polymère de glucose purifié produit par chauffage de l'amidon à haute température, à faible humidité en présence d'un catalyseur acide. La dextrine est ensuite purifiée (charbon actif) et déminéralisée grâce à une résine échangeuse d'ions. Finalement, seule la fraction moléculaire de dextrans à haut poids moléculaire est conservée. Les dextrans comportent en moyenne environ 20 unités glucose, reliées entre elles par des liaisons glucosidiques qui résistent à l'action des enzymes intestinales (glucosidases) et de l'amylase pancréatique. La dextrinification induit des coupures aléatoires de la molécule d'amidon puis des réarrangements par réactions de condensation lors du refroidissement. Ces dernières sont à l'origine de l'apparition de liaisons osidiques de type non digestibles par les enzymes digestives endogènes de l'Homme. Des liaisons de type 1-1 glucose-glucose ou 1-2 glucose-glucose sont non digestibles par les enzymes de l'intestin grêle. Par dosage, il a été déterminé que cette dextrine contenait 70 % de fibres alimentaires solubles.

La dextrine NUTRIOSE®10 est un ingrédient alimentaire autorisé sous cette dénomination en France, dans l'union européenne, aux USA et dans beaucoup d'autres pays. Elle peut-être être incorporée dans tout type d'aliment. La dextrine NUTRIOSE®10 est utilisée aujourd'hui principalement comme substitut du saccharose dans la réduction de la teneur en sucres.

Les tableaux ci-dessous présentent la composition du NUTRIOSE®10 et de la maltodextrine:

Composition du NUTRIOSE®10

Matière sèche	96,2 %
Taux de fibres	72 %
Apport calorique	2 kcal/g

Composition de la maltodextrine de maïs

Matière sèche	96.2 %
Taux de fibres	72 %
Apport calorique	4 kcal/g

Enrichissement isotopique en ^{13}C des produits tests maltodextrine et Nutriose®10

Dans l'étude Nutriose, c'est la fibre Nutriose®10 et la maltodextrine qui étaient marquées afin de caractériser leur devenir métabolique.

« **recette originale initiale** » - Afin de déterminer si l'enrichissement isotopique en ^{13}C (EI) naturel du Nutriose®10 était suffisant pour que les variations d'enrichissement en ^{13}C dans le CO_2 expiré soient mesurables en Spectrométrie de Masse Isotopique (SMI), nous avons réalisé un test préliminaire avec un échantillon de Nutriose®10 base maïs. Cet échantillon a été brûlé dans un tube en quartz, en présence de CuO à 900°C pendant 90 min. L'EI en ^{13}C du CO_2 obtenu a été ensuite mesuré par spectrométrie de masse isotopique.

	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	Atom ^{13}C
Nutriose®10 « recette originale »	- 11,802	1,09826

Tableau 13 : Enrichissement isotopique en ^{13}C du Nutriose®10 « recette initiale » (Etude Nutriose)

Deux sujets ont réalisé une journée-test avec ingestion de 50g de Nutriose®10 (en solution) lors d'un petit-déjeuner standard, et des prélèvements respiratoires ont été réalisés toutes les heures pendant 10 heures entre T15 et T600 pour la détermination de l'enrichissement isotopique en ^{13}C du CO_2 expiré. Il est ressorti de ces tests que les variations observées d'EI en ^{13}C du CO_2 expiré entre T15 et T600 étaient trop faibles pour pouvoir réaliser le protocole dans de bonnes conditions, c'est-à-dire pour pouvoir mettre en évidence des variations significatives d'enrichissement isotopique en ^{13}C car l'écart de $\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$ observé correspondait à la variabilité interne de la mesure en SMI.

« recettes enrichies » - Il a donc été décidé d'enrichir la matière première utilisée pour la fabrication des produits tests avec une féculé de pomme de terre artificiellement enrichie en ^{13}C et dont l'EI était de $+86250 \delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$ ($49.50632 \text{ Atom} \%^{13}\text{C}$). En conclusion, le Nutriose[®]10 et la maltodextrine « recettes enrichies » ont été fabriqués avec 1 g de féculé enrichie pour 4 kg d'amidon de maïs pour le Nutriose[®]10 et 1 g de féculé enrichie pour 5 kg d'amidon de maïs pour la maltodextrine de maïs afin d'optimiser au maximum l' EI en ^{13}C final. La maltodextrine placebo a été enrichie afin d'obtenir des EI en ^{13}C comparables entre les deux produits. Après brûlage des produits, l'EI en ^{13}C du CO_2 obtenu a de nouveau été mesuré par SMI.

	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	$\text{Atom} \%^{13}\text{C}$
Nutriose [®] 10 « recette enrichie »	2,56	1,11405
Maltodextrine « recette enrichie »	6,15	1,11799

Tableau 14 : Enrichissement isotopique en ^{13}C du CO_2 obtenu par brûlage du Nutriose[®]10 et de la maltodextrine « recette enrichie » (Etude Nutriose)

Pour connaître la quantité de ^{13}C ingéré, les glucides totaux (dont l'amidon) des produits ont été hydrolysés (hydrolyse acide) pour la détermination de leur enrichissement isotopique par spectrométrie de masse. Le glucose obtenu a été purifié sur résines échangeuses d'ions avant dérivation en glucose pentaacétate, et analysé par couplage CPG-C-SMI.

	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	$\text{Atom} \%^{13}\text{C}$
Nutriose « recette enrichie »	1,81	1,11322
Maltodextrine « recette enrichie »	5,75	1,11755

Tableau 15 : Enrichissement isotopique en ^{13}C du glucose du Nutriose[®]10 et de la maltodextrine « recette enrichie » (Etude Nutriose)

De nouveau, des tests préliminaires ont été réalisés sur 2 sujets (hommes) qui répondaient aux critères d'inclusion et qui ont chacun participé à deux journées tests, au cours desquelles ils ont ingéré les produits tests lors d'un petit-déjeuner standard. Lors de ces essais, seuls des échantillons respiratoires ont été prélevés pour mesurer la fermentation (taux d'hydrogène expiré) et l'enrichissement en ^{13}C du CO_2 expiré. Les

résultats obtenus (figure 12, A et B) montrent que cette fois-ci l'enrichissement des produits était suffisant pour détecter une différence d'EI en ^{13}C entre les produits, mais aussi des variations de cinétiques (effet temps) significatives. La suite du protocole a donc été réalisée avec ces produits enrichis.

Nous avons réalisé un test supplémentaire sur 25 heures suite à l'ingestion de Nutriose, pour vérifier que nous ne manquions pas un pic tardif d'apparition de $^{13}\text{CO}_2$ avec un suivi limité à 10 heures. Le suivi au-delà de 10h n'a pas permis de détecter un potentiel pic d'apparition tardif (l'augmentation à T800 étant semblable à celle de T300: due à l'ingestion d'un repas). Par conséquent, les conditions initiales du protocole ont été maintenues avec un suivi de 10 heures après l'ingestion du petit-déjeuner test.

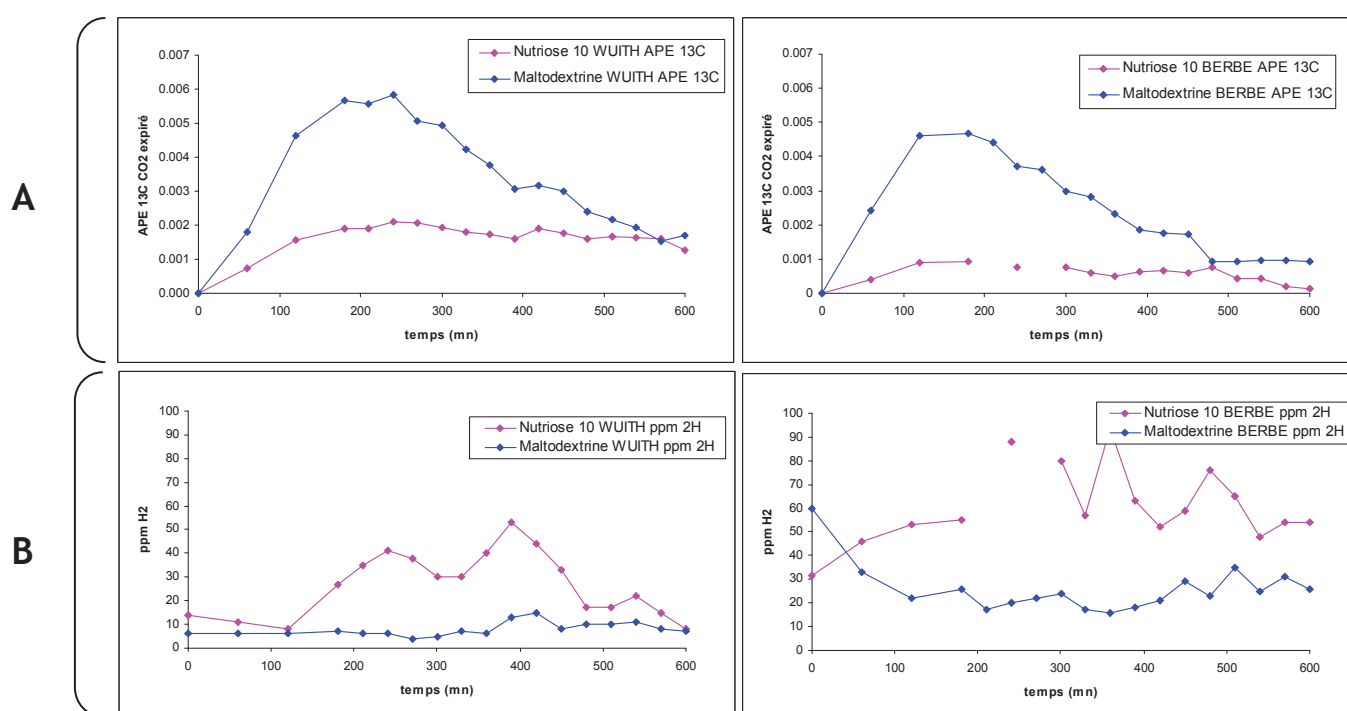


Figure 12: Résultats préliminaires pour deux sujets (WUITH et BERBE) : A: Atom% Excess (APE) $^{13}\text{CO}_2$ expiré (enrichissement du CO_2 expiré en ^{13}C provenant du produit ingéré) et B: hydrogène expiré (fermentation)

Les repas-tests

Le petit-déjeuner test

Le produit testé (NUTRIOSE[®]10 ou maltodextrine) a été mis en solution (50g dans 100ml d'eau) et servi avec un petit-déjeuner standardisé sans fibre.

Le déjeuner test

A T300, un déjeuner standardisé a été servi aux sujets.

	Quantité	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Fibres	Energie
	g	g	g	g	g	kcal
Petit-déjeuner NUTRIOSE						
4 biscottes	30	3,2	1,2	23,6	1,2	124
Beurre	20	0,1	16,6	0,1	0	150
NUTRIOSE®10 (solution de 100ml)	50	0	0	50	50	100
<i>Total</i>		3,3	17,8	73,7		374
Petit-déjeuner maltodextrine						
4 biscottes	30	3,2	1,2	23,6	1,2	124
Beurre	20	0,1	16,6	0,1	0	150
GLUCIDEX (solution de 100ml)	50	0	0	50	0	200
<i>Total</i>		3,3	17,8	73,7		474

Tableau 16 : Composition des deux petits-déjeuners tests (Etude Nutriose)

	Quantité	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Fibres	Energie
	g	g	g	g	g	kcal
Déjeuner standardisé						
Jambon	50	9	0,6	0	0	57
Riz	200	4,6	0,4	52,6	1	238
2 biscottes	15	1,4	1,1	11,4	0,6	62
Fromage	30	8,7	9,4	0	0	113
<i>Total</i>		23,7	11,5	64	1,6	470

Tableau 17 : Composition du déjeuner standardisé (Etude Nutriose)

Régime concomitant

Les mêmes précautions ont été prises pour cette étude en ce qui concerne la limitation de la consommation de produits naturellement riches en ¹³C et la prise de thérapeutique pouvant interférer avec le protocole. Il a été demandé aux sujets d'éviter la consommation de pré- et pro-biotiques dans le mois précédant le début du protocole (chicorée, salsifis, artichauts, légumes secs plus d'une fois par semaine, produits laitiers fermentés au bifidus, yaourts aux fruits 0%, produits « light », rhubarbe, prune, pruneaux :

consommation quotidienne ou plusieurs fois par semaine). De plus, le dîner consommé la veille des journées d'exploration était standardisé : poisson, riz, fromage, biscottes.

3.3 Sujets

15 hommes de poids normal et stable ont été recrutés pour cette étude. 3 ont été exclus lors de la visite d'inclusion : 2 sujets non producteurs d'H₂ lors du test lactulose et 1 sujet dont l'IMC était supérieur à 24. Les 12 sujets inclus ont complété l'étude (Tableau 18).

Sujets (n=12)	
Age (ans)	29 ± 1
Poids (kg)	71,7 ± 1.8
IMC (kg/m ²)	22,7 ± 0.5
Glycémie (mmol/l)	4,49 ± 0.13
Cholestérol total (mmol/l)	4,66 ± 0.24
Triglycérides (mmol/l)	1,15 ± 0.14

Tableau 18 : Caractéristiques des sujets recrutés pour l'étude Nutriose à l'inclusion

La figure 13 présente les résultats individuels des tests au lactulose avec les courbes de production d'H₂ au cours des 240 minutes suivant l'ingestion. Nous avons observé une grande hétérogénéité des sujets sur leur niveau de production de H₂ en basal et en réponse au lactulose. Les 12 sujets présentés ont été validés comme H₂ producteurs par le service de gastro-entérologie de Lyon sud qui a analysé les échantillons.

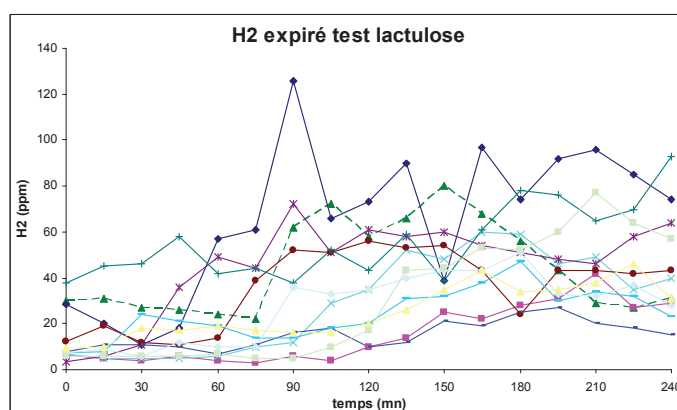


Figure 13: Production de H₂ suite à l'ingestion de lactulose, chaque courbe correspond à un sujet.

4. Méthodes

4.1 Recrutement et inclusion des sujets

Les sujets ayant participé à ces différentes études ont été recrutés principalement à Lyon et dans ses environs et ont tous participé à une visite d'inclusion. Lors de la visite d'inclusion, les sujets ont été informés sur les buts, la nature et les risques possibles de l'essai auquel ils allaient participer et l'investigateur a recueilli leur consentement éclairé et signé. Chacun des protocoles a de plus été approuvé par les comités d'éthique à Lyon (Comité de Protection des Personnes Lyon Sud-Est anciennement Comité de Protection des Personnes Lyon A), et était en accord avec la déclaration d'Helsinki II et la loi française Huriet-Sérusclat.

La visite d'inclusion comprenait à chaque fois deux temps :

- un temps « médical » : au cours duquel un interrogatoire a été réalisé sur les antécédents familiaux et personnels de santé, les traitements médicamenteux suivis ainsi qu'un examen médical standard (mesure du poids, taille, pression artérielle). Les prélèvements sanguins nécessaires à la vérification de la validité des critères d'inclusion et d'exclusion ont été effectués à jeun le même jour. Dans le cas de l'étude Nutriose, le test au lactulose (pour vérifier que les sujets sont bien H₂ producteurs) était aussi effectué lors de cette journée d'inclusion.

- un temps « diététique » : au cours duquel une évaluation des habitudes alimentaires et de la consommation spécifique en fibres est réalisée par une diététicienne agréée.

4.2 Mesures anthropométriques

Les sujets ont été pesés à l'aide d'une balance numérique calibrée (SECA®). La taille des sujets a été mesurée à l'aide d'une toise. La composition corporelle a été évaluée le cas échéant à l'aide d'un impédancemètre monofréquence (Star 50, Spengler®) après 20 minutes de repos allongé.

4.3 Dosages biochimiques

Les échantillons sanguins ont été prélevés à l'aide d'un cathéter préalablement positionné par une infirmière dans l'avant-bras. Une fois prélevés, les échantillons sanguins ont été aussitôt centrifugés et le plasma a été récupéré pour le dosage des différents métabolites. Les dosages de glycémie, de triglycérides et d'acides gras libres non estérifiés plasmatiques ont été réalisés par méthode enzymatique colorimétrique sur un spectrophotomètre Cary 50 Bio© (Varian©) en utilisant respectivement les kits glucose RTU® (Biomérieux, France), TG PAP 150 (Biomérieux, France) et NEFA® (Wako, Freiburg, Allemagne). Les dosages de l'insuline, du C-peptide, et de la ghréline plasmatiques ont été réalisés par radio-immuno essai (INS-IRMA Biosource, Nivelles, Belgique ; Immunotech, Marseille, France, Medgenix Diagnostics®, Rungis, France, respectivement). Les concentrations plasmatiques en cholestérol total et HDL-cholestérol ont été mesurées à l'aide d'un analyseur MODULAR© (Roche-Diagnostics). Les concentrations en LDL-cholestérol ont été calculées par la formule de Friedewald (Friedewald et al. 1972).

4.4 Mesure du taux d'hydrogène expiré (Etude Nutriose)

La dégradation bactérienne colique des glucides dans le côlon produit de l'hydrogène, lequel diffuse en partie (15%) dans le sang pour être ensuite expiré par les poumons. Le test respiratoire à l'hydrogène ou mesure du taux d'hydrogène expiré permet d'apprécier semi-quantitativement le degré et la cinétique de fermentation d'un glucide au niveau colique (Flourié 1992).

A son arrivée au Centre de Recherche, il était demandé au volontaire de se rincer la bouche avec une solution d'ELUDRIL (pour éliminer une éventuelle pullulation microbienne). Pour chaque mesure, les volontaires devaient respirer normalement puis expirer profondément dans un sac de prélèvement spécifique à l'aide d'un embout (Quintron, Milwaukee, WI, USA). Ensuite, l'échantillon d'air prélevé était injecté dans un analyseur H₂ (Quintron, Milwaukee, WI, USA) qui mesure la concentration en H₂ expiré par chromatographie gazeuse.

Test au lactulose

Pour l'étude Nutriose, afin de détecter les personnes non H₂ productrices (critères d'exclusion pour l'étude), un test au lactulose a été réalisé. Une collection des gaz expirés

a été réalisée en basal (4 fois entre T-30 à T0). Le patient a ingéré 10 g de lactulose (Duphalac) dilué dans 100 ml d'eau. La solution a été ingérée en moins de 10 minutes. Le patient est resté en décubitus pendant les 4 heures suivantes, en évitant de dormir. Entre T15 et T240, une collection des gaz expirés a été réalisée toutes les 15 minutes.

4.5 Mesures de calorimétrie indirecte

Des mesures de calorimétrie indirecte ont été réalisées pour toutes les études. Les sujets ne devaient pas s'assoupir pendant toute la durée du protocole. Dans le cas d'agitation anormale ou d'énervement d'un sujet du fait de la cloche en plexiglas qui entoure la tête, un arrêt de quelques minutes pouvait être envisagé pour permettre un retour au calme. (A noter que les claustrophobes n'ont pas été recrutés).

Les échanges gazeux respiratoires (V_{CO_2} et V_{O_2} , ml/min) ont été mesurés à l'aide d'un appareil Deltatrac (Datex instrument, Helsinki, Finland), à raison d'une mesure par minute. Avant chaque test, l'appareil Deltatrac a été étalonné avec un échantillon de gaz étalon de composition en CO_2 et O_2 connue. La qualité et la stabilité de la calibration ont été vérifiées par un test de brûlage à l'éthanol. Des échantillons urinaires ont été prélevés en parallèle à jeun, avant le petit-déjeuner et avant le déjeuner le cas échéant et à la fin de la journée d'exploration, afin de mesurer la concentration d'azote urinaire.

4.6 Enquêtes alimentaires

Les questionnaires alimentaires ont été remplis par écrit par les sujets eux-mêmes pour évaluer au niveau qualitatif et quantitatif les aliments ingérés. De manière systématique, ces enquêtes ont été ensuite relues et validées par une diététicienne agréée lors d'une entretien avec les sujets et à l'aide d'un support photographique alimentaire SU.VI.MAX (SUplémentation en Vitamines et Minéraux AntiOXidants). Ceci a permis d'évaluer les portions ingérées. Les calculs de composition en macronutriments ont ensuite été réalisés à l'aide d'une base de données numérique de composition de produits alimentaires, d'aliments et d'ingrédients spécifiques (GENi© software, table du CIQUAL®, MICRO 6©).

4.7 Scores de satiété (Etude Eurostarch)

Il a été demandé de plus aux sujets, dans l'étude Eurostarch, d'évaluer leur sensation de faim à l'aide d'une échelle analogique graduée de 0 (« pas du tout faim ») à 100 (« énormément faim »), 4 fois par jour.

4.8 Analyses isotopiques

Intérêt des isotopes stables pour le suivi du métabolisme des glucides en nutrition humaine

L'état d'équilibre glycémique correspond à un équilibre entre les apports de glucose dans la circulation sanguine et le captage du glucose par les tissus utilisateurs. La glycémie et ses variations sont le résultat de l'équilibre ou du déséquilibre entre apports (apports de glucose exogène et endogène) et utilisation du glucose (utilisation du glucose plasmatique par les différents tissus gluco-dépendants). Il est assez difficile d'extrapoler directement les effets d'un glucide ingéré sur la glycémie plasmatique car le compartiment sanguin intègre le glucose provenant de la digestion des glucides ingérés et le glucose endogène produit essentiellement par le foie. Une diminution de la glycémie peut donc provenir d'une diminution de la production de glucose associée à une utilisation constante, ou d'une augmentation de l'utilisation du glucose associée à une production constante.

Ensuite, le glucose peut être soit stocké ou oxydé, transformé ou recyclé selon les besoins de l'organisme. La concentration plasmatique en glucose est donc la somme du débit d'entrée et du débit de sortie du glucose mais ne permet pas pour autant de les appréhender directement, ni de séparer ces composantes (glucose endogène ou exogène).

L'une des méthodes qui peut être utilisée pour mesurer les flux de substrats est la différence artério-veineuse au niveau d'un organe ou d'un groupe d'organes. Cependant, il s'agit d'une méthode délicate qui implique des difficultés pratiques et parfois éthiques.

L'utilisation des isotopes stables du glucose pour « tracer » le devenir du glucose total, exogène et endogène permet de mesurer ces débits chez l'Homme et d'accéder à la régulation du métabolisme du glucose au niveau tissulaire (Chambrier et al. 1988).

Les isotopes stables du glucose présentent plusieurs avantages (Delarue & Beylot 2007):

- ils présentent une innocuité liée à leur non-radioactivité
- ils permettent de mesurer en même temps le rapport traceur/tracé et la concentration de la molécule d'intérêt grâce à l'utilisation simultanée d'un standard interne pour l'analyse
- le fractionnement isotopique dans le cas du marquage par le deutérium ou le ^{13}C est très faible et pratiquement toujours négligeable. Le fractionnement isotopique correspond à l'utilisation préférentielle d'un isotope par rapport à l'autre lors d'une réaction enzymatique.

Certaines plantes, nous l'avons vu, privilégient l'incorporation de ^{13}C par rapport au ^{12}C du fait de l'action de certaines enzymes de la photosynthèse et sont de ce fait naturellement enrichies en ^{13}C (Schoeller et al. 1980). C'est le cas du maïs, du sucre de canne, dont le saccharose et l'amidon sont plus enrichis que, par exemple, l'amidon de blé. Suite à leur ingestion, il est donc possible de suivre dans le plasma et dans le CO_2 expiré l'apparition respective du ^{13}C glucose et du $^{13}\text{CO}_2$.

Cependant, une des limites quant à l'utilisation du ^{13}C -glucose est qu'il peut être recyclé au cours du processus de néoglucogénèse. Une molécule de glucose marqué produit deux molécules marquées de pyruvate. Ce pyruvate peut être converti en lactate (principalement) ou alanine qui sont des précurseurs pour la néoglucogénèse. Ceci peut mener à l'incorporation du marquage dans une molécule de glucose nouvellement synthétisée. Cependant, 50% du marquage ^{13}C des atomes de carbone est perdu lors du recyclage et le glucose qui réapparaît après avoir transité en pyruvate/lactate est appauvri en ^{13}C . Une étude de Jeukendrup (Jeukendrup et al. 1999) montre en effet à l'exercice que le recyclage est de 4 à 10 % selon la dose de glucose exogène administrée. Ce recyclage du marquage reste quand même négligeable car la néoglucogénèse est freinée suite à l'ingestion de glucose. Dans une de ses revues Livesey indique que, lors de l'ingestion de 20 à 75 g de glucose, 100% du glucose exogène apparaît dans la circulation systémique dans les 4 à 5 heures suivant l'ingestion du repas (Livesey et al., 1998).

Principes d'analyse

Dans le cas du glucose, les isotopes stables utilisés (^2H et ^{13}C glucose) sont plus lourds que la molécule naturelle la plus abondante dans la nature. La mesure de l'enrichissement en glucose marqué correspond à l'augmentation du rapport $M+n/M$ au dessus de l'abondance naturelle (où M est la masse de la molécule la plus abondante et $M+n$ la masse des isotopes plus lourds de cette molécule). Cet enrichissement est mesuré à l'aide de spectromètres de masse organique (SMO) ou isotopique (SMI) associés à une chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Les spectromètres de masse organiques permettent de doser les molécules entières comme le glucose après dérivation pour les rendre volatiles et stables pour injection en CPG. En sortie de CPG, la molécule de glucose dérivée est ionisée et se fragmente toujours de la même manière en ion moléculaire (molécule entière) et autres plus petits fragments, constituant ainsi son spectre de masse. Les différents fragments sont triés en fonction de leur masse par passage dans un aimant, pour être ensuite collectés. L'enrichissement est ensuite calculé à partir de l'abondance des ions $M+n$ et M de l'ion moléculaire ou d'un ion fragment, en utilisant une gamme standard d'enrichissement connu. La mesure par SMO nécessite néanmoins des enrichissements d'au moins 0,5 à 1 %.

Les spectromètres de masse isotopiques ne permettent l'analyse que de petites molécules sous forme gazeuse. Dans le cas du glucose, nous pouvons doser l'enrichissement du CO_2 provenant de l'oxydation des molécules de glucose. Les SMI permettent de mesurer des enrichissements beaucoup plus faibles de l'ordre de 0,001%.

Les cinétiques d'apparition et de disparition du glucose total sont suivies en utilisant comme traceur le $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucose et pour les cinétiques du glucose exogène ingéré le ^{13}C glucose. Pour évaluer les cinétiques du glucose total, une perfusion continue de $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ glucose est mise en place (après un bolus pour une équilibration plus rapide du traceur dans le compartiment sanguin). L'équilibre isotopique est atteint au bout de 120 minutes.

Méthodes d'analyse

Le glucose deutéré $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ a été fourni par les laboratoires Eurisotop (St Aubin, France). L'apyrogénicité et la conformité du traceur ont été vérifiées par la pharmacie de

l'hôpital Edouard Herriot (Service du Dr Pivot), qui a réalisé aussi sa dilution dans des conditions stériles.

Les enrichissements isotopiques ont été déterminés sur la fraction neutre de plasma déprotéinisé (acide perchlorique à 6%), neutralisé (K_2CO_3) et purifié sur résines échangeuses d'ions, l'éluat obtenu a ensuite été dérivé en glucose penta-acétate (Tissot et al. 1990; Normand et al. 1992) pour les études β -glucanes et Eurostarch ou en glucose aldonitrile pentacétate (Tserng & Kalhan 1983) pour l'étude Nutriose. L'enrichissement en $[6,6-^2H_2]$ -glucose du glucose plasmatique (suivi des cinétiques d'apparition et de disparition du glucose total-RaT et RdT) a été mesuré par couplage chromatographie phase gazeuse-spectrométrie de masse organique (CPG-SMO, Hewlett Packard 5890, Evry, France). L'enrichissement en ^{13}C du glucose plasmatique (suivi des cinétiques d'apparition et de disparition du glucose exogène-RaE et RdE) a été mesuré par couplage chromatographie phase gazeuse-combustion-spectrométrie de masse isotopique (CPG-C-SMI, Isoprime, VG Instruments) et l'enrichissement en ^{13}C du CO_2 expiré a été mesuré par couplage CPG-SMI (sans combustion) (CPG-SMI, Isoprime, VG Instruments).

5 Calculs

5.1 Analyses isotopiques du glucose

Flux isotopiques du glucose

Calcul du débit d'apparition (RaT) et de disparition (RdT) du glucose total

Ces paramètres ont été calculés en état non stationnaire par la formule de Steele modifiée par De Bodo (De Bodo et al. 1963), utilisant un modèle à un compartiment et une répartition uniforme. Le calcul du RaT et du RdT est basé sur les valeurs d'enrichissement isotopique du glucose deutéré plasmatique.

$$\text{RaT} = \frac{F - pV[(C_2 + C_1)/2] [(El_2 - El_1) / (t_2 - t_1)]}{(El_2 + El_1)/2} - F$$

En mg/kg/min

$$\text{RdT} = \text{RaT} - pV \frac{dC}{dT} = \text{Ra} - \frac{pV \times (C_2 - C_1)}{(t_2 - t_1)}$$

F : débit de perfusion du traceur [6.6-²H₂] glucose en mg/kg/min
P : facteur de correction
V : volume de distribution du glucose en L/kg
C₁ et C₂ : glycémie au temps t₁ et t₂ en mg/L
El₁ et El₂ : enrichissement isotopique au temps 1 et 2
t₁ et t₂ : premier et deuxième temps

Calcul du débit d'apparition (RaE) et de disparition (RdE) du glucose exogène

Pour la détermination des débits de glucose exogène, nous devons tenir compte de l'enrichissement naturel en ¹³C du glucose plasmatique à l'état basal. Les enrichissements en ¹³C glucose plasmatique ont été exprimés en APE pour Atom% Excess en anglais.

Atom% Excess = APE (mesure en % de l'augmentation de l'abondance isotopique de l'échantillon)

APE ¹³CO₂ expiré (t) = Atom% CO₂ (t) - Atom% CO₂ (t₀)

APE ¹³C glucose plasmatique (t) = Atom% Glu_{plasma} (t) - Atom% Glu_{plasma} (t₀)

Les débits de glucose exogène ont ensuite été calculés en utilisant les formules de Proietto (d'après transposition de l'équation de Steele) (Proietto et al. 1987). Le débit RaE ainsi mesuré représente l'apparition du glucose marqué absorbé au niveau de l'intestin et qui n'est pas capté par le foie lors de son premier passage, du glucose marqué capté par le foie lors des différents passages hépatiques et qui est libéré plus tard, du glucose marqué synthétisé par le foie à partir du lactate marqué produit par les tissus périphériques à partir du glucose marqué (Korach-André et al. 2004).

$$\text{RaE} = \frac{[\text{RaT} * (\text{APE}_2 + \text{APE}_1)/2] + [\text{pV} (\text{C}_1 + \text{C}_2)/2 * (\text{APE}_2 - \text{APE}_1)/(t_2 - t_1)]}{\text{APE}_{\text{Glu ing}}}$$

En mg/kg/min

$$\text{RdE} = \text{RaE} - \frac{[\text{pV} (\text{C}_1 + \text{C}_2)/2 * (\text{APE}_2 - \text{APE}_1)/(t_2 - t_1)]}{\text{APE}_{\text{Glu ing}}}$$

P : facteur de correction
 V : volume de distribution du glucose en L/kg
 C₁ et C₂ : glycémie au temps t₁ et t₂ en mg/L
 APE₁ et APE₂ : nombre d'atomes en excès pour cent atomes totaux, augmentation en % de l'abondance de l'échantillon par rapport à l'abondance naturelle à t₁ et t₂
 t₁ et t₂ : premier et deuxième temps

Calcul de la production endogène de glucose

Elle est calculée comme la différence entre le débit d'apparition du glucose total et le débit d'apparition du glucose exogène :

$$\text{PEG} = \text{RaT} - \text{RaE}$$

En mg/kg/min

Etude Nutriose : APE corrigé par APE produit

Dans cette étude, seul le glucose provenant des produits tests ingérés était marqué au ¹³C et il n'y a pas eu en parallèle de perfusion de glucose deutéré. Par conséquent, les flux de glucose totaux et exogènes n'ont pas pu être calculés comme précédemment expliqué. Les enrichissements en ¹³C du glucose plasmatique et en ¹³C du CO₂ expiré ont été exprimés en APE pour Atom% Excess en anglais. Pour le plasma et le CO₂ expiré,

l'enrichissement isotopique après ingestion des produits tests enrichis en ^{13}C a été transformé en APE par la formule vue précédemment. Comme l'enrichissement initial en ^{13}C du glucose différait entre les deux produits tests NUTRIOSE®10 et maltodextrine, une correction a été appliquée pour prendre en compte cette différence. Voici ci-dessous, les formules et calculs réalisés à partir des enrichissements en ^{13}C du CO_2 expiré et du glucose plasmatique, à partir des données de spectrométrie de masse isotopique.

$^{13}\text{CO}_2$ expiré « corrigé » = % du $^{13}\text{CO}_2$ expiré provenant du produit ingéré :

$$\% = [\text{APE CO}_2 / \text{APE produit ingéré}] \times 100$$

$^{13}\text{C}\text{Glu}_{\text{plasma}}$ « corrigé » = % du ^{13}C glucose plasmatique provenant du produit ingéré :

$$\% = [\text{APE Glu}_{\text{plasma}} / \text{APE produit ingéré}] \times 100$$

Exemple de calcul pour un sujet (BREFA):

CO_2 expiré Nutriose

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{CO}_2\text{Nutriose} = +2,56\text{‰} = 1,11405 \text{ Atom\%}$$

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{CO}_2 \text{ basal} = -26,26\text{‰} = 1,08237 \text{ Atom\%}$$

$$\begin{aligned} \text{APE Nutriose ingéré} &= (\text{At\% CO}_2\text{Nutriose} - \text{At\% CO}_2 \text{ basal}) \\ &= 1,11405 - 1,08237 = 0,03168 \end{aligned}$$

CO_2 expiré maltodextrine

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{CO}_2\text{maltodextrine} = +6,15\text{‰} = 1,11799 \text{ Atom\%}$$

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{CO}_2 \text{ basal} = -25,53\text{‰} = 1,08318 \text{ Atom\%}$$

$$\begin{aligned} \text{APE maltodextrine ingérée} &= (\text{At\% CO}_2\text{malto} - \text{At\% CO}_2 \text{ basal}) \\ &= 1,11799 - 1,08318 = 0,03481 \end{aligned}$$

Glucose plasmatique Nutriose

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{Glu}_{\text{Nutriose}} = +1,81\text{‰} = 1,11322 \text{ Atom\%}$$

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{Glu}_{\text{plasma}} \text{ basal} = -24,71\text{‰} = 1,08407 \text{ Atom\%}$$

$$\begin{aligned} \text{APE Nutriose ingéré} &= (\text{At\% Glu}_{\text{Nutriose}} - \text{At\% Glu}_{\text{plasma}} \text{ basal}) \\ &= 1,11322 - 1,08407 = 0,02915 \end{aligned}$$

Glucose plasmatique maltodextrine

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{Glu}_{\text{maltodextrine}} = +5,75\text{‰} = 1,11755 \text{ Atom\%}$$

$$\delta \text{ }^{13}\text{C}\text{‰} \text{Glu}_{\text{plasma}} \text{ basal} = -22,06\text{‰} = 1,08698 \text{ Atom\%}$$

$$\begin{aligned} \text{APE maltodextrine ingérée} &= (\text{At\% Glu}_{\text{malto}} - \text{At\% Glu}_{\text{plasma}} \text{ basal}) \\ &= 1,11755 - 1,08358 = 0,03057 \end{aligned}$$

5.2 Oxydation des substrats et métabolisme de base

Les oxydations des substrats, le métabolisme de base et la dépense énergétique ont été calculés à partir des données de calorimétrie indirecte en utilisant les équations de Ferrannini (Ferrannini 1988).

Oxydation des substrats

Oxydation des glucides	$G = 4,55 \text{ VCO}_2 - 3,21 \text{ VO}_2 - 2,87 \text{ N}$
Oxydation des lipides	$L = 1,67 \text{ VO}_2 - 1,67 \text{ VCO}_2 - 1,92 \text{ N}$
Oxydation des protéines	$P = 6,25 \text{ N}$

En cas de lipogénèse (QRNP, quotient respiratoire non protéique >1), mêmes équations sauf (Simonson & DeFronzo, 1990):

$$\text{Oxydation du glucose (lipogénèse)} \quad G = 1,34 (\text{VCO}_2 - (4,88 \text{ N}))$$

Avec G, L, P= grammes de glucides, lipides, protéines oxydés par min
VO₂, VCO₂ en l/min
N= g d'azote urinaire excrété par min

Métabolisme de base et dépense énergétique

Le métabolisme de base a été calculé sur la base de la moyenne des mesures de calorimétrie indirecte obtenue après 30 minutes de repos.

Dépense énergétique	$DE = 3,913 \text{ VO}_2 + 1,093 \text{ VCO}_2 - 3,341 \text{ N}$ En kcal/min
---------------------	--

5.3 Index d'insulino-résistance

Pour l'étude Eurostarch, deux index d'insulino-résistance ont été calculés selon les formules de référence : le QUICKI (Quantitative Insulin sensitivity Check Index) et le HOMA-IR (Homeostasis model assessment for estimate of relative insulin resistance).

$$\text{QUICKI} = 1 / (\log [\text{insuline}] + \log [\text{glucose}]) \quad (\text{Katz et al. 2000})$$

$$\text{HOMA-IR} = ([\text{glucose}] \times [\text{insuline}]) / 22,5 \quad (\text{Matthews et al. 1985})$$

Avec la concentration plasmatique en glucose exprimée en mmol/l et la concentration en insuline en mU/l.

5.4 Index et charges glycémiques des repas (étude Eurostarch)

Pour cette étude, il a été demandé aux sujets d'évaluer le type et la quantité précise d'aliments consommés en utilisant un relevé alimentaire de 5 jours avant, au milieu et à la fin de l'étude.

La moyenne des index glycémiques (IG) de tous les repas pris dans une journée a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{IG}_{\text{moyenne}} = \Sigma ((\text{QG}_{\text{aliment}} / \text{QG}_{\text{total}}) \times \text{IG}_{\text{aliment}})$$

$\text{QG}_{\text{aliment}}$ = quantité de glucides contenus dans l'aliment ingéré (g)

QG_{total} = quantité de glucides ingérés dans la journée (g)

$\text{IG}_{\text{aliment}}$ = IG de l'aliment ingéré

Les charges glycémiques (CG) ont été déterminées grâce à la formule suivante en multipliant l'IG par la quantité totale de glucides ingérés:

$$\text{CG} = (\text{IG}_{\text{moyenne}} \times \text{C}_{\text{total}})$$

$\text{IG}_{\text{moyenne}}$ = index glycémique de l'aliment

C_{total} = quantité totale de glucides ingérés (g)

5.5 Analyse des aires sous courbes (ASC) et des cinétiques : calculs ASC et pics

Le calcul des aires sous courbe (ASC) (AUC, Area Under the Curve en anglais) a été réalisé en utilisant la méthode des trapèzes. L'intégration a ensuite été réalisée sur les périodes post-prandiales (post-petit-déjeuner et post-déjeuner) ou sur la totalité du temps d'expérimentation, selon le protocole expérimental. Les ASC incrémentées, iASC, sont calculées de la même manière mais en ne considérant que les valeurs au-dessus de la valeur basale.

Le cas échéant, les pics des cinétiques ont été calculés comme les concentrations maximales (ou enrichissements isotopiques maximaux) pour une période donnée et par sujet. La valeur du pic est ensuite calculée comme la moyenne des pics pour chaque groupe/type d'intervention nutritionnelle. Par conséquent, la valeur maximale n'étant pas forcément atteinte au même temps pour chaque sujet, cette valeur de pic ne correspond pas forcément à la valeur observée sur la courbe moyennée.

6 Analyses statistiques

6.1 Calcul d'effectif

Dans chacune des études présentées un calcul d'effectif a été réalisé afin de déterminer le nombre de sujets nécessaires à la vérification de l'hypothèse à tester.

Etude β -glucanes et étude Nutriose

Pour ces deux études, le critère de jugement principal était l'apparition du glucose exogène dans le plasma. Des résultats antérieurs obtenus au CRNH (Normand et al. 2001) ont montré qu'un effectif de 12 sujets sains était suffisant pour mettre en évidence une différence significative pour ce critère (avec une puissance de 80% et $p < 0.05$).

Etude Eurostarch

Pour cette étude, le critère de jugement principal était cette fois la modification du poids corporel suite aux 5 semaines d'intervention IG (voir article en annexe (de Rougemont et al. 2007)). Il a été calculé que 17 sujets sains en surpoids par groupe serait

suffisant pour mettre en évidence une différence de modification de poids corporel de 1kg (écart-type : 1 kg) entre les groupes (avec une puissance de 80% et $p < 0.05$). Dans ce cas précis, le calcul d'effectif n'a pas été effectué sur les paramètres étudiés plus précisément dans cette thèse, c'est-à-dire les modifications du métabolisme postprandial.

La limite des calculs d'effectif que nous avons effectués est qu'un seul critère de jugement a été pris en compte à chaque fois. S'il s'est avéré que nous avons pu mettre en évidence comme attendu des différences significatives pour ces critères, l'effectif s'est révélé insuffisant pour d'autres dont les variations étaient plus sensibles (glycémie) ou les écarts-types plus importants (insulinémie).

6.2 Tests statistiques

Pour chaque paramètre, les différents résultats ont été présentés sous forme moyenne par groupe \pm écart standard à la moyenne (ESM). Pour effectuer ces tests statistiques nous avons utilisé le logiciel Statview (Statview, Abacus Concepts, Berkeley, CA) ainsi que le logiciel JMP[®] (version 5.1.1 ; SAS Institute[®]).

Etude β -glucanes

La différence significative entre les repas test pour les aires sous courbes a été déterminée à l'aide d'un test t de Student pour séries appariées, après vérification du critère de normalité.

Une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs pour mesures répétées a été effectuée pour tester l'effet du repas (Pol ou Pol+BG), du temps (cinétique) et de l'interaction temps*repas (différence entre les repas au cours du temps). En cas d'interaction temps*repas significative, la différence entre les repas à des temps spécifiques a été analysée à l'aide d'un test post-hoc.

Etude Eurostarch

Les différences entre les groupes à l'inclusion et à J1 ont été déterminées en utilisant un test de Mann-Whitney en cas de non-normalité des distributions pour un paramètre donné, ou un test t de Student pour séries non appariées autrement.

Les moyennes d'IG et de répartitions des macronutriments avant, au cours et à la fin du régime d'intervention ont été comparées, les différents paramètres anthropométriques et biochimiques à jeun ont été analysés à l'aide de procédures d'analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs pour mesures répétées testant l'effet du groupe (LGI ou HGI), du temps (J1, J15 ou J36) et de l'interaction temps*groupe (différence entre les groupes au cours du temps).

Les différences entre les deux groupes entre J1 et J36 pour les différents paramètres anthropométriques et biochimiques à jeun ont été analysées à l'aide de procédures d'analyse de covariance (ANCOVA) en utilisant la valeur à l'inclusion comme covariant.

Pour les réponses postprandiales, une analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs avec correction de Bonferroni a été utilisée pour comparer les pics et nadirs postprandiaux ainsi que les ASC entre les groupes au cours du temps. Ainsi, l'effet du groupe (LGI ou HGI), du temps (J1 et J36) et de l'interaction temps*groupe (différence entre les groupes au cours du temps) a été évalué.

En cas d'interaction temps*groupe significative, la différence intra groupe entre J1 et J36 a été analysée à l'aide d'un test t de Student pour séries appariées.

L'analyse statistique de la corrélation entre différents paramètres métaboliques a été réalisée par régression linéaire simple.

Etude Nutriose

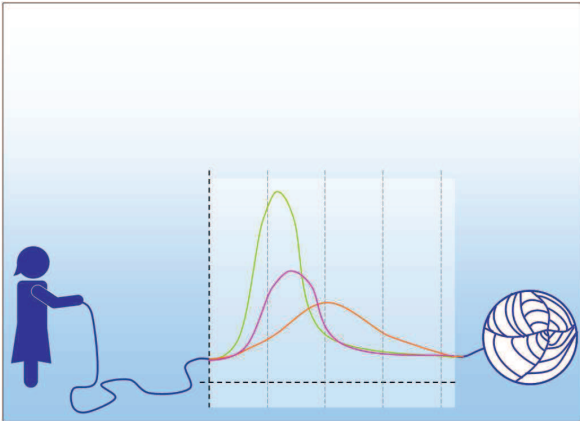
La différence significative entre les repas test pour les ASC et les pics de cinétique a été déterminée à l'aide d'un test t de Student pour séries appariées, après vérification du critère de normalité des distributions.

Pour les réponses post-prandiales, une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs pour mesures répétées a été effectuée pour tester l'effet du repas (malto ou Nutriose), du temps (cinétique) et de l'interaction temps*repas (différence entre les repas au cours du temps). En cas d'interaction temps*groupe significative, la différence entre les repas à des temps spécifiques a été analysée à l'aide d'un test t de Student pour séries appariées.

Une régression linéaire simple a été réalisée pour déterminer la corrélation entre deux paramètres (sur la base de 2 paires de données par sujets (malto et Nutriose)).

CHAPITRE 5

Résultats



Etude β -glucanes

**Modulation de la phase postprandiale par l'addition de β -glucanes :
Effets sur les cinétiques du glucose et de l'insuline et sur la lipolyse**

**Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects:
Effects on glucose and insulin kinetics**

Julie-Anne Nazare, Sylvie Normand, Angeliki Oste Triantafyllou, Aude Brac de la Perrière, Michel Desage and Martine Laville (2009), *Molecular Nutrition and Food Research* ;53(3):361-9

Résumé

Diminuer la réponse glycémique postprandiale peut devenir un enjeu potentiel de santé publique. En effet, les régimes à faible index glycémique ou à teneur élevée en fibres sont associés à un risque réduit de diabète de type 2. Nous avons étudié chez des sujets en surpoids l'effet de l'addition de β -glucanes d'avoine à un repas de polente de maïs sur le métabolisme postprandial et la biodisponibilité du glucose en utilisant le double marquage du glucose. Dans cette étude randomisée en simple aveugle croisée, 12 sujets ont ingéré lors de deux journées distinctes : un repas composé de polente seule (Pol) et un repas composé de polente additionnée de 5g de β -glucanes (Pol+BG). Les concentrations de glucose, insuline, peptide C, acides gras non estérifiés, triglycérides ainsi que les cinétiques de glucose total, exogène et endogène ont été mesurés pendant 6 heures suite à l'ingestion des repas tests. Les cinétiques de glucose total et exogène en réponse aux deux repas étaient significativement différentes, mais la quantité totale de glucose exogène et total apparu dans le plasma pendant les 6 heures de test n'était, elle, pas différente. Cependant, au cours des premières 120 minutes après l'ingestion du repas Pol+BG, la quantité de glucose exogène et total qui apparaît dans le plasma est plus faible ; après 120 minutes, ce phénomène s'inverse ensuite ($p < 0,0001$). En ce qui concerne la réponse glycémique, celle-ci était plus faible avec les fibres mais de manière non significative sur la première phase, sans modification de la réponse insulinaire. Après le repas Pol+BG, nous avons observé un second pic glycémique et insulinaire. En parallèle, l'inhibition de la lipolyse et la production endogène de glucose était plus marquée après le repas Pol+BG. En conclusion, l'addition de β -glucanes ralentit l'apparition du glucose dans le plasma, prolongeant la sécrétion d'insuline qui exerce une inhibition prolongée sur la lipolyse et la production endogène de glucose.

Introduction

Dans la plupart des pays industrialisés, malgré les recommandations de plusieurs organismes de santé d'augmenter la consommation de produits à haute teneur en fibres ou à index glycémique bas, la quantité de fibres ingérées reste loin des niveaux de consommation conseillés.

Cette étude faisait partie d'un programme de recherche européen intitulé « **Design of foods with improved functionality and superior health effects using cereal β -glucanes** » (QLRT-2000-00535), financé par la Communauté Européenne. L'objectif général de ce programme était de « développer des aliments fonctionnels à partir de β -glucanes issus des céréales pour améliorer le contrôle de l'hyperlipidémie et de la glycémie au sein de la population européenne ». De plus, nous avons choisi d'étudier les effets métaboliques associés de l'addition à un repas de fibres telles que les β -glucanes, dans une population spécifique d'individus en surpoids, car plus à risque de développer un diabète de type 2 (Colditz et al. 1995; Wannamethee & Shaper 1999).

Les effets bénéfiques des fibres diététiques sur les paramètres métaboliques postprandiaux et sur le contrôle glycémique ont été l'objet de nombreuses études ces dernières décennies (Jenkins et al. 1978; Liljeberg et al. 1996; Tappy et al. 1996; Bourdon et al. 1999; Juntunen et al. 2002; Kabir et al. 2002; Behall et al. 2006). Plus particulièrement, plusieurs études ont mis en évidence les propriétés des β -glucanes en termes de diminution des réponses glycémique et insulinique postprandiales, quand ces fibres étaient ajoutées à une solution de glucose ou à des produits alimentaires plus complexes (pâtes, pain, soupe, produits céréaliers,...) chez des sujets sains ou diabétiques (Braaten et al. 1991; Wood et al. 1994; Tappy et al. 1996; Liljeberg & Björck 2000; Jenkins et al. 2002b; Biörklund et al. 2005; Casiraghi et al. 2006). Les fibres solubles comme les β -glucanes ont la capacité d'augmenter la viscosité du bol alimentaire et de ce fait, de réduire le débit d'absorption des nutriments dont les glucides, ce qui réduirait les excursions glycémiques et insuliniques postprandiales (Braaten et al. 1991; Wood et al. 1994; Battilana et al. 2001).

Cependant, les effets spécifiques des β -glucanes sur le métabolisme glucidique sont difficiles à isoler de manière objective quand la fibre est intégrée à un repas complexe, par comparaison à une solution de glucose.

Par conséquent, il apparaît tout à fait important et judicieux de définir précisément les cinétiques du glucose (total, exogène et endogène) en réponse à l'ingestion de β -glucanes, en parallèle du suivi plus classique des concentrations

plasmatiques en glucose et insuline. Ainsi, cette approche intégrative permettra de mieux appréhender les cinétiques du glucose coordonnées sous-jacentes à la réponse glycémique finale. Pour ce faire, dans notre étude, un double marquage du glucose à l'aide d'isotopes stables a été réalisé afin de mesurer les débits d'apparition et de disparition du glucose exogène (RaE à l'aide du ^{13}C glucose) et du glucose total (RaT à l'aide du D-[6,6- $^2\text{H}_2$] glucose), ainsi que la production endogène de glucose (PEG). De cette manière, le devenir du glucose provenant d'un produit naturellement enrichi en ^{13}C comme la polenta de maïs a pu être suivi dans le plasma et l'effet des β -glucanes sur les cinétiques de glucose total, exogène et endogène a pu être éclairci.

Research Article

Modulation of the postprandial phase by β -glucan in overweight subjects: Effects on glucose and insulin kinetics

Julie-Anne Nazare^{1,2,3*,**}, Sylvie Normand^{1,2,3**}, Angeliki Oste Triantafyllou⁴, Aude Brac de la Perrière^{1,2,3}, Michel Desage^{1,2,3} and Martine Laville^{1,2,3}

¹ Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, Université de Lyon, Lyon, France

² INSERM, INRA, Université de Lyon 1, Lyon, France

³ Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁴ Oatly AB, Landskrona, Sweden

Decreasing the postprandial glucose response is potentially of *major importance to public health* when low-*glycemic* index or high-fibre content foods are associated with a decreased risk of diabetes. We investigated in overweight subjects the effect of adding β -glucan (BG) to a polenta (Pol) meal on postprandial metabolism and glucose bioavailability using stable isotopes. In this single-blind, randomized, crossover trial, 12 subjects ate two meals containing Pol with (Pol + BG) or without (Pol) 5 g BG. Concentrations of glucose, insulin, C-peptide, nonesterified fatty acids, triacylglycerol, total and exogenous glucose kinetics were assessed for 6 h postprandially. The kinetics of total and exogenous glucose importantly differed between the meals, but not the quantity of total and exogenous glucose appearing in plasma. Less total and exogenous glucose appeared during the first 120 min after the Pol + BG meal; *the phenomenon was then reversed* (both $p < 0.0001$). After 120 min, glucose and insulin responses declined, but *remained* higher after the Pol + BG meal ($p < 0.05$) in parallel to the inhibition of lipolysis. The endogenous glucose production (EGP) was significantly more inhibited after the Pol + BG meal. The addition of BG slowed the appearance of glucose *in plasma*, resulting in longer-lasting insulin secretion which exerted a prolonged inhibition of EGP and lipolysis.

Keywords: β -Glucan / Glucose stable isotope / Insulin / Postprandial kinetics / Starch

Received: January 18, 2008; revised: April 21, 2008; accepted: May 20, 2008

1 Introduction

At present in many Western countries, the recommended dietary fibre intake is far from being reached, despite the recommendations of several health organisations to *increase consumption* of foods with a high fibre content or with a low *glycemic* index. The beneficial effect of dietary

fibre on postprandial metabolic parameters and *glucose* control has been the object of many studies over recent decades [1–7]. Several studies have shown that the risk of type 2 diabetes mellitus is inversely correlated with the intake of diets with a low *glycemic* index or with a high fibre content [8, 9]. It is also well known that a weight gain or an overweight is also risk factor for developing type 2 diabetes [10, 11]. For these reasons, it seemed important to study the mechanisms of action and the effect of β -glucan (BG) fibre when added to a meal in this particular population of overweight individuals.

BGs are fibres which are highly viscous, soluble, fermentable polysaccharides, notably found in barley and oats. BG fibre has been shown to decrease postprandial glucose

Correspondence: Professor Martine Laville, Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes (CRNH-RA), Bâtiment 1, Hôpital Edouard Herriot, 5 Place d'Arsonval, 69437 Lyon cedex 03, France
E-mail: martine.laville@chu-lyon.fr
Fax: +33-4-72-11-95-39

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; AUC, area under the curve; BG, β -glucan; EGP, endogenous glucose production; NEFA, nonesterified fatty acid; Pol, polenta; Ra, rate of glucose appearance; RaE, rate of appearance of Exogenous glucose; RaT, rate of appearance of Total glucose; Rd, rate of glucose disposal; TG, triacylglycerol

* Additional correspondence author: Julie-Anne Nazare; E-mail: julie-anne.nazare@recherche.univ-lyon1.fr

** Joint first authors

and insulin responses during oral glucose tests, or when added to food products (pasta, bread, soup, cereals, *etc.*) in healthy or diabetic subjects [1–3, 12–15]. Soluble fibres like BGs are presumed to increase the viscosity of the meal bolus, and thus to reduce the rate of nutrient absorption and flatten postprandial *glucose and insulin responses* [13, 14, 16]. BG enrichment of food products has been increasingly studied because it provides more BG *per serving* with minimal loss of palatability and in a smaller ingested volume. But it is difficult to study objectively the effects of BG on glucose metabolism where the fibre is added to a complex meal, as opposed to an intake of glucose only. Moreover, other intervention studies have not revealed the same lowering effect of BG on the glucose response or have even shown some discrepancies between glucose and insulin responses [4, 5].

Thus, it is meaningful to accurately *define* the kinetics of the response to the ingestion of BG in terms of total, exogenous and endogenous glucose, in parallel to measuring plasma glucose and insulin. We could then better understand the coordinated kinetics *underlying final glucose* response. In our study, the use of stable isotopes with double glucose labelling allowed to measure the rate of appearance of exogenous glucose (RaE) (^{13}C glucose) and total glucose (RaT) and the rate of glucose disposal (Rd) (D-[6,6- $^2\text{H}_2$]glucose) in plasma and to estimate endogenous glucose production (EGP) [17]. Thus, *the glucose coming* from a naturally ^{13}C -enriched product like corn polenta (Pol) can be traced in plasma and the influence of BG on the kinetics of total, exogenous and endogenous glucose can be clarified.

The aim of the study was to compare the bioavailability of the carbohydrates from a meal containing Pol (80 g equiv. glucose), with or without added BG fibre, in overweight subjects. The effects of the two meals on postprandial metabolites and hormone concentrations, on glucose kinetics and on total carbohydrate and lipid oxidation were studied by *analysing* postprandial responses for 6 h after meal ingestion.

2 Materials and methods

2.1 Subjects

Twelve healthy overweight men, aged 34 ± 2 years, weighing 84.0 ± 1.7 kg, with a BMI of 27.5 ± 0.3 kg/m², and fasting *glucose concentration* of 5.07 ± 0.09 mmol/L, fasting insulinaemia of 49.03 ± 7.10 pmol/L and fasting total cholesterol concentration of 4.86 ± 0.22 mmol/L (mean \pm SEM) were included in the study. We performed a power calculation using as the study of primary endpoint; the difference in *the cumulated quantity* of exogenous glucose appearing postprandially in plasma during 360 min between the two meals. Assuming a difference of 10 g between the two meals (SD = 12) for this parameter, 12 subjects *per group* provided >80% power to detect a significant difference in the total

quantity of exogenous glucose appearing in the plasma between the two groups at the $p < 0.05$ level [18].

Inclusion tests were conducted where each subject gave a blood sample, was measured for height and weighed and was interviewed regarding general health. Eating habits, especially usual fibre consumption, were also explored by a trained dietician through a dietary survey. The inclusion criteria for the study were men aged 20–60 years, BMI 25–30 kg/m², normal fasting *glucose concentration* <7 mmol/L and HbA1c <6%, stable body weight over the previous 3 months, normal results for preinclusion biological tests, sedentary or moderate physical activity.

All subjects received written and oral information about the protocol and signed an informed consent form. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon (CCPPRB Lyon A) and accorded with both the French ‘Huriet-Serusclet’ law and the Second Declaration of Helsinki.

2.2 Experimental meals

The fibre-rich preparation was an oat concentrate containing predominately the soluble fraction of BG and was manufactured according to Oatly's method [19], Oatly AB (Landskrona, Sweden). Corn Pol was chosen, as corn is naturally enriched in stable isotope ^{13}C . The corn Pol (Tipiak, Pont Saint-Martin, France) was boiled for 5 min. The subjects consumed one of the meals containing either Pol alone or Pol with BG (5 g) and both were taken with 250 mL of water. The meals were similar in calorie and carbohydrate load (72 g) and both represented 80 g equiv. of glucose (adjusted on the Pol + BG meal: 75 g from Pol and 5 g from BG). The composition of the meals is given in Table 1.

D-[6,6- $^2\text{H}_2$] glucose (99 mol% excess) was obtained from Eurisotop (Gif-sur-Yvette, France); chemical and isotopic purity was confirmed by GC selected-ion-monitoring MS analysis. It was dissolved in sterile, isotonic saline (0.9% NaCl) and passed through a 0.22 μm Millipore filter (Millipore, Bedford, MA, USA) before infusion. The preparation was pyrogen-free. The actual concentration of deuterated glucose in the infusate was determined at the end of each test.

2.3 Experimental design

This was a randomised, crossover, single-blind study. A week before the tests, the subjects were asked to avoid nutrients known to be enriched in ^{13}C (corn starch and oil, cane sugar, tropical fruits and tinned foods). Twenty-four hours before the study, they were asked to limit their physical activity, not to drink alcohol-containing beverages but to eat a normal evening meal.

Each subject came to the centre on two separate days, with a wash-out of 2 wk in between, and had either the Pol meal alone (Pol) or the Pol meal with BG (Pol + BG),

selected at random. They arrived at the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, at Hôpital Edouard Herriot at 6.30 a.m. on the exploration day following a 12 h overnight fast.

The body weight was measured with a calibrated scale (SECA®). Intravenous catheters were inserted into deep forearm veins of both arms; for tracer infusion on one side, and blood sampling on the other. A primed-continuous infusion of D-[6,6-²H₂] glucose (0.06 mg · kg⁻¹ · min⁻¹) was started 120 min before the meal and was maintained during the next 360 min in order to determine the RaT. The priming dose was 80 times the infusion rate over 1 min. At time 0, subjects ate the test meal in 15 min. Blood samples were taken at the basal state and sequentially each 15 min until 60 min, then each 30 min until 360 min following ingestion of the meal. Blood samples were used to determine glucose, triacylglycerol (TG), nonesterified fatty acids (NEFA), insulin and C-peptide concentrations and D-[6,6-²H₂] and ¹³C glucose isotopic enrichments. Blood was collected in tubes maintained at 4°C and immediately centrifuged at 4500 rpm for 10 min at 4°C. Plasma was then stored at -20°C until assay. O₂ consumption and CO₂ production were monitored by indirect calorimetry (Datex Instrument, Helsinki, Finland) before (from T-60 to T0) and after test meal ingestion (from T15 to T360) in order to calculate total carbohydrate and lipid oxidation. Subjects remained in the supine position for the duration of the study except when required to void bladder (urinary nitrogen measured twice: before the meal (T0) and at the end of the experiment (T360)).

2.4 Analytical procedures

2.4.1 Metabolites and hormones

Glucose, TG and NEFA concentrations were measured with an enzymatic colorimetric method on a Cary 50 Bio[®] spectrophotometer (Varian[®]) using a BioMérieux[®] Glucose RTU kit (Marcy l'Etoile, France), a BioMérieux TG PAP 150 kit (Marcy l'Etoile) and a WakoChemicals[®] NEFA-C kit (Neuss, Germany), respectively. Plasma insulin and C-peptide concentrations were determined by RIA kit (respectively Medgenix Diagnostics, Rungis, France and Immunotech, Marseille, France).

2.4.2 Indirect calorimetry

Results of respiratory exchange were integrated before and after meal ingestion and the substrate oxidation was calculated from VO₂, VCO₂ and urinary nitrogen excretion determined by chemiluminescence [20].

Total carbohydrate and lipid oxidation were calculated according to the equation developed by Ferrannini [21].

2.4.3 Isotope analysis

Plasma glucose isotopic enrichments were determined on neutral fractions of de-proteinised plasma samples, parti-

Table 1. Macronutrient composition of the two test meals: Pol alone and (Pol + BG)

Test meals	Pol alone (g)	(Pol + BG) (g)
Serving size	92.7	109.1
Glucose equivalent	80	80
Proteins	6.3	12.3
Lipids	0.9	4.1
Total CHO	72.3	72.3
of which fibre (without BG)	1	2.4
BG	0	5
	kcal	kcal
Energy	323	375

ally purified over sequential anion–cation exchange resins, as previously described [17]. Plasma [6,6-²H₂] glucose was measured by organic GC-MS (Hewlett Packard 5971, Evry, France) on acetyl-bis-butane-boronyl glucose derivative, using an electron impact mode and a selective monitoring of *m/z* 297 and 299 [22]. Plasma ¹³C glucose enrichment was measured by GC-combustion-isotope ratio MS (GC-C-IRMS, Isoprime, GV Instruments, Lyon, France) after derivatisation to pentacetyl glucose as previously described [23].

The ¹³C enrichment of ingested meals (Pol and Pol + BG) was determined after enzymatic hydrolysis using the Thivend method [24] and the glucose obtained was purified by sequential anion–cation exchange chromatography before derivatisation as glucose pentacetate and analysed as previously described [25]. The ¹³C enrichment of the derivatised glucose molecule was -34.89 ‰ (1.07288 atom%¹³C) and -35.51 ‰ (1.07219 atom %¹³C) for Pol meal and Pol + BG meal, respectively.

2.4.4 Calculations

The Rates of glucose appearance (Ra) and Rd were calculated from plasma [6,6-²H₂] glucose enrichment RaT and from plasma ¹³C glucose enrichment (RaE), using Steele's equation for nonsteady state [26, 27] as previously described [17] and the correction of Livesey *et al.* [28]. EGP was calculated as RaT - RaE.

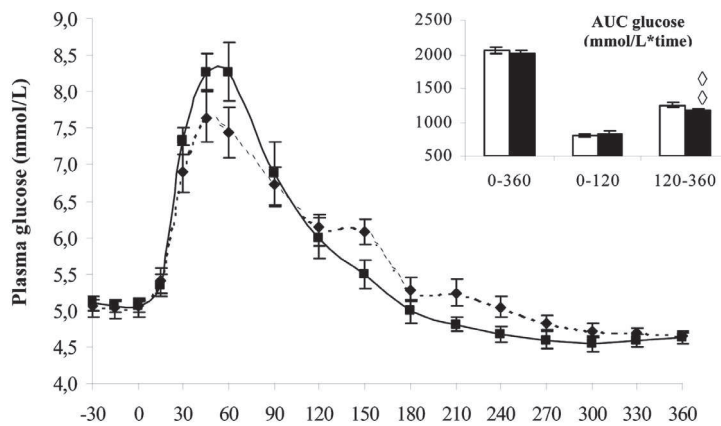
Postprandial data were also assessed as areas under the curve (AUCs) calculated using the trapezoidal method and integrated throughout the experiment (0–360 min) and between 0 and 120 and 120 and 360 min.

2.5 Statistical analysis

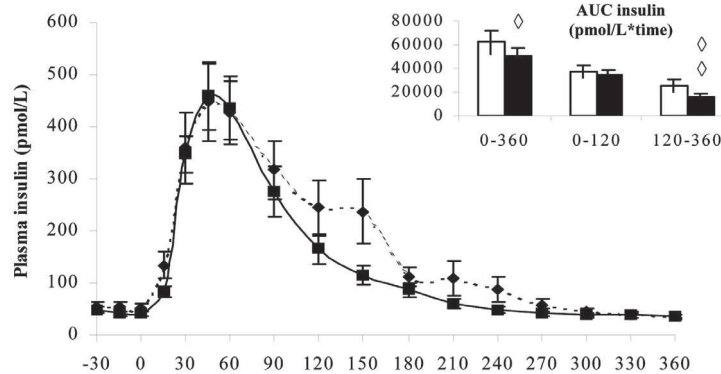
The results at specific time points and AUCs were expressed as mean ± SEM.

A two-way repeated measures analysis of variance (ANOVA; meal × time) was used to determine significant main effects and interactions. When there was a significant meal × time interaction, the difference between meals at specific time points was tested using Tukey's posthoc test.

A



B



C

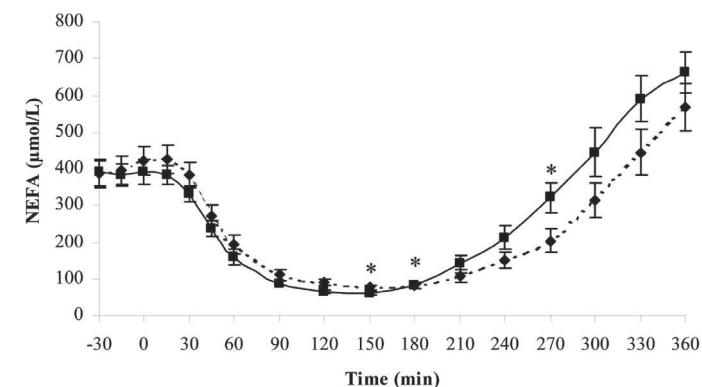


Figure 1. Plasma glucose (A), insulin (B) and NEFA (C) concentration and 0–360 min, 0–120 min, 120–360 min plasma glucose (A), insulin (B) and NEFA (C) response (AUC) after subjects ingested either the test meal with Pol alone (—, ■) or the test meal with Pol + BG (- - - ♦). Values are means \pm SEM, $n = 12$. A two-way ANOVA showed a significant diet \times time interaction for the glucose and NEFA responses ($p < 0.05$). At specific time points, significant difference between the 2 test meals is indicated by * ($p < 0.05$, Tukey's test). A paired t -test showed a significant meal effect on 120–360 min plasma glucose AUC ($\diamond\diamond p < 0.01$) and on 120–360 min. ($\diamond\diamond p < 0.01$) and 0–360 min plasma insulin AUC ($\diamond p < 0.05$).

Significant differences between AUCs were assessed using a paired-sample t -test for normally distributed data.

Statistical significance was inferred at $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using Statview v 5.0 (SAS Institute, Cary, NC) software.

3 Results

3.1 Metabolites, insulin and C-peptide responses

The response kinetics to the meals and AUC of glucose and insulin are shown in Fig. 1.

There was a significant meal \times time interaction for glucose response ($p = 0.02$), which was expressed by a difference in *glucose* kinetics induced by the two meals over the 360 min after ingestion. For the first 120 min, the *glycemic* curve for the Pol + BG meal tended to be lower. But there was no significant difference in glycemic peak or in the AUC of glucose over this period. For the 120–360 min period, the positions of the curves were reversed; the *glycemic* curve following the Pol + BG meal was significantly higher. As a consequence, the area under the blood glucose curve for this 120–360 min period was also significantly different, as can be seen in Fig. 1.

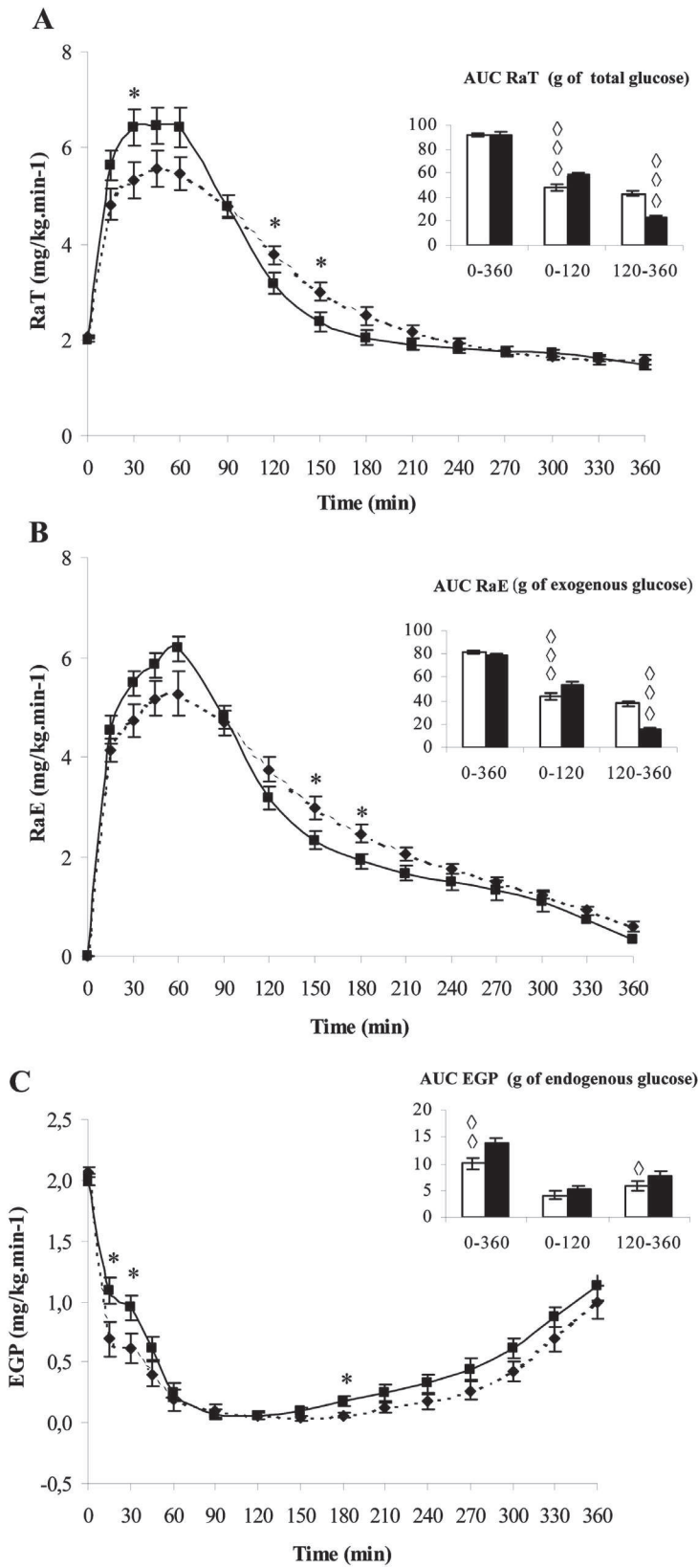


Figure 2. Rate of appearance and 360, 0–120, and 120–360 min plasma appearance (AUC) of (RaT) (A), (RaE) (B) and of (EGP) (C) after subjects ingested either the test meal with Pol alone (—, ■) or the test meal with Pol + BG (- - -, ◆). Values are means ± SEM, *n* = 12. A two-way ANOVA showed a significant diet × time interaction (*p* < 0.05) for the RaT, the RaE and the EGP. At specific time points, significant difference between the two test meals is indicated by * (*p* < 0.05, Tukey's test). A paired *t*-test showed a significant meal effect on 0–120 min and 120–360 min RaT and RaE AUCs and on 0–360 min and 120–360 min EGP AUC (◇ *p* < 0.05, ◇◇ *p* < 0.01 and ◇◇◇ *p* < 0.0001).

Considering plasma insulin response, there was neither a meal \times time interaction nor a significant difference in the peak of secretion. After 90 min, insulin secretion for the Pol + BG meal was prolonged and higher, with a secondary peak at 150 min. In parallel, the AUC of insulin was significantly higher with the Pol + BG meal between 120 and 360 min ($p < 0.01$). These findings were confirmed by the C-peptide kinetics which paralleled those of the insulin, and also showed a secondary peak at 150 min (data not shown).

Plasma NEFA responses are shown in Fig. 1. There was a significant meal \times time interaction for the NEFA concentrations ($p = 0.004$). First, NEFA release was less inhibited after the Pol meal. And the return of NEFA release started earlier with the Pol meal, with significant higher NEFA concentrations (T150, T180 and T270). TG concentrations were not altered by the meals (data not shown).

Thus, the Pol + BG meal tended to decrease and *prolong glycaemic* response compared to the Pol meal. This was associated with *extended* insulin secretion with a secondary peak at 150 min and *prolonged* inhibition of lipolysis.

3.2 Glucose turnover: Plasma rate of appearance of total and exogenous glucose, of glucose disposal and endogenous glucose production

Figure 2 shows the changes in RaT, RaE and EGP during the 360 min after the meals. The kinetics of RaT were parallel to those of the *glycemia*, with a significant meal \times time interaction ($p < 0.05$). The increase of RaT was lower after the Pol + BG meal, then the subsequent decrease was slower, so that RaT returned later to the baseline value. The Pol + BG curve was above the Pol curve after 90 min. After integration of the area under the RaT curve, we estimated the quantity of total glucose appearing in plasma over the 0–360, 0–120 and 120–360 min following ingestion. There was no difference in the quantity of total glucose appearing over the 360 min. But, according to the kinetics, less total glucose appeared with the Pol + BG meal during the first 120 min (48.11 ± 2.44 g vs. 58.86 ± 2.40 g, $p < 0.0001$) and between 120 and 360 min, the inverse phenomenon occurred, with more total glucose appearing with the Pol + BG diet (43.05 ± 1.51 g vs. 23.42 ± 1.52 g, $p < 0.0001$).

Over the 360 min, there was a significant meal \times time interaction for the RaE ($p = 0.02$), but no difference in the total quantity of exogenous glucose appearing in plasma (81.59 ± 1.75 g for the Pol + BG meal vs. 78.55 ± 2.12 g for the Pol meal). The RaE kinetics were altered by the kind of meal ingested, as seen in Fig. 2B. The RaE was lower after the Pol + BG meal until 90 min. But after that, RaE remained significantly higher with the Pol + BG meal than it did with the Pol meal; significantly so between 150 and 180 min. Consequently, it manifested itself by a difference in the overall integrated exogenous glucose appearing in the blood when the two periods were considered separately. For

the 0–120 min period, 53.98 ± 2.02 g of exogenous glucose appeared with the Pol meal, versus 44.10 ± 2.88 g for the Pol + BG meal ($p < 0.0001$). For the 120–360 min period, 15.70 ± 1.09 g of exogenous glucose appeared with the Pol meal, versus 37.49 ± 2.37 g for the Pol + BG meal ($p < 0.0001$). For the Rd, there was no significant difference between meals whether considering Rd kinetics or AUC (data not shown).

EGP is calculated by subtracting the RaE from the RaT at each timepoint. As a consequence, EGP appeared to be significantly more inhibited after the Pol + BG for the whole postprandial period, with a meal \times time interaction ($p = 0.05$). Over the 360 min period, the quantity of EGP was 10.02 ± 1.10 g for the Pol + BG meal, whereas it was 13.76 ± 1.15 g for the Pol meal ($p < 0.01$).

3.3 Substrate oxidation

The total quantity of carbohydrate oxidised over the 360 min period was not statistically different between the two meals (61.06 ± 3.02 g for the Pol + BG meal vs. 57.06 ± 4.22 g for the Pol meal, data not shown). Moreover, no significant difference between meals was found concerning total lipid oxidation (data not shown).

4 Discussion

The added BG delayed and slowed down the absorption of glucose from Pol, as may be seen from glucose, insulin, total and exogenous glucose kinetics. This delay did not reduce the absorption of Pol. In fact the main finding was that the kinetics of total and exogenous glucose differed significantly between the meals, but not the final quantities of glucose appearing in plasma. Less total and exogenous glucose appeared during the first 120 min after the Pol + BG meal, then the phenomenon was reversed ($p < 0.0001$). The use of glucose stable isotopes allowed precise measurement of the total, exogenous and endogenous glucose kinetics so as to better understand the mechanisms of the observed effects. The quantity of exogenous glucose appearing in plasma during the first 120 min was 18% lower with BG. But the analysis of data from plasma glucose stable isotope enrichment for the whole test showed that there were no differences neither in the overall quantity of exogenous glucose nor in total glucose over 360 min (for Pol + BG vs. Pol: RaT = 91.15 ± 1.35 g vs. 91.61 ± 2.40 g, RaE = 81.59 ± 1.75 g vs. 78.55 ± 2.12 g). In the study of Battilana *et al.* [16], the addition of ^{13}C -labelled glucose to the meal containing BG showed that the appearance of exogenous ^{13}C -glucose in plasma was also 21% lower than without BG, and was associated with a modest decrease in insulin secretion. The authors concluded on delayed and also probably reduced glucose absorption with BG. In the study conducted by Schenk, the kinetics of appearance (Ra) and dis-

appearance (Rd) of glucose were studied, following the ingestion of breakfast cereals with different glycemic index. The authors showed that the different glycemic indices of breakfast cereals could be partially related to the different rates of glucose removal from blood by tissue and not to the difference in glucose appearance in plasma. This is some discrepancy with the present results, as no significant difference was found for the Rd in our study, although the Ra of exogenous and total glucose was significantly altered by BG, in parallel to the glycemic response. It should be noted however, that the two studies differed in meals composition (fibre, carbohydrate and available carbohydrate) and that in Schenk's study, the kinetics of exogenous glucose were not measured. Thus, further isotope analysis will be necessary to understand the glucose kinetics of other products (differing in glycemic index and/or fibre content and/or available carbohydrate composition), since their effect on postprandial glucose response may be related to different underlying effects on glucose kinetics.

In our study, we can quote that the final quantity of exogenous glucose which appeared in plasma was 10% higher than the quantity of exogenous glucose ingested with the test meals. This may be explained by the recycling of ^{13}C -labelled carbon during the 6 h test leading to overestimate the glucose appearing in plasma. As the same experimental conditions were used for the two meals, it did not alter our qualitative analysis but should be taken into account for further quantitative analysis.

As for the insulin and glucose kinetics, it seemed sensible to split the responses to the meals in two phases with different metabolic profiles: from 0 to 120 min and from 120 to 360 min after ingestion. During the first 120 min, there was a trend for the *glycemic* response to be lowered by BG, but this was not significant. Over the same time period, even if the insulinaemic response was not significantly altered in intensity by fibre ingestion, the decrease in insulin secretion was delayed with the BG. In parallel to a lower appearance of exogenous glucose (44.10 ± 2.88 g for the Pol + BG meal vs. 53.98 ± 2.02 g for the Pol meal), the appearance of total glucose in plasma was also reduced (48.11 ± 2.44 g for the Pol + BG meal vs. 58.86 ± 2.40 g for the Pol meal) ($p < 0.0001$). This confirms our finding of a trend to a lower *glycemia* before 120 min. After 120 min, metabolic responses were different. With BG, the *glucose* response returned to baseline more slowly. In the same way, insulin secretion was sustained with a second peak at 150 min, which was probably parallel to the exogenous glucose appearing to a greater *extent* in plasma after 120 min after BG ingestion and indicating a prolonged glucose absorption.

Several studies in healthy and diabetic subjects have shown that there are decreased postprandial glucose and insulin responses following the ingestion of BG, linked to a decreased nutrient absorption rate [1–4, 12–14]. The present work did not exactly induce the same effect *in term of parallel glucose and insulin responses*; such discordan-

ces between glucose and insulin responses have also been found in other studies. For example, in the study of Juntunen *et al.* [15], the ingestion of 50 g rye bread containing 5.4 g of BG (3% total meal weight) reduced the insulinaemic response without a parallel reduction in the *glucose* response. In the study carried out by Bourdon *et al.* [4], the subjects ingested either enriched barley pasta (containing 5 g of BG) or normal pasta. No effect on 0–120 min *glycemia* was noticed, even though insulinaemia was reduced, in parallel with a decreased absorption rate. But, interestingly, the breakdown of the responses into two phases, before and after 120 min, like in our study, showed differences in glucose response kinetics, indicating the importance of studying metabolic responses for more than 2 h. Different studies underlined that the acute postprandial glucose and insulin responses (within 120–180 min. from meals) are among the main determinants of the risk of cardiovascular disease in healthy and diabetic subjects [29–32]. This study also demonstrated the difficulty of focusing and concluding only on the effect of BG fibre, when part of a meal's matrix. Concerning the amount of BG ingested, it has been demonstrated that the reduced glucose response was achieved by increasing the quantity of fibre (in most cases ranging from 5 to 10 g), linearly to the viscosity [2, 3, 33, 34]. Bjorklund *et al.* [12] showed a significant reduction in postprandial *glucose* response after the consumption of a beverage enriched with 5 g of oat BG for 8 wk, but not with barley BG. These reported discrepancies between intervention studies could be due to differences in study design, such as the duration of the dietary intervention, the quantity and form of BG, the chosen food matrix, the presence of others nutrients, the test population, whether healthy, overweight or diabetic. Several authors have shown that proteins in combination with carbohydrate intake could induce an increase in insulin secretion and also differed in their ability to stimulate insulin secretion, according to their nature, structure or structure form in food matrix [35–37]. The BG preparation added to Pol contained proteins (diets were matched for carbohydrate content), which could have had a synergistic effect on insulin secretion and could therefore have modulated or compensated the effect on the sole BG on insulinaemia. Moreover, our population was normo-glycemic and since *glycemia* is a well-regulated parameter, adding 5 g of BG to a single test-meal may not have been sufficient to affect significantly the 6 h area under the glucose curve. But the reduction of the 0–120 min rate of glucose absorption could be of interest, because of the link between acute postprandial glucose response and cardiovascular risks [29–32]. The overweight subjects also showed heterogeneity in postprandial insulin secretion in response to the meals, and this could have blurred the effects of BG on the insulin response, more particularly during the first postprandial phase (higher SD).

There was no difference in total lipid or carbohydrate oxidation between the two meals, suggesting that 5 g of BG

could not alter the overall nutrient oxidation pattern over the 360 min. This was in accordance with the literature concerning BG [16] or *glycemic* index and *nutrient* oxidation. In a review compiling several studies about *glycemic* index and fuel partitioning, Diaz *et al.* [38] showed that other short-, mid- or long-term interventions failed to modify fuel partitioning. Similarly, in a study of obese women, ingestion of either a low or high *glycemic* index breakfast induced a 1.8-fold change in the AUC of serum insulin which was not enough to influence fuel oxidation over 5 h [39].

Consequent to the delay in glucose absorption which prolonged the *glycemic* and insulinemic responses to the BG containing meal, the longer insulinaemic response had a prolonged inhibitory effect on the EGP throughout the test ($p < 0.001$). After BG ingestion, EGP was lower throughout the 360 min of the test. This is an interesting finding, since the reduction of the postprandial EGP could decrease the postprandial *glycemic* response in our overweight population at higher risk of developing type 2 diabetes mellitus. A longer inhibition of lipolysis was observed after the Pol + BG meal, as the plasma NEFA concentration, which is very sensitive to insulin variations [40], tended to have a delayed return to baseline values after the Pol + BG meal ($p < 0.05$).

In conclusion, over the 360 min study, the quantity of total and exogenous glucose which appeared in the plasma was the same; but the kinetics of their appearance differed, as well as *glycemic* response. The addition of BG delayed exogenous glucose absorption, resulting in a longer-lasting insulin secretion that exerted a prolonged inhibition of EGP and lipolysis. This study confirmed the importance of a longer follow-up of metabolic parameters to *capture relevant* long-lasting metabolic changes; in fact the 0–120 min AUC for insulin secretion was not significantly different between the meals. The use of glucose stable isotopes was of prime importance in detecting the delayed, but not reduced, BG-induced absorption underlying the postprandial glucose and insulin response. These mechanisms may modulate the postprandial metabolic responses to a BG-enriched meal and should be taken into account in the context of BG enriched product development.

We thank all the staff of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes and more particularly Christine Maitrepierre, Jocelyne Peyrat, Corinne Louche-Pélissier and Monique Sothier for their excellent technical assistance in subject recruitment, sample collection and analysis, and dietary surveys, and all the subjects for taking part in this trial. We also thank Mickael R. Skilton and Lynn Richardson for their helpful assistance in translation/revision of the manuscript. Beta-glucan fiber was produced by Oatly AB, Landskrona, Sweden. This study was part of the European project, contract No. QLK1-CT-2000-00535, supported and funded by the European Union.

Conflict of interest statement: The beta-glucan fiber was produced by Oatly AB, Landskrona, Sweden. A. O. Triantafyllou is employee of Oatly AB.

5 References

- [1] Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Leeds, A. R., Gassull, M. A., *et al.*, Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: Importance of viscosity, *Br. Med. J.* 1978, *1*, 1392–1394.
- [2] Tappy, L., Gugolz, E., Wursch, P., Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects, *Diabetes Care* 1996, *19*, 831–834.
- [3] Liljeberg, H. G., Granfeldt, Y. E., Bjorck, I. M., Products based on a high fiber barley genotype, but not on common barley or oats, lower postprandial glucose and insulin responses in healthy humans, *J. Nutr.* 1996, *126*, 458–466.
- [4] Bourdon, I., Yokoyama, W., Davis, P., Hudson, C., *et al.*, Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan, *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, *69*, 55–63.
- [5] Juntunen, K. S., Niskanen, L. K., Liukkonen, K. H., Poutanen, K. S., *et al.*, Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects, *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, *75*, 254–262.
- [6] Kabir, M., Oppert, J. M., Vidal, H., Bruzzo, F., *et al.*, Four-week low-glycemic index breakfast with a modest amount of soluble fibers in type 2 diabetic men, *Metabolism* 2002, *51*, 819–826.
- [7] Behall, K. M., Scholfield, D. J., Hallfrisch, J. G., Liljeberg-Elmstahl, H. G., Consumption of both resistant starch and beta-glucan improves postprandial plasma glucose and insulin in women, *Diabetes Care* 2006, *29*, 976–981.
- [8] Salmeron, J., Ascherio, A., Rimm, E. B., Colditz, G. A., *et al.*, Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men, *Diabetes Care* 1997, *20*, 545–550.
- [9] Schulze, M. B., Liu, S., Rimm, E. B., Manson, J. E., *et al.*, Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women, *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, *80*, 348–356.
- [10] Colditz, G. A., Willett, W. C., Rotnitzky, A., Manson, J. E., Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women, *Ann. Int. Med.* 1995, *122*, 481–486.
- [11] Wannamethee, S. G., Shaper, A. G., Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes, *Diabetes Care* 1999, *22*, 1266–1272.
- [12] Björklund, M., van Rees, A., Mensink, R. P., Onning, G., Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with beta-glucans from oats or barley: A randomised dose-controlled trial, *Eur. J. Clin. Nutr.* 2005, *59*, 1272–1281.
- [13] Wood, P. J., Braaten, J. T., Scott, F. W., Riedel, K. D., *et al.*, Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load, *Br. J. Nutr.* 1994, *72*, 731–743.
- [14] Braaten, J. T., Wood, P. J., Scott, F. W., Riedel, K. D., *et al.*, Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load, *Am. J. Clin. Nutr.* 1991, *53*, 1425–1430.
- [15] Casiraghi, M. C., Garsetti, M., Testolin, G., Brighenti, F., Post-prandial responses to cereal products enriched with barley beta-glucan, *J. Am. Coll. Nutr.* 2006, *25*, 313–320.

- [16] Battilana, P., Ornstein, K., Minehira, K., Schwarz, J. M., *et al.*, Mechanisms of action of beta-glucan in postprandial glucose metabolism in healthy men, *Eur. J. Clin. Nutr.* 2001, 55, 327–333.
- [17] Tissot, S., Normand, S., Guilluy, R., Pachiaudi, C., *et al.*, Use of a new gas chromatograph isotope ratio mass spectrometer to trace exogenous ¹³C labelled glucose at a very low level of enrichment in man, *Diabetologia* 1990, 33, 449–456.
- [18] Normand, S., Khalfallah, Y., Louche-Pelissier, C., Pachiaudi, C., *et al.*, Influence of dietary fat on postprandial glucose metabolism (exogenous and endogenous) using intrinsically (¹³)C-enriched durum wheat, *Br. J. Nutr.* 2001, 86, 3–11.
- [19] Triantafyllou, A. O. Method for isolation of a beta-glucan composition from oats and products made therefrom. Oatly AB, US 6592914, Sweden, 2000.
- [20] Arock, M., Desnault, H., Viars, P., Guillosson, J. J., Determination of total nitrogen in biological milieu by chemoluminescence: A comparison with the reference method, *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 1985, 43, 872–874.
- [21] Ferrannini, E., The theoretical bases of indirect calorimetry: A review, *Metabolism* 1988, 37, 287–301.
- [22] Bier, D. M., Leake, R. D., Haymond, M. W., Arnold, K. J., *et al.*, Measurement of “true” glucose production rates in infancy and childhood with 6,6-dideuteroglucose, *Diabetes* 1977, 26, 1016–1023.
- [23] Dejongh, D. C., Hanessian, S., Characterization of Amino Sugars by Mass Spectrometry, *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 3744–3751.
- [24] Thivend, P., Mercier, C., Guilbot, A., in: Whisler, R. L. (Ed.), *Methods in Carbohydrate Chemistry – Determination of Starch with Glucoamylase*, Academic Press, New York, London 1972, pp. 100–105.
- [25] Normand, S., Pachiaudi, C., Khalfallah, Y., Guilluy, R., *et al.*, ¹³C appearance in plasma glucose and breath CO₂ during feeding with naturally ¹³C-enriched starchy food in normal humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 1992, 55, 430–435.
- [26] Debodo, R. C., Steele, R., Altszuler, N., Dunn, A., *et al.*, On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism; studies with C¹⁴ glucose, *Recent Prog. Horm. Res.* 1963, 19, 445–488.
- [27] Proietto, J., Rohner-Jeanrenaud, F., Ionescu, E., Terrettaz, J., *et al.*, Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model, *Am. J. Physiol.* 1987, 252, E77–E84.
- [28] Livesey, G., Wilson, P. D., Dainty, J. R., Brown, J. C., *et al.*, Simultaneous time-varying systemic appearance of oral and hepatic glucose in adults monitored with stable isotopes, *Am. J. Physiol.* 1998, 275, E717–E728.
- [29] Heine, R. J., Balkau, B., Ceriello, A., Del Prato, S., *et al.*, What does postprandial hyperglycaemia mean?, *Diabet. Med.* 2004, 21, 208–213.
- [30] Ceriello, A., Davidson, J., Hanefeld, M., Leiter, L., *et al.*, Postprandial hyperglycaemia and cardiovascular complications of diabetes: An update, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2006, 16, 453–456.
- [31] Karabulut, A., Iltumur, K., Toprak, N., Tuzcu, A. K., *et al.*, Insulin response to oral glucose loading and coronary artery disease in nondiabetics, *Int. Heart. J.* 2005, 46, 761–770.
- [32] Baltali, M., Korkmaz, M. E., Kiziltan, H. T., Muderris, I. H., *et al.*, Association between postprandial hyperinsulinemia and coronary artery disease among nondiabetic women: A case control study, *Int. J. Cardiol.* 2003, 88, 215–221.
- [33] Wood, P. J., Beer, M. U., Butler, G., Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat beta-glucan in determining effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load, *Br. J. Nutr.* 2000, 84, 19–23.
- [34] Wursch, P., Pi-Sunyer, F. X., The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan, *Diabetes Care* 1997, 20, 1774–1780.
- [35] Nuttall, F. Q., Gannon, M. C., Plasma glucose and insulin response to macronutrients in nondiabetic and NIDDM subjects, *Diabetes Care* 1991, 14, 824–838.
- [36] van Loon, L. J., Saris, W. H., Verhagen, H., Wagenmakers, A. J., Plasma insulin responses after ingestion of different amino acid or protein mixtures with carbohydrate, *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72, 96–105.
- [37] Nilsson, M., Stenberg, M., Frid, A. H., Holst, J. J., *et al.*, Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: The role of plasma amino acids and incretins, *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80, 1246–1253.
- [38] Diaz, E. O., Galgani, J. E., Aguirre, C. A., Glycaemic index effects on fuel partitioning in humans, *Obes. Rev.* 2006, 7, 219–226.
- [39] Diaz, E. O., Galgani, J. E., Aguirre, C. A., Atwater, I. J., *et al.*, Effect of glycemic index on whole-body substrate oxidation in obese women, *Int. J. Obes. (Lond.)* 2005, 29, 108–114.
- [40] Laville, M., Riou, J., Beylot, M., Measurement of free fatty acids by an enzymatic method (in French), *J. Méd. Lyon* 1983, 249, 67–70.

Discussion

Dans cet article, nous avons mis en évidence que l'addition de β -glucanes à un repas composé de polente de maïs ralentit l'absorption du glucose provenant de l'amidon de la polente et son apparition dans le plasma. Ce délai d'absorption n'a pas réduit pour autant la quantité totale de glucose exogène absorbé au cours des heures suivant l'ingestion du repas test. En effet, grâce à l'utilisation des isotopes stables du glucose, nous avons montré qu'il y avait une différence significative entre les cinétiques d'apparition du glucose exogène et total entre les repas, mais que les quantités globales de glucose total et exogène apparues au cours des 6 heures de test dans le plasma n'étaient pas différentes.

Au cours des deux premières heures de test (0-120 minutes), le taux d'apparition du glucose exogène dans le plasma était significativement diminuée avec les fibres ($44,10 \pm 2,88$ g pour le repas Pol+BG versus $53,98 \pm 2,02$ g pour le repas Pol, $p < 0,0001$), de même que l'apparition du glucose total ($48,11 \pm 2,44$ g pour le repas Pol+BG versus $58,86 \pm 2,40$ g pour le repas Pol, $p < 0,0001$). En effet, nous avons observé une baisse de 18% de la quantité de glucose exogène provenant de la polenta apparu dans le plasma pendant cette période. Pour autant, le pic insulinique n'était pas différent entre les repas mais nous avons observé un retard du déclin de la concentration en insuline après le pic postprandial. Pour expliquer ce phénomène de dissociation entre les réponses glycémique et insulinique, nous avons proposé deux hypothèses. Tout d'abord, la préparation de β -glucanes contenait des protéines (+6 g au total pour le repas) et cet apport concomitant de protéines a pu avoir un effet insulino-tropique (Floyd et al. 1966a; Nilsson et al. 2007) qui a contre-balancé les effets des fibres. Il a été montré en effet dans plusieurs études que l'addition de protéines à un repas de glucides atténue la réponse glycémique par rapport à l'ingestion des glucides seuls, mais en association avec une réponse insulinique accrue (van Loon et al. 2000; Schenk et al. 2003; Gannon et al. 1988). D'autre part, les sujets en surpoids qui ont pris part à cette étude ont montré une grande hétérogénéité inter-sujets pour leurs réponses insuliniques, plus particulièrement pendant la première phase postprandiale. Ces sujets en surpoids présentant peut-être déjà pour certains une insulino-résistance. Nous avons d'ailleurs observé une déviation standard plus importante à cette période, qui a réduit les différences entre les repas sur un tel effectif. En parallèle, nous avons observé une tendance vers une diminution de la réponse glycémique postprandiale pendant cette première phase, mais non significative. Comme nous l'avons suggéré, il est possible que l'ajout de 5g de β -glucanes en une seule prise ne soit pas suffisant pour diminuer le pic

glycémique chez des sujets normo-glycémiques.

Après ces deux premières heures (120-360 minutes), le taux d'apparition du glucose exogène dans le plasma est resté plus élevé après les fibres, tout comme le taux d'apparition du glucose total, reflet d'une absorption plus prolongée du glucose. Ceci a été confirmé par l'apparition d'un second pic glycémique et insulinémique de moindre intensité après le repas Pol+BG, et un retour aux valeurs basales retardé.

L'absorption prolongée du glucose en phase postprandiale avec les fibres β -glucanes, a induit des réponses glycémiques et insuliniques elles-mêmes prolongées. Par conséquent, l'effet inhibiteur de l'insuline sur la production endogène glucose est plus prononcé tout au long du test ($p < 0,0001$). De la même manière, nous observons une inhibition de la lipolyse plus longue suite à l'ingestion de fibres, avec un retour de la concentration en AGNE à la valeur basale ici encore retardé après l'ingestion des β -glucanes ($p < 0,05$).

Dans cette étude, nous avons observé, une apparition de glucose exogène plus importante que la dose administrée qui pourrait être expliquée par un phénomène de recyclage des atomes de carbones ^{13}C au cours des 6 heures de test (4 à 10 % selon la dose de glucose exogène administrée, d'après la littérature (Jeukendrup et al. 1999)).

En conclusion, l'addition de β -glucanes à un repas glucidique a ralenti l'apparition du glucose dans le plasma, prolongeant la réponse glycémique et insulinique. Cette dernière a exercé une action inhibitrice prolongée sur la lipolyse et la production endogène de glucose. Il est particulièrement intéressant dans cette étude d'observer que l'effet des β -glucanes s'inverse à partir de T120 minutes. Ceci met en évidence la nécessité de suivre les cinétiques postprandiales au-delà des 120 minutes requises pour le calcul de l'IG afin d'appréhender plus largement les effets métaboliques des aliments en phase postprandiale.

Etude Eurostarch

Effets métaboliques à court et long terme de la modulation de la biodisponibilité du glucose en phase postprandiale

Beneficial effects of a 5-week low-glycemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects

Alexis de Rougemont, Sylvie Normand, Julie-Anne Nazare, Michael R. Skilton, Monique Sothier, Sophie Vinoy and Martine Laville (2007), British Journal of Nutrition; 6: 1298-1299.

(Article en annexe)

Effect of postprandial modulation of glucose availability: short and long-term analysis

Julie-Anne Nazare, Alexis de Rougemont, Sylvie Normand, Valérie Sauvinet, Monique Sothier, Sophie Vinoy, Michel Désage and Martine Laville (2009), British Journal of Nutrition, en cours d'impression (*accepté le 11 nov 09*)

Résumé

Les produits à IG bas ont été proposés comme outils potentiels pour diminuer les excursions glycémiques postprandiales et ainsi limiter le développement du diabète de type 2. Nous avons modulé la biodisponibilité en glucose de produits céréaliers, et par conséquent leur IG afin d'étudier les effets métaboliques des produits à IG bas (LGI) sur le contrôle de la glycémie en aigu, au cours de la journée, et à plus long terme après un régime à base de produits IG bas (LGI) de 5 semaines chez des sujets en condition de vie normale. Dans cette étude randomisée, en parallèle, 2 groupes de 19 sujets en surpoids (hommes et femmes), ont suivi pendant 5 semaines un régime *ad libitum* au cours duquel les produits amylicés de leur alimentation étaient remplacés par soit des produits amylicés à IG bas (groupe LGI) soit des produits amylicés à IG haut (HGI). Au cours de deux journées métaboliques (Jour 1 et Jour 36), les sujets ingéraient un petit-déjeuner test marqué au ^{13}C , (LGI ou HGI selon leur groupe). Les cinétiques de glucose total et exogène, les concentrations en glucose et insuline, le profil lipidique et l'oxydation des nutriments étaient ensuite mesurés suite à l'ingestion du petit-déjeuner test et d'un déjeuner standardisé 4 heures et demi après. Au Jour 1, l'ingestion du petit-déjeuner LGI a réduit de manière significative l'apparition du glucose exogène et total et la réponse glycémique postprandiales par rapport au petit-déjeuner HGI ($p < 0,05$). Les réponses glycémiques post-petit-déjeuner et post-déjeuner étaient positivement corrélées ($r = 0,79$, $p < 0,0001$). Après 5 semaines d'intervention nutritionnelle, la réponse glycémique au petit-déjeuner était toujours plus faible dans le groupe LGI mais la différence entre les groupes n'était plus significative, même si pour autant l'apparition de glucose exogène était toujours significativement plus faible dans le groupe LGI (effet groupe $p < 0,05$). Les réponses glycémiques postprandiales au petit-déjeuner et au déjeuner étaient toujours corrélées ($r = 0,47$, $p = 0,004$). En conclusion, la modulation de la biodisponibilité du glucose au petit-déjeuner diminue l'apparition du glucose exogène dans le plasma et améliore le contrôle glycémique au repas suivant. Cependant, le maintien ou l'amélioration à long terme des effets métaboliques observés en aigu restent à confirmer.

Introduction

L'importance des excursions glycémiques postprandiales est associée à un risque accru de développer des anomalies métaboliques, maladies cardiovasculaires et un diabète de type 2 (Coutinho et al. 1999). Dans ce contexte, un intérêt croissant s'est développé pour le concept d'index glycémique de par le bénéfice potentiel de la consommation de produits à index glycémique faible sur le profil glycémique postprandial et par conséquent sur le risque cardiovasculaire, d'obésité ou de diabète de type 2 (Salmerón et al. 1997; Salmerón et al. 1997; Morris & Zemel 1999; Ludwig 2000; Augustin et al. 2002 ; Jenkins et al. 2002c; Liu & Willett 2002; Opperman et al. 2004). Le concept d'index glycémique a été introduit il y a une vingtaine d'années par Jenkins afin de pouvoir quantifier le pouvoir hyperglycémiant d'un aliment donné et de pouvoir guider les échanges alimentaires parmi les catégories d'aliments équivalents en glucides (Jenkins et al. 1981). Un meilleur contrôle glycémique avec des régimes à IG bas a été démontré, plus particulièrement chez des sujets à faible tolérance glycémique (Livesey et al. 2008b) c'est-à-dire les personnes diabétiques de type 2 et intolérantes au glucose. C'est dans ce sens que s'est mis en place le projet européen EUROSTARARCH dont fait partie cette étude. Il s'agit cette fois d'un programme de recherche dont le but était d'approfondir les connaissances en termes de digestion et d'utilisation par l'organisme de différents produits amylacés, et de déterminer leurs effets sur la réponse glycémique et les autres paramètres métaboliques. Les résultats de ces expérimentations permettront de mieux appréhender les mécanismes physiologiques liés à l'IG et pourront être utilisés comme base scientifique pour le développement potentiel de produits alimentaires.

L'IG est influencé par la structure même du produit concerné et le procédé de fabrication et la cuisson jouent un rôle non négligeable dans l'IG final (Wolever et al. 1985; Björck et al. 2000). Le métabolisme des glucides alimentaires dépend de plusieurs facteurs dont notamment la nature du monosaccharide absorbé, la quantité de glucides ingérée, leur vitesse d'absorption et leur fermentation colique (Wolever et al. 2003).

Selon plusieurs auteurs (Jenkins et al. 1982; Schenk et al. 2003), la réduction de la réponse glycémique engendrée par les produits à IG bas serait notamment due à un ralentissement du débit d'apparition du glucose dans la circulation systémique. Une classification a été proposée pour caractériser justement les différentes fractions de

glucides en les séparant en glucides lentement digestibles (GLD, en anglais SAG, slowly available glucose) et en glucides rapidement digestibles (GRD, en anglais RAG, rapidly available glucose), ce qui reflète la vitesse à laquelle le glucose de ces produits devient disponible pour l'absorption dans l'intestin grêle (Englyst et al. 1999). De plus, l'index glycémique d'un produit donné est corrélé au pourcentage de glucides lentement digestibles contenus dans ce produit, mesuré in vitro (Englyst et al. 1999). De tels produits à haute teneur en glucides lentement digestibles pourraient être considérés comme des outils pour réguler les profils glycémique et insulémique au cours de la journée.

Plusieurs études ont montré que les repas à IG bas étaient capables d'améliorer la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline, en aigu en phase postprandiale et au repas suivant (on parle alors d'« effet second repas ») (Wolever et al. 1988a; Liljeberg et al. 1999; Liljeberg & Björck 2000; Brighenti et al. 2006; Nilsson et al. 2006). Cependant, les données actuelles ne permettent pas de conclure quant au maintien de cet effet sur la réponse glycémique à long terme, comme souligné précédemment (Miles 2008). Certaines études ont montré des améliorations des niveaux d'HbA1c suite à l'ingestion de régimes à IG bas (Brand-Miller et al. 2003), quand d'autres études n'ont pas mis en évidence un tel effet chez des sujets diabétiques de type 2 bien équilibrés en termes de contrôle glycémique (Wolever et al. 2008).

D'autre part, des études à plus long terme ont mis en évidence une amélioration du profil lipidique suite à un régime à IG bas, caractérisée par une diminution de la cholestérolémie totale, du LDL-cholestérol et des triglycérides, conjointement à une augmentation du HDL-cholestérol (Jenkins et al. 1985; Frost et al. 1999; Ford & Liu 2001; Sloth et al. 2004). Une étude plus récente a montré que ces résultats s'accompagnaient d'une diminution de la masse grasse au profit de la masse maigre sans modification pondérale (Bouché et al. 2002). De plus, la qualité des glucides ingérés pourrait jouer un rôle sur la prise alimentaire et la satiété (Roberts 2003). Chez des adolescents obèses, l'ingestion d'un petit-déjeuner à IG bas est associée à une moindre prise alimentaire au déjeuner (Ludwig et al. 1999a; Ball et al. 2003). Ceci suggère que l'IG des aliments pourrait jouer un rôle dans la régulation de la faim. L'allongement de la satiété associé à un régime IG bas pourrait être utile pour réduire la prise calorique et aider au contrôle du poids corporel à long terme (Ball et al. 2003).

Les buts de cette étude étaient:

- d'évaluer les effets métaboliques de régimes à IG bas versus haut sur la composition corporelle et certains paramètres sanguins dont le profil lipidique chez des individus en surpoids

- d'évaluer à court et long terme les effets de régimes à IG bas versus haut sur le métabolisme et les cinétiques du glucose, le profil insulinaire et l'oxydation des nutriments

Peu d'études ont été, jusqu'à présent, mises en place pour étudier les effets de l'IG ou de la teneur en glucides lentement digestibles sur ces paramètres métaboliques chez des sujets en surpoids, malgré un risque relatif accru de résistance à l'insuline et de diabète de type 2 dans cette population (McMillan-Price et al. 2006).

L'influence des régimes à IG bas (LGI high SAG) et IG haut (HGI high RAG) et les adaptations métaboliques à une telle intervention de 5 semaines ont été étudiées au travers des variations des paramètres anthropométriques (poids, indice de masse corporelle, masse grasse), des bilans glycémiques et lipidiques et du métabolisme oxydatif à jeun. De plus, une analyse en aigu des cinétiques de glucose, des profils insulinaires, lipidiques et d'oxydation des nutriments en réponse au petit déjeuner et au déjeuner suivant (potentiel « effet second-repas ») a été réalisée à court et long terme.

Pour ce faire, grâce à des procédés de fabrication spécifiques, nous avons utilisé des produits amylicés à teneur élevée en glucides rapidement digestibles versus à teneur élevée en glucides lentement digestibles qui présentaient exactement la même composition nutritionnelle si ce n'est leur IG. Le suivi des cinétiques du glucose (total, exogène, endogène) a été réalisé à l'aide d'isotopes stables du glucose suite à l'ingestion de petits-déjeuners tests LGI (riche en glucides lentement digestibles) ou HGI (riche en glucides rapidement digestibles), marqué au ^{13}C .

Effect of postprandial modulation of glucose availability: short- and long-term analysis

Julie-Anne Nazare^{1,2,3,4,5,6}, Alexis de Rougemont^{1,2,3,4,5,6}, Sylvie Normand^{1,2,3,4,5,6}, Valérie Sauvinet^{1,2,3,4,5,6}, Monique Sothier^{1,2,3,4,5,6}, Sophie Vinoy⁷, Michel Désage^{1,2,3,4,5,6} and Martine Laville^{1,2,3,4,5,6*}

¹Centre de Recherche en Nutrition Humaine de Rhône-Alpes (CRNHRA), Pavillon médical, Centre hospitalier Lyon Sud, 165 chemin du grand Revoynet, 69495 Pierre-Bénite, France

²Université de Lyon, 69622 Lyon, France

³INSA de Lyon, RMND, 69621 Villeurbanne, France

⁴INSERM U870, 69921 Oullins, France

⁵INRA U1235, 69921 Oullins, France

⁶Hospices Civils de Lyon, 69437 Lyon, France

⁷Danone Vitapole, Paris, France

(Received 10 June 2009 – Revised 27 October 2009 – Accepted 11 November 2009)

Low glycaemic index (LGI) foods have been proposed as potential means to decrease postprandial glucose excursions and thus to improve diabetes management. We modulated glucose availability of cereal products and thus their glycaemic index to study the metabolic effect of LGI foods on daylong glucose control acutely and in the long term following a 5-week GI intervention diet in free-living subjects. In this randomised, parallel trial, two groups of nineteen overweight subjects followed an *ad libitum* 5-week intervention diet in which usual starch was replaced by either LGI or high GI (HGI) starch. During the exploration days (days 1 and 36), subjects ate their assigned ¹³C-labelled test breakfast (LGI or HGI), and total and exogenous glucose kinetics (using stable isotopes), postprandial concentrations of glucose, insulin, lipid profile and nutrient oxidation were assessed after the test breakfast and a standardised lunch. At day 1, LGI breakfast significantly decreased post-breakfast glycaemic response with a parallel decrease in exogenous and total glucose appearance ($P < 0.05$). Post-lunch and post-breakfast glycaemic responses were positively correlated ($r 0.79$, $P < 0.0001$). Following the 5-week diet, difference between the groups in terms of glucose kinetics and response was maintained (no significant interaction group \times time) but tended to decrease over time for the post-breakfast glycaemic response. Post-lunch and post-breakfast glycaemic responses remained positively correlated ($r 0.47$, $P = 0.004$). Modulation of postprandial glucose availability at breakfast decreased plasma exogenous glucose appearance and improved glucose control at the subsequent lunch. After 5 weeks, these effects were maintained in healthy subjects but remained to be confirmed in the longer term.

Glucose availability: Glucose kinetics: Stable isotope analysis: Second-meal effect: Short- and long-term analysis

Rising postprandial glucose excursions are associated with greater risk of developing metabolic disorders, CVD and diabetes⁽¹⁾. There has been a growing interest over recent years in the relation between the consumption of low glycaemic index (GI) or reduced glycaemic load (GL) products and their effect on the management of postprandial glycaemic profile as they have been proposed as potential tools to improve management of diabetes mellitus or to decrease risks of heart disease^(2–4). The intake of low GI (LGI) diets is associated with improved glycaemic control, more particularly among subjects with the poorest glycaemic control⁽⁵⁾. Several studies have shown that low GI diets could enhance glucose tolerance with a corresponding improvement in insulin sensitivity. More particularly, low GI meals have

been shown to improve acute postprandial glucose tolerance and reduce insulin response, also at a subsequent meal (the ‘second-meal effect’)^(6–10). But, evidence is missing as to conclude that the acute reduction in blood glucose response elicited by low GI foods may persist in the long term, as already reported⁽¹¹⁾. Some studies showed differences in HbA1c after LGI intervention⁽¹²⁾, whereas some other studies did not show any effect on HbA1c in type 2 diabetic subjects with optimal glycaemic control⁽¹³⁾. According to several authors^(14,15), the lower glycaemic response effect produced by low GI products could be due to a slower rate of appearance of glucose in the systemic circulation. A classification has been proposed to characterise the different carbohydrate fractions by separating them into rapidly available glucose

Abbreviations: AUC, area under the curve; EGP, endogenous glucose production; GI, glycaemic index; GL, glycaemic load; HGI, high GI; iAUC, incremental AUC; LGI, low GI; SAG, slowly available glucose; RaE, rate of appearance of exogenous glucose; RaT, total rate of glucose appearance.

* **Corresponding author:** Professor Martine Laville, fax +33 4 78 86 44 62, email martine.laville@chu-lyon.fr

and slowly available glucose (SAG), reflecting the rate at which glucose becomes available for absorption in the small intestine⁽¹⁶⁾. A high correlation has been shown between the GI of a product and the percentage of rapidly available glucose in this product measured *in vitro*⁽¹⁶⁾. Such SAG-rich products could be considered as lente carbohydrates and thus are candidate tools to regulate daylong glycaemic and insulinaemic profile. The modulation of postprandial metabolic profile and more particularly of insulin response could consequently modify insulin action on fuel partitioning, glucose uptake and carbohydrate and lipid oxidations. Few intervention studies have been undertaken on the effects of dietary GI, GL or SAG on these metabolic parameters in healthy overweight adults, despite the higher relative risk of insulin resistance and type 2 diabetes in this population⁽¹⁷⁾.

Therefore, we investigated the short- and long-term (5 weeks) effects of an *ad libitum* low GI (LGI) or HGI diet on glucose metabolism and nutrient utilisation in overweight subjects. We determined the metabolic effect of GI and its evolution over time (weeks) by thorough analysis of glucose kinetics, insulin and lipid profiles and nutrient oxidation in response to breakfast and subsequent lunch. Preliminary results of the effect of these diets on anthropometric parameters and lipid profile have been previously published showing that the 5-week LGI diet improved weight control and cholesterol profile⁽¹⁸⁾. Specific cereal processing techniques have been set up in order to produce slowly and rapidly available starchy products with exactly the same nutrient composition but differing in GI only. The follow-up of postprandial glucose kinetics (exogenous and endogenous) was performed using glucose-stable isotope analysis, after the ingestion of a ¹³C-labelled LGI (SAG-rich) or HGI (rapidly available glucose-rich) breakfast before and after the GI dietary intervention. The metabolic adaptation to a 5-week GI dietary intervention was studied through the postprandial metabolic response to a HGI or a LGI breakfast and to a subsequent lunch in order to detect a potential 'second-meal' effect.

Subjects and methods

Experimental design

This was a parallel, randomised group trial. The two groups of non-diabetic overweight subjects followed an *ad libitum* 5-week dietary intervention in which they were asked to replace all starches in their routine diet by either LGI or HGI starchy foods. Both types of diets were randomly allocated according to the CONSORT guidelines.

One week before the two test days (day 1 and day 36), the subjects were asked to avoid nutrients known to be enriched in ¹³C (maize starch and oil, cane sugar, tropical fruits and canned foods). Twenty-four hours before D1 and D36, the subjects were asked to limit physical activity, drink no alcohol-containing beverage and eat a normal evening meal.

Subjects came to the Centre de Recherche en Nutrition Humaine de Rhône-Alpes, at Hôpital Edouard Herriot on the test day at 06.30 hours following a 12-h overnight fast.

On D1 and D36, body weight was measured with a graded scale (SECA[®], Valenciennes, France). Intravenous cannulas were inserted into deep forearm veins in both arms for tracer infusion on one side and blood sampling on the other side. A primed, continuous infusion of D-[6,6-²H₂] glucose (0.0570 mg/kg per min) was started 120 min before breakfast was eaten and was maintained for the next 270 min to determine the total rate of glucose appearance (RaT). The priming dose was eighty times the infusion rate over 1 min. At time 0, subjects ate the test breakfast (either LGI or HGI breakfast, composition in Table 1) in 15 min. Blood samples were taken at baseline and sequentially every 15 min until 90 min, then every 30 min until 270 min following ingestion of the meal and were used to determine glucose, TAG, NEFA, insulin and C-peptide concentrations and deuterium and ¹³C glucose isotopic enrichments. At 270 min, a standardised HGI lunch was served to the subjects and ingested in 30 min (composition in Table 1). Blood samples were taken sequentially every 30 min until 480 min and were used to

Table 1. Macronutrient composition of the high glycaemic index (HGI) breakfast, of the low glycaemic index (LGI) breakfast and of the standardised high glycaemic lunch

	Serving size (g)	Proteins (g)	Lipids (g)	Total CHO (g)	SAG (%)	RAG (%)	Fibre	Energy (kJ)
LGI breakfast (GI 47)								
Half-skimmed milk	180	5.8	2.9	8.1				1468.58
Biscuits (GI 45)	80	7.0	9.8	58.6	26	40	1.6	343.09
Total for LGI breakfast	260	12.8	12.7	66.7	26	40	1.6	1807.00
Energy distribution		12%	26%	62%				
HGI breakfast (GI 66)								
Half-skimmed milk	180	5.8	2.9	8.1				1456.03
Flakes (GI 70)	80	6.9	9.5	58.6	<1	66	1.6	343.09
Total for HGI breakfast	260	12.7	12.4	66.7	<1	66	1.6	1794.94
Energy distribution		12%	26%	62%				
Standardised HGI lunch (GI 71)								
Minced beef (15 % fat)	150	27.0	22.0	27.4				
Instantaneous mashed potatoes	200	4.4	3.4	30.3				
White bread	55	4.4	0.6	0.0				
Camembert cheese	30	6.4	6.6	22.5				
Whole milk yoghurt with fruits	125	4.4	3.4					
Total for HGI lunch	560	46.6	36.0	80.2	–	–	5	3476.90
Energy distribution		22%	39%	39%				

CHO, carbohydrate; SAG, slowly available glucose; RAG, rapidly available glucose.

determine glucose, TAG, NEFA and insulin and C-peptide concentrations. Blood was collected in tubes maintained at 4°C and immediately centrifuged. Plasma was then stored at –20°C until assay.

V_{O2} and CO₂ production were monitored by indirect calorimetry (Datex Instruments, Helsinki, Finland) after breakfast ingestion (T15–T270 min) and after lunch ingestion (T300–T480 min) in order to calculate total carbohydrate, lipid oxidation and respiratory exchange rate.

Subjects remained in the supine position for the duration of the study except when required to void urine (urinary nitrogen measured three times: at baseline (T120 min); post breakfast (T270 min); post lunch (T480 min)).

Subjects

As described previously, a power calculation based on change in body weight (1 kg, SD = 1 kg) as primary study endpoint was done; seventeen subjects per group provided >80% power to detect a significant difference in weight loss between groups at the $P < 0.05$ level⁽¹⁸⁾. The pre-inclusion tests were performed on sixty-eight volunteers who responded to the recruitment campaign. Each subject underwent a screening inclusion test including measurements of body weight, height, blood pressure, waist and hip circumference; an interview regarding general health; blood sample collections (blood differential count, glycaemia, transaminases, γ GT, total cholesterol, HDL and LDL cholesterols and TAG). Eating habits were also explored through dietary surveys, including consultation and advice by a trained dietitian, and dietary records. The inclusion criteria for the study were men and women aged 20–60 years, BMI 25–30 kg/m², stable body weight over the previous 3 months, normal results for pre-inclusion biological tests, sedentary or moderate physical activity and routine breakfast representing 10–25% of the daily energetic intake. Thirty-eight healthy overweight subjects (nineteen men and nineteen pre-menopausal women), aged 38.3 (SD 9.2) years, weighing 77.3 (SD 9.1) kg and with a BMI 27.3 (SD 1.5) kg/m² (means and standard deviations) were recruited for the study.

The subjects were randomised into two groups as follows: nineteen subjects in the LGI diet group (nine men and ten women) and nineteen subjects in the HGI diet group (eleven men and eight women).

All the subjects received written and oral information about the protocol and signed an informed consent document. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon (CCPPRB Lyon A) and was in accordance with both the French 'Huriet-Serusclet' law and the Second Declaration of Helsinki. The characteristics of the thirty-eight subjects are presented in Table 2. There were no significant differences between groups at baseline.

Experimental diets

The detailed composition of the 5-week dietary intervention, the test foods and breakfasts was described previously⁽¹⁸⁾. Briefly, foods were considered as having a low GI whenever GI < 50% and a high GI whenever GI > 70%. In the present study, the subjects received individual guidance by a trained clinical dietitian in order to implement their intervention

Table 2. Baseline characteristics of the subjects of the low glycaemic index (LGI) diet group and of the high glycaemic index (HGI) diet group (Mean values with their standard errors)

	LGI diet group (n 19)		HGI diet group (n 19)	
	Mean	SEM	Mean	SEM
Age (years)	36.3	2	40.4	2.2
Weight (kg)	77.2	2.2	77.3	2.1
BMI (kg/m ²)	27.5	0.3	27.2	0.3
Fasting glucose (mmol/l)	5.15	0.15	5.31	0.08
Fasting insulin (pmol/l)	67	9.5	61.4	5.7
C-peptide (nmol/l)	0.67	0.06	0.67	0.05
Total cholesterol (mmol/l)	5.21	0.23	5.2	0.18

diet, and compliance to diets was strictly controlled by dietary questionnaires. Part of the starchy products was supplied by the CRNHRA and Danone Vitapole[®]. The food provided consisted in cereal breakfast products (extruded cereals for the HGI group and plain biscuits for the LGI group), and in black bread (Harris[®] pumpnickel) for the LGI group. According to their diet group, a detailed list was given to the subjects indicating the starches they were allowed to eat and the prohibited ones (Table 3). Subjects were asked to continue eating the same amount of starch as usual. They were also asked not to modify their dietary habits regarding the amount of food eaten, food patterns and the amount of fruits and vegetables eaten. The subjects were instructed to measure and record the exact amount eaten each day by using a 5-day food diary during the pre-inclusion period (D7–D11) and on weeks 3 (D16–D20) and 5 (D31–D35) of the study. Ingested quantities were evaluated by the dietitian using a SU.VI.MAX[®] dietary photographic support. The macronutrient content of the test foods and 5-day dietary records was calculated using a computerised food database that included specific product–ingredient lists and recipes for test foods (latest release of GENI[®] software by MICRO 6[®] using CIQUAL[®] table). For the mean GI calculation of all meals from food diaries, GI data are based on the international table of GI and GL values⁽¹⁹⁾.

Table 3. Allowed starch lists according to diet group

Allowed starch	
LGI group	HGI group
Breakfast biscuits (GI 45)	Breakfast extruded cereals (GI 70)
Black bread (Harris pumpnickel, GI 50)	White bread, whole meal bread (GI 95)
Spaghetti al dente (GI 32)	Mashed potatoes (GI 75), peeled, baked or 35-minute boiled potatoes (GI 70)
Other pastas (GI 48)	French fries, chips (GI 75)
Durum wheat precooked in pouch (Ebly, GI 40)	Gnocchi (GI 70)
Bulgur (GI 48)	Flour contents, pizzas, quiche, etc. (GI 70–80)
Semolina (GI 55)	Prohibited starch (both groups)

Rice (GI unpredictable). Starches belonging to the other diet group list.

Breakfasts

The breakfast products provided during the intervention trial consisted of plain biscuits (LGI) or flakes (HGI). The LGI breakfast consisted of standard biscuits (80 g), semi-skimmed milk (180 ml) and non-energetic hot beverage (max 300 ml). The HGI breakfast consisted of flakes (80 g), semi-skimmed milk (180 ml) and non-energetic hot beverage (max 300 ml). The composition of the two test meals is given in Table 1. Biscuits and extruded cereals contained different quantities of SAG, 26 and 0.4 %, respectively. The two breakfasts represented about 20 % of daily energy intake. They were iso-energetic (about 1803.30 kJ) and contained the same amount of proteins (12 %), lipids (26 %) and carbohydrates (62 %). The only variable parameter was the GI (45 and 70 % for LGI and HGI breakfasts, respectively). Both cereal products were processed by Danone (Danone Vitapole, Paris, France).

Both cereal products (biscuits and flakes) ingested on the test days (D1 and D36) were exactly the same composition as those ingested during the trial, but they were uniformly labelled with stable isotope ^{13}C . For this purpose, they were manufactured with starch coming from a preparation of durum wheat semolina cultivated in a $^{13}\text{CO}_2$ -enriched atmosphere, mixed with naturally rich ^{13}C sugarcane. ^{13}C enrichment of starch was adjusted to ^{13}C sugarcane enrichment.

D-[6,6- $^2\text{H}_2$] glucose (99 mol% excess) was obtained from Eurisotop (Gif-sur-Yvette, France); chemical and isotopic purity was confirmed by selected-ion-monitoring GC MS analysis. It was dissolved in sterile isotonic saline (0.9 % NaCl) and passed through a 0.22- μm millipore filter (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) before infusion. The preparation was pyrogen free. The concentration of deuterated glucose in the infusate was determined at the end of each test.

Analytical procedures

Metabolites and hormones. Blood samples were collected in tubes containing lithium heparinate and then centrifuged at 3645 g and 4°C for 10 min, and the plasma was stored at -20°C until analysis. Glucose, TAG and NEFA concentrations were measured with an enzymatic colorimetric method on a Cary 50 Bio[®] spectrophotometer (Varian[®]) using a BioMérieux[®] Glucose RTU kit (Marcy l'Etoile, France), a BioMérieux[®] TG PAP 150 kit and a Wako chemicals[®] NEFA-C kit (Neuss, Germany), respectively. Plasma insulin and C-peptide concentrations were determined by RIA kit (INS-IRMA Biosource, Nivelles, Belgium; Immunotech, Marseille, France, respectively).

Indirect calorimetry. Respiratory exchange measurements were integrated after breakfast ingestion and the non-protein RQ was calculated from VO_2 , VCO_2 and measured urinary nitrogen excretion determined by chemiluminescence⁽²⁰⁾.

Total carbohydrate and lipid oxidation were calculated according to the equation developed by Ferrannini⁽²¹⁾.

Isotope analysis. Plasma glucose isotopic enrichments were determined on neutral fractions of deproteinised plasma samples partially purified over sequential anion-cation exchange resins, as previously described⁽²²⁾. Plasma [6,6- $^2\text{H}_2$]glucose was measured by organic GC-MS (Hewlett Packard 5971, Evry, France) on acetyl-bis-butane-boronyl glucose derivative using an electron impact mode and a selective

monitoring of m/z 297 and 299⁽²³⁾. Plasma ^{13}C glucose enrichment was measured by GC-combustion-isotope ratio MS (GC-C-IRMS, Isoprime, GV instruments, Lyon, France) after derivatisation to pentacetyl glucose, as previously described⁽²⁴⁾.

The ^{13}C enrichment of ingested starch (biscuits and cereals) was determined after enzymatic hydrolysis using the Thivend method⁽²⁵⁾, and the glucose obtained was purified by sequential anion-cation exchange chromatography before derivatisation as glucose pentacetate and analysed as previously described⁽²⁶⁾. The ^{13}C enrichment of the derivatised glucose molecule was -34.59 (SD 0.65) $\delta^{13}\text{C}$ ‰ (1.07320 (SD 0.00071) atom % ^{13}C) and -35.72 (SD 0.42) $\delta^{13}\text{C}$ ‰ (1.07196 (SD 0.00046) atom % ^{13}C) for biscuits and cereals, respectively.

Calculations

Mean GI of all meals taken in a day was determined using the following equation:

$$\text{GI}_{\text{mean}} = \sum ((C_{\text{food}}/C_{\text{total}}) \times \text{GI}_{\text{food}}),$$

where C_{food} is the amount of carbohydrate (in grams) contained in each ingested food and C_{total} the total amount of total carbohydrate (in grams) ingested during the day. Mean GI targets were defined as <50 for the LGI group and >70 for the HGI group. GL were also determined by multiplying the total amount of total carbohydrate (in grams) by the mean GI for each food and adjusted for energy intake:

$$\text{GL} = (\text{GI}_{\text{mean}} \times C_{\text{total}}).$$

The rates of glucose appearance were calculated from plasma [6,6- $^2\text{H}_2$]glucose enrichment (RaT; T for total glucose) and from plasma ^{13}C glucose enrichment (RaE; E for exogenous glucose) using Steele's equation for non-steady state^(27,28) as previously described⁽²²⁾. Endogenous glucose production (EGP) was calculated as RaT-RaE.

Postprandial data were also assessed as area under the curve (AUC) calculated using the trapezoidal method and integrated throughout the experiment (0-480 min) and between 0-270 min and 270-480 min. Incremental AUC (iAUC) were calculated using GraphPad Prism (version 4.03; GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Glucose peaks were calculated as the maximum glucose concentration following breakfast or lunch ingestion for each subject (consequently it does not correspond to the same time point for each subject).

Statistical analysis

The results are expressed as means with their standard errors. For each parameter, normality was checked before testing. Statistical significance was inferred at $P < 0.05$. Differences between groups at baseline and at day 1 were assessed using the Student's unpaired t test.

For postprandial responses, a two-way ANOVA, followed by Bonferroni adjustment was used to compare postprandial peaks and nadir values, as well as AUC, between the groups from day 1 to day 36 and evaluate the main effect of group (LGI compared with HGI), the main effect of the time

(before dietary intervention compared with after dietary intervention) and the group \times time interaction.

When there was a significant group \times time interaction, the difference within group between day 1 and day 36 was analysed using the Student's paired *t* test. When GI, GL and change in body weight over the 5 weeks were used as covariates, same statistical results were obtained for the comparison of metabolic parameters from day 1 to day 36 between the groups. Correlation between variables was studied using the Z-test.

All statistical analyses were performed using Statview v 5.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) software.

Results

Dietary survey data, mean glycaemic index and mean glycaemic load

These results have been described previously⁽¹⁸⁾. In summary, the diets were well accepted and tolerated by the subjects, and the dietary surveys indicated good compliance of subjects in both the groups. In comparison with the HGI group, the LGI group presented a trend to increased satiety before lunch, but this was not significant.

While there were no significant differences in GI and GL between groups at baseline, after a 5-week nutritional intervention, the LGI group reached the defined LGI target (46.5 (SEM 0.3) for <50) with a significant decrease in mean GI ($P=0.001$). In the HGI group, the defined HGI

target (66.3 (SEM 0.6) for >70) was not reached; GI remained high and was not significantly different to baseline value. The difference in mean GI between the LGI and HGI groups was significant after 5 weeks of diet ($P=0.0001$). There was no significant variation in energy intake, protein, fat and carbohydrate distributions in both the groups during the trial or between groups at baseline and after 5 weeks of nutritional intervention. There was no difference in dietary fibre intake between groups at baseline. However, the dietary surveys did show a significant increase in dietary fibre intake in the LGI group ($P=0.0001$), while no significant difference was noticed in the HGI group. No subject was reported as underreporting when using Goldberg's cut-off limits⁽²⁹⁾.

Comparison of the acute postprandial responses to a low glycaemic index or high glycaemic index breakfast and a standardised lunch

Metabolites and hormones. There was a significant difference in glycaemic response between the HGI and the LGI groups over the 270 min after ingestion of the two kinds of breakfasts (Fig. 1(a)). In fact, glucose peaks and glycaemia curves between T30 and T180 min were significantly lower in the LGI group than in the HGI group (glucose peak: 7.06 (SEM 0.29) mmol/l in the LGI group v. 7.85 (SEM 0.17) mmol/l in the HGI group). Consequently, the glucose AUC and the glucose iAUC following LGI breakfast were significantly lower (8 and 33 %, respectively, $P=0.01$).

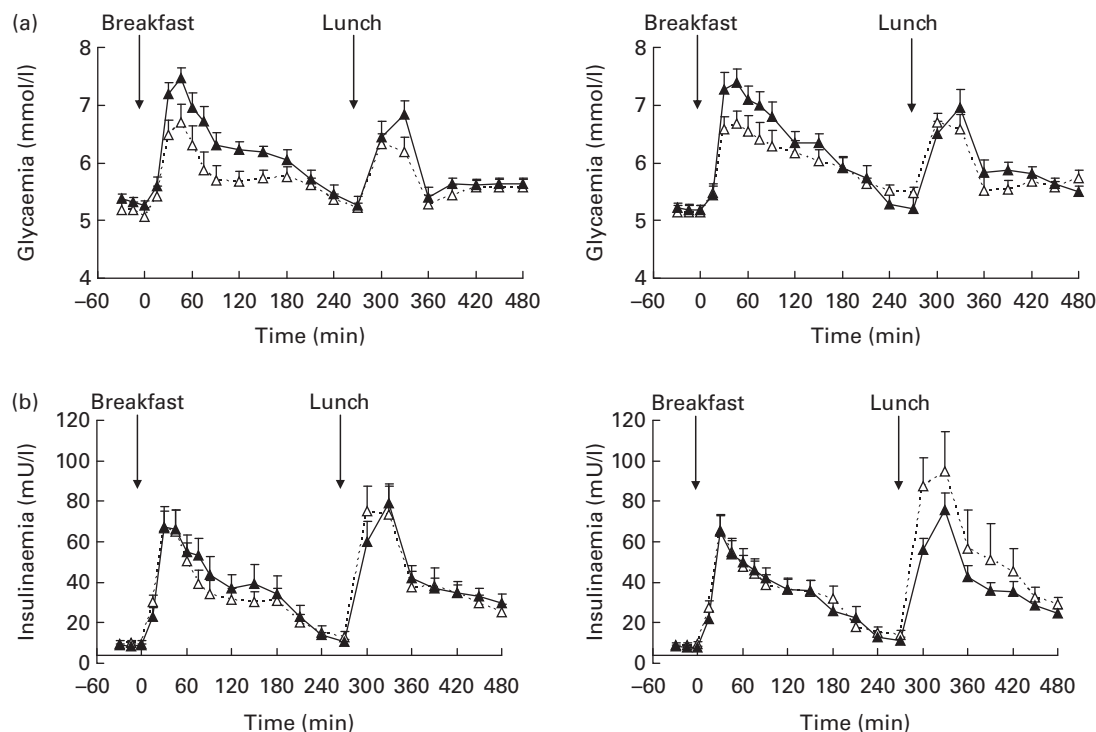


Fig. 1. Means with their standard errors plasma glucose concentration and (a) and plasma insulin (b) for 480 min after subjects ingested either a low glycaemic index breakfast (Δ , n 19) or a high glycaemic index (HGI) breakfast (\blacktriangle , n 19) at days 1 and 36 following GI intervention. A standardised HGI lunch was ingested at $t=270$ min. At day 1, an unpaired *t* test showed a significant difference between groups for the post-breakfast glucose peak and 0–270 min glucose area under the curve (AUC; * $P<0.05$) but no difference between groups for post-lunch glycaemic response or insulinaemic response. Using a two-way ANOVA, a significant main effect of group for the post-breakfast glycaemic peak ($P=0.01$) and a significant interaction group \times time for the post-lunch insulin peak ($P=0.02$) and insulin AUC ($P=0.05$) were seen throughout the 5-week intervention.

Before the standardised HGI lunch, there was no significant difference between the groups in glucose concentration, which had returned to baseline. Following lunch ingestion, there was a trend to reduced glycaemic response in the LGI group when compared with the HGI group, but this was not significant when considering either the glycaemic peak or the glucose AUC or iAUC (using post-breakfast AUC as covariate). The post-lunch glucose AUC was positively correlated to the post-breakfast glucose AUC and to the T270-min glucose concentration just before lunch (r 0.79, $P < 0.0001$ and r 0.38, $P = 0.02$, respectively). There was also a significant positive correlation between the post-breakfast glucose AUC and the postprandial glucose peak at lunch (r 0.51, $P = 0.002$; Table 4).

Plasma insulin response tended to be lower after the LGI breakfasts but this was not significant when considering insulin peak and AUC. Insulin concentration was not different between the groups at T270 min and insulinaemic response to the lunch was similar for both the groups. Concerning plasma C-peptide concentration, response to the LGI breakfast was lower than that of the HGI breakfast, but the difference was not significant (data not shown).

There was no difference between the groups in lipid profile in response to breakfast and subsequent lunch. Plasma NEFA as well as TAG concentrations during the trial (data not shown) were not altered by the type of breakfast ingested. At T270 min, just before lunch ingestion, there were no significant difference between NEFA concentrations in either group; these parameters had not returned to baseline values at T480 min.

Glucose turnover. Fig. 2 shows the changes in RaE (Rate of appearance of Exogenous glucose), RaT (Rate of appearance of Total glucose) during the 270-min test after the ingestion of the HGI or of the LGI breakfast. RaE kinetics was dramatically altered by the kind of breakfast ingested, as seen in Fig. 2(a). After the HGI breakfast, the rate of exogenous glucose appearance reached a peak at T30 min (4.08 (SEM 0.25) mg/kg per min) and then decreased slightly. After the LGI breakfast, the RaE increased to T45 min and then remained steady (< 2.5 mg/kg per min). The overall rate of exogenous glucose appearance integrated over 270 min (AUC) was also significantly different between the groups: 58.5 (SEM 3.2) g/270 min of exogenous glucose appeared in plasma after the HGI breakfast *v.* 38.3 (SEM 1.9) g/270 min after the LGI breakfast ($P < 0.0001$). The kinetics of disappearance of exogenous glucose was parallel to the RaE kinetics, and there was also a significant difference in the rate of disappearance of exogenous glucose AUC between the groups ($P < 0.0001$, data not shown).

The RaT increased in parallel in the two groups following breakfast ingestion with a peak at T30 min. Then RaT decreased until T270 min in both the groups, but remained steadier in the LGI group. After integration of the area under the RaT curve, we calculated the estimated quantity of total glucose which appeared in plasma over the 270 min following breakfast ingestion. The quantity of total glucose appearing in plasma following LGI breakfast was significantly lower than that following HGI breakfast (RaT AUC: 62.2 (SEM 2) g/270 min in the LGI group *v.* 68.4 (SEM 2) g/270 min in the HGI group, $P = 0.03$).

Similarly, the overall rate of disappearance of total glucose was significantly lower in the LGI group ($P = 0.03$; data not shown) and the RdT kinetics remained parallel to RaT kinetics in all the groups (data not shown).

EGP was calculated by subtracting RaE from RaT at each time point. As a consequence, EGP appeared to be significantly less inhibited after the ingestion of the LGI breakfast ($P < 0.003$). Over the 270 min of the test, the quantity of EGP was 24.8 (SEM 1.8) g/270 min for the LGI breakfast, whereas it was 16.4 (SEM 1.9) g/270 min for the HGI one (data not shown).

Substrate oxidation. There was significant lower total carbohydrate oxidation after the LGI breakfast (39 (SEM 2) in the LGI group *v.* 45 (SEM 3) in the HGI group). But no significant differences were found between breakfasts with regard to total lipid oxidation. There were no differences between the groups in total carbohydrate and lipid oxidation after lunch ingestion (270–480 min; data not shown).

Effect of a 5-week low glycaemic index or high glycaemic index diet on postprandial responses to a low glycaemic index or high glycaemic index breakfast and a standardised lunch

Metabolites and hormones. When considering glucose response to breakfast, there was no significant group \times time interaction for the post-breakfast glucose AUC and glucose iAUC, no main effect of time or of group for the glucose AUC. There was a significant main effect of group and of time for the glucose iAUC (between day 1 and day 36, +31% in the LGI group and +15% in the HGI group, $P = 0.01$). There was a significant effect of group for the post-breakfast glycaemic peak (glucose peak at day 36: 7.37 (SEM 0.21) mmol/l in the LGI group *v.* 7.92 (SEM 0.28) mmol/l in the HGI group, $P = 0.01$). At day 36, post-breakfast glucose AUC and glucose iAUC were lower in the LGI group compared with the HGI group but this was not significant ($P = 0.4$ and 0.06 , respectively). Following lunch ingestion, there was no main effect of group and no significant group \times time interaction for glucose response, but there was a

Table 4. Correlation in the whole study group between post-breakfast glucose response and post-lunch glucose response at days 1 and 36

	Day 1		Day 36	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
AUC glycaemia post-lunch \times AUC glycaemia post-breakfast	0.79	< 0.0001	0.47	0.004
AUC glycaemia post-lunch \times glycaemia T270	0.38	0.02	0.19	0.24
Glucose peak at lunch \times AUC glycaemia post-breakfast	0.51	0.002	0.33	0.04

r, correlation coefficient; AUC, area under the curve.

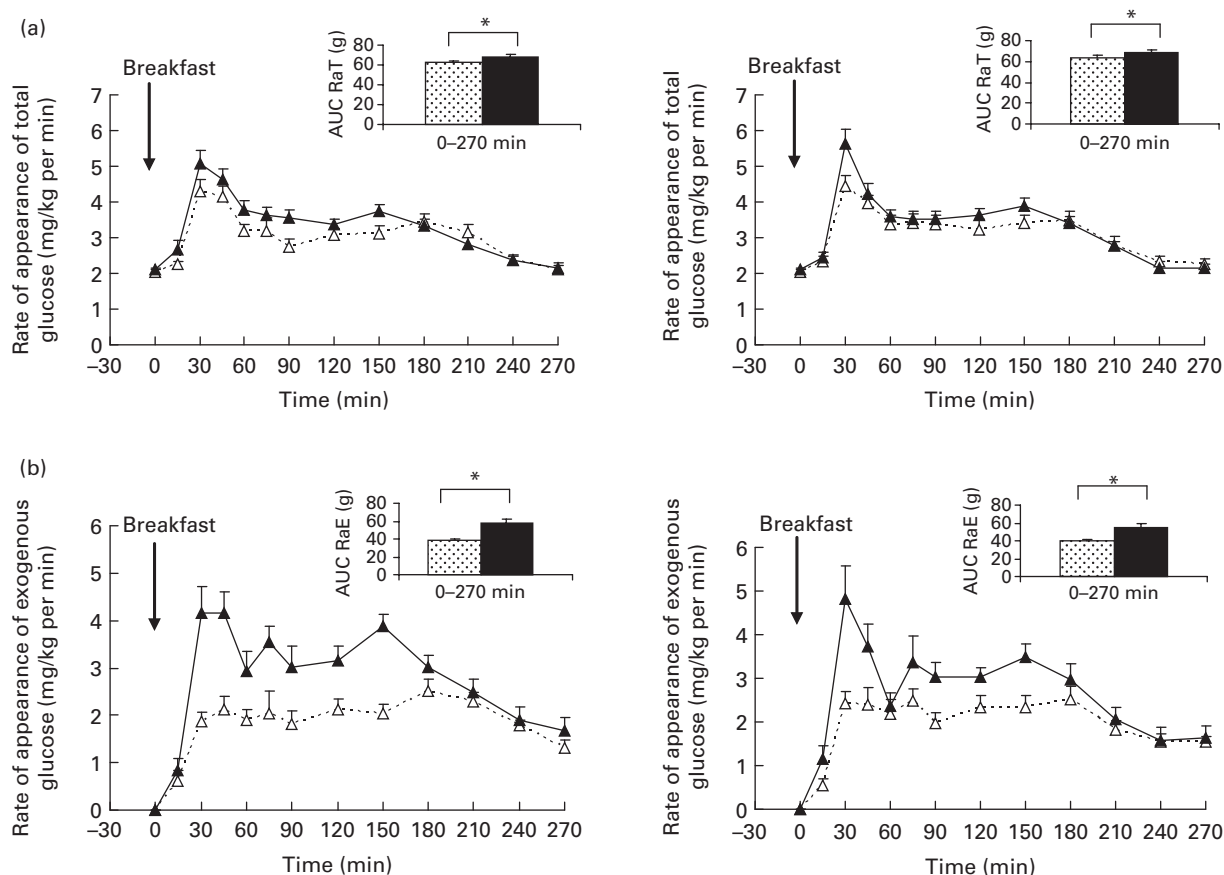


Fig. 2. Means with their standard errors rate of appearance and 270-min plasma appearance (area under the curve, AUC) of total glucose (RaT, (a)), of exogenous glucose (RaE, (b)) after subjects ingested either a low glycaemic index breakfast (Δ , n 19) or a high glycaemic index (HGI) breakfast (\blacktriangle , n 19) at days 1 and 36 following GI intervention. At day 1, an unpaired t test showed a significant difference between groups for the post-breakfast rate of appearance of exogenous glucose (RaE) area under the curve (AUC) and rate of total glucose appearance (RaT) AUC (* $P < 0.05$). Using a two-way ANOVA, a significant main effect of group for the RaE AUC, RaT AUC and endogenous glucose production AUC was seen throughout the 5-week intervention ($P < 0.0001$, 0.0001 , $P = 0.01$, respectively).

significant time effect for the post-lunch glucose peak and for the post-lunch glucose AUC and iAUC ($P = 0.04$, 0.01 and $P < 0.0001$, respectively). On day 36, post-breakfast glucose AUC was positively correlated to post-lunch glucose AUC (r 0.47, $P = 0.004$), as well as to the postprandial glucose peak at lunch (r 0.33, $P = 0.04$).

With respect to insulin response to breakfast, there was no significant group \times period interaction and no main effect of group or time, either for the insulin peak or the post-breakfast insulin AUC. After lunch ingestion, there was a significant group \times period interaction for the insulin peak ($P = 0.02$) and for the post-lunch insulin AUC ($P = 0.04$). For the LGI group, post-lunch insulin peak and post-lunch insulin AUC were significantly higher at day 36 when compared with day 1 ($P = 0.04$ and 0.01 , respectively). But there was no difference in post-lunch insulin peak or post-lunch insulin AUC between the groups at day 36.

No group \times time interaction and no main effect of group or time were found for C peptide, NEFA and TAG concentrations (baseline concentrations and postprandial responses, data not shown).

Glucose turnover. No significant group \times time interaction and no main effect of time were found for the RaE and rate of

disappearance of exogenous glucose, but a significant main effect of group appeared over the 5-week intervention dietary trial ($P < 0.0001$). At day 36, the RaE and rate of disappearance of exogenous glucose curves and associated AUC were still significantly lower in the LGI group ($P = 0.0004$). In the same way, there were no significant group \times time interaction for the RaT and RdT and no main effect of time, but there was a significant main effect of group ($P = 0.06$ and 0.05 , respectively). The RaT and RdT curve remained lower in the LGI group at days 1 and 36, but the difference between the groups at day 36 was no longer significant ($P = 0.1$). As for EGP, no significant group \times time interaction and no main effect of time was found, but a significant main effect of group ($P = 0.01$) remained. Following the 5-week dietary intervention trial, EGP in the LGI group tended to remain less inhibited at day 36, but this was no longer significant ($P = 0.07$; data not shown).

Substrate oxidation (data not shown). There was no main effect of group or of time and no significant group \times period interaction, when considering carbohydrate or lipid oxidation (baseline and following breakfast and lunch). Carbohydrate oxidation decreased in the two groups after the 5-week diet, but the differences between day 1 and day 36 in each group

were not significant. In parallel, lipid oxidation was significantly increased in the HGI group between day 1 and day 36 ($P=0.04$); the increase in the LGI group was not significant.

Discussion

In the present study in healthy subjects, a LGI breakfast rich in SAG decreased acute postprandial glucose availability and metabolic response compared with a HGI breakfast. The postprandial glucose response to the breakfast appeared to determine glucose response to the subsequent lunch. This effect of the LGI breakfast on glycaemic response was not accentuated by the 5-week LGI intervention diet.

The cereal products ingested for breakfast did not differ in macronutrient distribution and quantity but differed in term of SAG composition and thus in term of GI as previously shown^(16,30,31). These properties are correlated to *in vitro* starch digestibility and are dependent of processing⁽³²⁾. This way, the observed effect could not be attributed to a modification in protein or lipid content. The present study, thanks to the monitoring of glucose kinetics, provides evidence that the SAG content of the LGI breakfast induced a significant decrease in exogenous glucose appearance, which contributed to the LGI effect. In parallel, EGP was less inhibited and balanced the total glucose response. Indeed, differences in EGP, due to the physiological glucose regulation in healthy subjects, lowered the final impact on glycaemia. This compensatory effect may not be observed in diabetic subjects, and this could explain the improvement in glucose control with low GI diets in diabetic subjects or in subjects with poor glycaemic control. In the present parallel study, the subjects consume either the LGI or the HGI breakfast. Thus, to adjust for inter-individual differences, iAUC was calculated and the same statistical results were obtained. Previous studies using glucose-stable isotope analysis have tried to explain the moderate glycaemic response associated to low GI products in term of plasma glucose appearance and disappearance. Comparing the ingestion of breakfasts with different GI, Schenk *et al.*⁽¹⁵⁾ showed that the different GI of breakfast cereals could be partially related to the different rates of glucose removal from blood by tissue as a result of stimulation of insulin secretion and not to the difference in glucose appearance in plasma. But in another study, in which exogenous and endogenous glucose kinetics were measured, the addition of β -glucan to a polenta meal did prolong insulin secretion and reduced glycaemic response and the rate of appearance of exogenous and total glucose, with no significant alteration in the rate of glucose disposal⁽³³⁾. In the present study, the ingestion of the LGI breakfast induced a decrease in both the appearance and removal of exogenous and total glucose, suggesting that different GI could be related to both metabolic mechanisms.

In the meta-analysis conducted by Livesey *et al.*⁽⁵⁾, the available carbohydrate content was shown to have an impact on glycaemic control, even if it was weaker than GI or GL. In the present study, the lower glycaemic response at lunch associated to the lower glycaemic response at breakfast is consistent with results from previous studies^(6–8,14,34). A study comparing the effect of the GI and indigestible carbohydrate-resistant starch and dietary fibre content of cereal-based

breakfasts on day-long glucose tolerance at a second meal (lunch) concluded that the content of fermentable carbohydrates *per se* did not influence second-meal glucose tolerance⁽⁷⁾. This beneficial effect has been allocated for some part of the ability of certain carbohydrates to produce slow and sustained glycaemia. This could be compared to the present study in which the reduced glycaemic response was associated with the decreased appearance of exogenous glucose. The significant positive correlation found between glucose response to the breakfast (T0–270 min AUC) and glucose response to the standardised lunch (T270–480 min AUC) showed that the kind of breakfast ingested can impact on the glucose tolerance in the short term. This is in accordance with results from a previous study by Nilsson *et al.*⁽³⁴⁾. The authors tested glucose tolerance and response to breakfasts differing in GI and indigestible carbohydrate and found a positive correlation between the glucose response to breakfast and the glucose response to lunch, as in the present results, but a negative correlation between glucose before the start of the lunch and the glucose response to lunch. They concluded on the major input of GI on this second-meal effect, with an independent effect of colonic fermentation. The GI was in fact a major determinant of second-meal effect in both Nilsson's and our own study, but we did not find the same impact of glucose concentration just before the second meal.

In the present study, the metabolic effect of LGI *v.* HGI diet was investigated over 5 weeks. Interestingly, after the 5-week dietary intervention, a significant decrease in GI was obtained in the LGI group, by replacing usual starchy products in diet by LGI products. This showed that it is possible to implement such a dietary intervention based on simple dietary advice and a few LGI products. These modifications in the mean GI of diet in the two groups did not affect the intake of other nutrients, either in quantity or proportion. It should be noted that in the LGI group there was also a trend to a decrease in hunger sensation between meals⁽¹⁸⁾. This effect may be due to the consumption of food richer in dietary fibre and thus more satiating in this group⁽³⁵⁾. The mean GL of food in the LGI group decreased in parallel to the mean GI and it is difficult to distinguish the effects due to GI and/or GL, as already underlined in other studies⁽⁵⁾. Following the 5-week dietary intervention, no significant effect was noticed on baseline glucose and insulin concentrations. This is consistent with conclusions of Livesey's⁽⁵⁾ meta-analysis, in which the authors concluded that LGI products could have an effect on baseline glucose tolerance parameters in subjects with baseline glycaemia >5 mm or with poor glucose control. Concerning the post-breakfast glycaemic response, the difference between the groups (LGI *v.* HGI) was maintained over the 5 weeks (no significant group \times time interaction) but tended to decrease over time. Indeed, at day 36, post-breakfast AUC and iAUC were lower in the LGI group but this was not significant. The two cereal products still differed significantly in term of exogenous glucose appearance in plasma, but the endogenous production was not significantly different between the groups. However, at day 36, the glycaemic response to lunch remained correlated to the glycaemic response to breakfast. But in the LGI group, insulin response to the lunch was significantly higher. Thus, the lowest glycaemic response at lunch associated to the lowest glycaemic response at breakfast (potential second-meal effect) was maintained over weeks but this seems to be at the expense of the insulin profile. One hypothesis could be that

the LGI group may present an improvement in β -cell function, as it has been demonstrated by Wolever *et al.*⁽¹³⁾. But, when assessed by homeostasis model assessment β -cell function, no difference was found in β -cell function between the groups and over time (data not shown). Several papers have reported long-term beneficial effects of low-GI foods on glucose metabolism and insulin sensitivity in type 2 diabetic subjects and healthy subjects^(5,36–38). Moreover, the reduced glycaemic response induced by LGI products could present a potential beneficial effect on oxidative stress with a reduction of glucose excursion, as already shown⁽³⁹⁾. In the present study, the 5-week dietary intervention may have equalised glycaemic profiles by regularising breakfast intake in both the groups and thus tended to balance the difference between LGI and HGI metabolic effects.

LGI foods were thought to potentially promote fat oxidation compared to carbohydrate oxidation, through their action on insulin response^(40,41). But the present results did not show any major change of nutrient oxidation and of respiratory exchange rate following GI modification. Reviewing the GI effects on nutrient oxidation (short-, mid- and long-term), Diaz *et al.* came up with the statement that fuel partitioning was not affected by different glycaemic features⁽⁴²⁾. The metabolic changes induced by a LGI intervention seemed insufficient to initiate a significant effect on lipid oxidation.

In conclusion, modulation of postprandial glucose availability at breakfast is shown to be an important factor in day-long metabolic control in healthy subjects, as it decreases plasma exogenous glucose appearance and improves glucose control at subsequent lunch. After 5 weeks, such acute effects on glucose metabolism were maintained but remain to be confirmed in the longer term.

Acknowledgements

J.-A. N., A. d. R. and S. N. were responsible for the study design and coordination, collection and analysis of data, statistical analysis, writing and evaluation of the paper. M. S. was responsible for the diet design, dietary surveys and analysis. S. V. provided expert analysis and knowledge of cereal products. M. D., V. S. and S. N. provided technical expertise in MS analysis of glucose tracers. M. L. was responsible for study coordination, study design and supervised the writing of the paper. We thank the staff of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes and more particularly Christine Maitrepierre, Jocelyne Peyrat, Corinne Louche-Pélissier for their excellent technical assistance in subject recruitment, sample collection and analysis. Breakfast cereals and biscuits were supplied by Danone Vitapole, France. The present study was part of the EUROSTAR project, contract no. QLK1-2001-00431, supported by the European Union. S. V. was an employee of Danone Vitapole. The other authors have no conflict of interest to declare.

References

- Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, *et al.* (1999) The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12-4 years. *Diabetes Care* **22**, 233–240.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, *et al.* (2002) Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* **76**, 266S–273S.
- Salmeron J, Manson JE, Stampfer MJ, *et al.* (1997) Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA* **277**, 472–477.
- Augustin LS, Franceschi S, Jenkins DJ, *et al.* (2002) Glycemic index in chronic disease: a review. *Eur J Clin Nutr* **56**, 1049–1071.
- Livesey G, Taylor R, Hulshof T, *et al.* (2008) Glycemic response and health – a systematic review and meta-analysis: relations between dietary glycemic properties and health outcomes. *Am J Clin Nutr* **87**, 258S–268S.
- Wolever TM, Jenkins DJ, Ocana AM, *et al.* (1988) Second-meal effect: low-glycemic-index foods eaten at dinner improve subsequent breakfast glycemic response. *Am J Clin Nutr* **48**, 1041–1047.
- Liljeberg HG, Akerberg AK & Bjorck IM (1999) Effect of the glycemic index and content of indigestible carbohydrates of cereal-based breakfast meals on glucose tolerance at lunch in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* **69**, 647–655.
- Liljeberg H & Bjorck I (2000) Effects of a low-glycaemic index spaghetti meal on glucose tolerance and lipaemia at a subsequent meal in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* **54**, 24–28.
- Nilsson A, Granfeldt Y, Ostman E, *et al.* (2006) Effects of GI and content of indigestible carbohydrates of cereal-based evening meals on glucose tolerance at a subsequent standardised breakfast. *Eur J Clin Nutr* **60**, 1092–1099.
- Brighenti F, Benini L, Del Rio D, *et al.* (2006) Colonic fermentation of indigestible carbohydrates contributes to the second-meal effect. *Am J Clin Nutr* **83**, 817–822.
- Miles JM (2008) A role for the glycemic index in preventing or treating diabetes? *Am J Clin Nutr* **87**, 1–2.
- Brand-Miller JC, Petocz P & Colagiuri S (2003) Meta-analysis of low-glycemic index diets in the management of diabetes: response to Franz. *Diabetes care* **26**, 3363–3364.
- Wolever TM, Mehling C, Chiasson JL, *et al.* (2008) Low glycaemic index diet and disposition index in type 2 diabetes (the Canadian trial of carbohydrates in diabetes): a randomised controlled trial. *Diabetologia* **51**, 1607–1615.
- Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, *et al.* (1982) Slow release dietary carbohydrate improves second meal tolerance. *Am J Clin Nutr* **35**, 1339–1346.
- Schenk S, Davidson CJ, Zderic TW, *et al.* (2003) Different glycemic indexes of breakfast cereals are not due to glucose entry into blood but to glucose removal by tissue. *Am J Clin Nutr* **78**, 742–748.
- Englyst KN, Englyst HN, Hudson GJ, *et al.* (1999) Rapidly available glucose in foods: an *in vitro* measurement that reflects the glycemic response. *Am J Clin Nutr* **69**, 448–454.
- McMillan-Price J, Petocz P, Atkinson F, *et al.* (2006) Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* **166**, 1466–1475.
- de Rougemont A, Normand S, Nazare JA, *et al.* (2007) Beneficial effects of a 5-week low-glycaemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects. *Br J Nutr* **98**, 1288–1298.
- Foster-Powell K, Holt SH & Brand-Miller JC (2002) International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr* **76**, 5–56.
- Arock M, Desnault H, Viars P, *et al.* (1985) Determination of total nitrogen in biological milieu by chemoluminescence: a comparison with the reference method. *Ann Biol Clin (Paris)* **43**, 872–874.
- Ferrannini E (1988) The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* **37**, 287–301.

22. Tissot S, Normand S, Guilluy R, *et al.* (1990) Use of a new gas chromatograph isotope ratio mass spectrometer to trace exogenous ^{13}C labelled glucose at a very low level of enrichment in man. *Diabetologia* **33**, 449–456.
23. Bier DM, Arnold KJ, Sherman WR, *et al.* (1977) *In vivo* measurement of glucose and alanine metabolism with stable isotopic tracers. *Diabetes* **26**, 1005–1015.
24. Dejongh DC & Hanessian S (1965) Characterization of amino sugars by mass spectrometry. *J Am Chem Soc* **87**, 3744–3751.
25. Thivend P MC & Guilbot A (1972) Determination of starch with glucoamylase. In *Methods in Carbohydrate Chemistry*, pp. 100–105 [RL Whisler, editor]. New York/London: Academic Press.
26. Normand S, Pachiaudi C, Khalfallah Y, *et al.* (1992) ^{13}C appearance in plasma glucose and breath CO_2 during feeding with naturally ^{13}C -enriched starchy food in normal humans. *Am J Clin Nutr* **55**, 430–435.
27. De Bodo RC, Steele R, Altszuler N, *et al.* (1963) On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism: studies with ^{14}C glucose. *Recent Prog Horm Res* **19**, 45–48.
28. Proietto J, Rohner-Jeanrenaud F, Ionescu E, *et al.* (1987) Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model. *Am J Physiol* **252**, E77–E84.
29. Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, *et al.* (1991) Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr* **45**, 569–581.
30. Englyst KN, Hudson GJ & Englyst HN (2000) Starch analysis in food. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, pp. 4246–4262 [R Meyers, editor]. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
31. Seal CJ, Daly ME, Thomas LC, *et al.* (2003) Postprandial carbohydrate metabolism in healthy subjects and those with type 2 diabetes fed starches with slow and rapid hydrolysis rates determined *in vitro*. *Br J Nutr* **90**, 853–864.
32. Garsetti M, Vinoy S, Lang V, *et al.* (2005) The glycemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: relationships to *in vitro* starch digestibility. *J Am Coll Nutr* **24**, 441–447.
33. Nazare J-A, Normand S, Triantafyllou AO, *et al.* (2007) Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects: effects on glucose and insulin kinetics. *Mol Nutr Food Res* **53**, 361–369.
34. Nilsson AC, Ostman EM, Granfeldt Y, *et al.* (2008) Effect of cereal test breakfasts differing in glycemic index and content of indigestible carbohydrates on daylong glucose tolerance in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* **87**, 645–654.
35. Howarth NC, Saltzman E & Roberts SB (2001) Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev* **59**, 129–139.
36. Jenkins DJ, Wolever TM, Buckley G, *et al.* (1988) Low-glycemic-index starchy foods in the diabetic diet. *Am J Clin Nutr* **48**, 248–254.
37. Brand JC, Colagiuri S, Crossman S, *et al.* (1991) Low-glycemic index foods improve long-term glycemic control in NIDDM. *Diabetes Care* **14**, 95–101.
38. Wolever TM, Jenkins DJ, Vuksan V, *et al.* (1992) Beneficial effect of low-glycemic index diet in overweight NIDDM subjects. *Diabetes Care* **15**, 562–564.
39. Food and Drug Administration (2006) Food labeling: health claims; soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease. Final rule. *Fed Regist* **71**, 29248–29250.
40. Brand-Miller JC, Holt SH, Pawlak DB, *et al.* (2002) Glycemic index and obesity. *Am J Clin Nutr* **76**, 281S–285S.
41. Wee SL, Williams C, Tsintzas K, *et al.* (2005) Ingestion of a high-glycemic index meal increases muscle glycogen storage at rest but augments its utilization during subsequent exercise. *J Appl Physiol* **99**, 707–714.
42. Diaz EO, Galgani JE & Aguirre CA (2006) Glycaemic index effects on fuel partitioning in humans. *Obes Rev* **7**, 219–226.

Discussion

Dans cette étude, nous avons montré que l'ingestion d'un petit-déjeuner LGI (riche en glucides lentement digestibles) diminue la biodisponibilité du glucose en phase postprandiale et la réponse glycémique comparée à un petit-déjeuner HGI. La réponse glycémique au petit-déjeuner LGI était 8% plus faible que pour le petit-déjeuner HGI ($p=0.01$).

Les produits céréaliers des petits-déjeuners ne différaient pas en composition en macronutriments (distribution ou quantité), mais présentaient des teneurs différentes en glucides lentement digestibles (GLD) et par conséquent des index glycémiques différents. Ces propriétés sont liées à des données de digestibilité de l'amidon in vitro et dépendent notamment des technologies alimentaires utilisées pour leur fabrication. Il est important de noter que lors des journées d'exploration les petits-déjeuners étaient les mêmes que ceux consommés pendant les 5 semaines d'intervention (teneur en GLD et composition en termes d'autres macronutriments). La seule différence était leur marquage en ^{13}C qui permettait de tester au jour 1 plus particulièrement les effets en aigu de ce type de manipulation de l'amidon sur les cinétiques du glucose.

Une digestion prolongée des glucides induirait entre autres une diminution des réponses glycémique et insulémique, ainsi qu'une suppression prolongée de la lipolyse et donc des concentrations en AGNE circulants (Jenkins & Jenkins 1995). Nos résultats ont montré que la teneur élevée en GLD du petit-déjeuner LGI a réduit de manière significative l'apparition du glucose exogène par rapport au petit-déjeuner HGI (diminution du glucose exogène apparu au cours des 270 minutes de 35%), contribuant ainsi à diminuer l'IG du produit. Pour autant, cette diminution de l'apparition du glucose exogène dans le sang n'a pas réduit de manière significative la réponse insulémique après le petit-déjeuner LGI. La production endogène de glucose était moins inhibée, ce qui a diminué l'impact final sur l'apparition de glucose total, et réduit les différences entre les groupes en termes de réponse glycémique (différence significative de 8% pour l'ASC et de 33% pour ASC incrémentée à partir de la glycémie basale). Si la différence de RaE entre les groupes était très significative, indiquant que l'effet des deux petits-déjeuners était bien reproductible d'un individu à l'autre en termes d'absorption du glucose. Cependant, nous pouvons supposer encore une fois que nous avons une grande hétérogénéité des réponses insulémiques inter-sujets ne permettant pas de mettre en évidence des différences significatives entre les groupes pour la réponse insulémique. Pour autant, l'utilisation des

isotopes stables a permis de mettre en évidence un effet compensateur de la production endogène de glucose (calculée de manière indirecte comme la différence entre l'apparition du glucose total et l'apparition du glucose exogène).

La glycémie postprandiale est aussi l'intégration à la fois de l'apparition du glucose, exogène et endogène dans le plasma, et de sa disparition. Dans cette étude, les profils d'utilisation du glucose étaient parallèles à ceux d'apparition, c'est-à-dire plus faibles après le petit-déjeuner LGI. Ceci témoignerait d'une moindre inhibition par l'insuline, principal stimulateur de l'utilisation périphérique du glucose. Nous pouvons donc conclure que dans cette étude, la réduction de la glycémie postprandiale en aigu, suite à l'ingestion de biscuits LGI/riches en GLD serait principalement due à une moindre absorption glucidique.

Remarque : l'effet observé ici est une diminution de l'absorption plutôt qu'un ralentissement de l'absorption du glucose et nous n'avons pas mis en évidence une apparition du glucose exogène prolongée.

Schenk avait lui aussi étudié les effets d'un repas LGI sur les cinétiques de glucose postprandiales en suivant uniquement l'apparition et la disparition de glucose total dans le sang. Il obtenait une réponse glycémique significativement diminuée suite à l'ingestion de céréales d'avoine (LGI) en comparaison à des flocons de maïs (HGI). L'apparition du glucose total n'était pas altérée de manière significative entre les deux repas, mais l'utilisation du glucose était significativement plus élevée entre 30 et 60 minutes après le repas LGI. Les auteurs ont attribué cet effet à une grande teneur en protéines du petit-déjeuner LGI qui a accéléré la réponse insuline et l'utilisation du glucose en conséquence. Malheureusement, dans cette étude, l'apparition du glucose exogène n'était pas mesurée et par conséquent les auteurs ne peuvent pas conclure de manière définitive sur un non-effet des produits sur l'apparition du glucose exogène.

Dans notre étude, la teneur en protéines était identique entre les repas et nous n'avons pas observé un tel retard de réponse insulinaire.

Comme le souligne Schenk, ces différents résultats mettent bien en évidence, que tous les produits déclarés LGI ont des mécanismes d'action différents sur les cinétiques de glucose même s'ils résultent tous en une diminution de l'ASC glycémie à 2 heures.

Nous avons mis aussi en évidence un effet « second-repas » du petit-déjeuner LGI, ce qui est en accord avec plusieurs travaux publiés notamment de Jenkins et Wolever, et plus récemment de Nilsson et Bjorck (Jenkins et al. 1980; Nilsson et al. 2008; Brighenti et al. 2006). La réponse glycémique au déjeuner (exprimée en aire sous courbe) était positivement corrélée à la réponse glycémique au petit-déjeuner (aire sous courbe)

($r=0,79$, $p<0,0001$) et à la glycémie juste avant le déjeuner (T270) ($r=0,38$, $p=0,02$). Le pic glycémique en réponse au déjeuner était lui aussi corrélé à la réponse glycémique au petit-déjeuner.

Jenkins avait suggéré dès les années 80 que l'absorption prolongée de glucose à partir d'un repas de lentilles ou due à l'addition de guar gum, provoquait une réponse glycémique plus faible au petit-déjeuner et améliorait la tolérance au glucose au repas suivant (Jenkins et al. 1982; Jenkins et al. 1980). Depuis cet effet second-repas entre petit-déjeuner et déjeuner a été mis en évidence dans plusieurs études (Liljeberg et al. 1999; Liljeberg & Björck 2000; Brighenti et al. 2006). Il a été suggéré que les bénéfices en terme d'effet second-repas entre petit-déjeuner IG bas et déjeuner seraient dus principalement à une absorption prolongée des glucides du petit-déjeuner IG bas, impliquant une suppression prolongée de la lipolyse et des AGNE par l'insuline, et améliorant la sensibilité à l'insuline (Wolever et al. 1995; Granfeldt et al. 2006; Brighenti et al. 2006). Dans notre étude, la lipolyse était inhibée de manière similaire après les deux petits-déjeuners et nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre la concentration en AGNE en réponse au petit-déjeuner et la réponse glycémique au déjeuner. Ainsi, si nous retrouvons une corrélation entre les réponses pré et post-déjeuners en termes de glycémie en prenant indifféremment tous les sujets de l'étude, les réponses glycémiques au déjeuner n'étaient pas pour autant significativement plus faibles pour le groupe LGI.

Dans un deuxième temps, nous avons voulu regarder si un régime de 5 semaines à base de produits LGI était à même d'améliorer le métabolisme glucidique postprandial. Le suivi des cinétiques du glucose nous a permis de voir que les effets des petits-déjeuners LGI étaient maintenus en termes de digestibilité, car l'apparition du glucose exogène était toujours significativement plus faible après les biscuits LGI, après les 5 semaines de régimes.

Nous n'avons pas trouvé d'interaction significative groupe*temps pour les cinétiques du glucose et les autres paramètres métaboliques, ce qui signifie qu'il n'y a pas eu d'effet significatif des 5 semaines de régimes LGI ou HGI sur les réponses aux petits-déjeuners. Nous avons cependant observé un effet temps significatif pour l'ASC incrémentée, car les réponses glycémiques augmentaient dans les deux groupes après l'intervention de 5 semaines. La différence entre les réponses glycémiques est restée significative entre les deux groupes mais tendait à diminuer au cours du temps. Ainsi, il n'y a plus de différence significative entre les groupes au jour 36 pour la réponse au petit-déjeuner.

Les effets observés en aigu n'ont pas été accentués par le régime de 5 semaines LGI. A notre connaissance, cette étude est la première à étudier l'effet de l'IG sur les cinétiques du glucose à la fois en aigu et à plus long terme.

L'équipe de Kiens et al. avait étudié l'effet du type de glucides (IG Bas ou IG Haut) sur la sensibilité à l'insuline et l'action de l'insuline à court et plus long-terme (30 jours). De manière intéressante, comme nous l'avons aussi observé, après 30 jours de régime IG bas, les concentrations en glucose et insuline au cours de la journée ne sont plus significativement plus faibles par rapport au régime IG Haut (Kiens & Richter 1996). D'après les auteurs, ce phénomène pourrait provenir d'une adaptation progressive au régime IG bas, peut-être par une augmentation elle aussi progressive du taux d'absorption des glucides. Mais, nos données de RaE ne confirment pas cette hypothèse dans notre cas. Des mesures de la sensibilité à l'insuline ont aussi été réalisées dans l'étude de Kiens (clamps) et ont montré une diminution de la sensibilité à l'insuline suite au régime IGB, lors de leur deuxième palier de clamp qui était cependant très élevé (5 mU/kg/min). Selon les auteurs, cette diminution de la sensibilité à l'insuline pourrait être due à de niveaux d'AGL plus élevés (Boden et al. 1991). Dans le même sens, Robertson a montré une inhibition de la lipolyse suite à une supplémentation avec de l'amidon résistant pendant 4 semaines (Robertson et al. 2005). De plus, la clairance du glucose insulino-induite était significativement plus importante après le régime amidon résistant. Il a été aussi proposé que les AGCC plus particulièrement le propionate, produits par la fermentation colique des glucides non digestibles pourraient aussi moduler le métabolisme glucidique (Venter et al. 1990; Thorburn et al. 1993; Berggren et al. 1996; Nilsson et al. 2006). Cependant, d'autres études n'ont pas montré d'effet réducteur de la glycémie de l'administration rectale (Wolever et al. 1989) ou gastrique (Laurent et al. 1995) de propionate, mais pour autant, les niveaux de concentrations en AGNE étaient diminués dans ces deux études. Dans notre étude, nous n'avons pas observé d'effet du régime LGI sur les concentrations en AGNE, ni sur l'index d'insulino-résistance HOMA.

Nous ne pouvons donc pas conclure à une amélioration des effets observés en aigu par un régime LGI de 5 semaines. Pour autant, les 5 semaines de régime LGI ont engendré une perte de poids significativement plus importante ($-1,1 \pm 0,3$ kg dans le groupe LGI versus $-0,3 \pm 0,2$ kg dans le groupe HGI, $p=0,04$) et une amélioration du profil lipidique.

Etude Nutriose

Modulation de la glycémie postprandiale par l'ingestion d'une dextrine hautement fermentescible : libération d'énergie prolongée et effet sur la concentration de ghréline au cours de la journée

NUTRIOSE®10, a resistant dextrin, induces a prolonged oxidation pattern and alters satiety-related ghrelin profile

Julie-Anne Nazare, Valérie Sauvinet, Sylvie Normand, Laetitia Deremaux, Michel Desage, Daniel Wils and Martine Laville, *manuscrit*

Résumé

Le but de cette étude était d'étudier les effets d'une nouvelle fibre soluble non visqueuse et fermentescible, NUTRIOSE[®]10, sur les paramètres métaboliques postprandiaux et le profil de ghréline au cours de la journée. Dans cette étude randomisée, en simple aveugle et croisée, 12 hommes sains ont ingéré un petit-déjeuner standard additionné de 50g de NUTRIOSE[®]10 ou de 50 de maltodextrine (malto, placebo) puis un déjeuner standard 5 heures après. NUTRIOSE[®]10 et la maltodextrine issus de farine de maïs étaient donc naturellement enrichi en ¹³C et ainsi nous avons pu suivre leur devenir métabolique. Les profils de fermentation et d'oxydation des produits tests ont été déterminés par mesure simultanée du ¹³CO₂ et du H₂ dans l'air expiré. L'apparition du ¹³C glucose exogène a été mesurée dans le plasma, ainsi que les concentrations de glucose, insuline et ghréline pendant 10 heures suite à l'ingestion des petits-déjeuners. L'oxydation des nutriments a été mesurée par calorimétrie indirecte. Avec NUTRIOSE[®]10, l'apparition du ¹³CO₂ dans l'air expiré était significativement prolongée, ainsi que l'excrétion de H₂ (p<0.0001). L'apparition du ¹³C glucose exogène dans le plasma était significativement réduite avec NUTRIOSE[®]10 (p<0,0001). De même, les réponses glycémique et insulinique étaient diminuées (p<0,05), mais aucun effet second-repas n'a été détecté. Suite à l'ingestion de NUTRIOSE[®]10, la sécrétion de ghréline était moins inhibée après le petit déjeuner. Au déjeuner, la concentration de ghréline était plus faible, et l'est restée jusqu'à T600. En conclusion, l'oxydation de la fibre NUTRIOSE[®]10 a été prolongée jusqu'à 10 heures après son ingestion au petit-déjeuner. Au-delà de la réduction des réponses glycémique et insulinique postprandiales, NUTRIOSE[®]10 a diminué le profil de ghréline au cours de la journée. Ceci pourrait être expliqué par le profil d'oxydation prolongé de la fibre qui pourrait fournir de l'énergie en phase postprandiale tardive. Ce lien potentiel entre la fermentation des fibres et leur effet sur la satiété reste néanmoins à confirmer.

Introduction

Les recommandations nutritionnelles actuelles vont dans le sens d'une augmentation de la consommation de fibres alimentaires pour diminuer les risques de pathologies type obésité, diabète de type 2 ou maladies cardiovasculaires. Les fibres alimentaires ont donc fait l'objet de nombreuses études de par leur utilisation potentielle pour améliorer certains paramètres métaboliques. En particulier, il a été démontré que les fibres pouvaient améliorer les profils glycémique et insulinique postprandiaux, ainsi que le métabolisme lipidique (Würsch & Pi-Sunyer 1997; Brown et al. 1999; Braaten et al. 1991; Tappy et al. 1996; Bourdon et al. 1999; Juntunen et al. 2002; Kabir et al. 2002; Behall et al. 2006), mais pouvaient aussi diminuer la prise alimentaire (Burton-Freeman 2000; Slavin 2005). Les fibres solubles, grâce à leur capacité à former des gels visqueux et ainsi augmenter la viscosité du bol alimentaire, retardent et/ou réduisent la vidange gastrique, diminuent l'absorption du glucose et ainsi réduisent les excursions glycémiques postprandiales (Jenkins et al. 1978; Brennan 2005). Parmi les autres potentiels mécanismes d'action physiologique des fibres sur le métabolisme du glucose, le rôle de la fermentation colique a été proposé par l'intermédiaire de la production d'AGCC (Wolever et al. 1991; Thorburn et al. 1993; Venter et al. 1990; Robertson et al. 2005). De la même manière, si les propriétés physico-chimiques des fibres ont été identifiées pour participer à leur effet satiétogène (Burton-Freeman 2000), un rôle potentiel de la fermentation a aussi été proposé (Delzenne et al. 2007). Les effets bénéfiques des fibres sur la satiété (Blundell & Burley 1987; Delargy et al. 1995; Howarth et al. 2001; Pereira & Ludwig 2001; Berti et al. 2005; Delzenne et al. 2005; Holt et al. 1999; Pasman et al. 1997) et sur le poids corporel (Slavin 2005) pourraient dépendre de l'action de certaines hormones digestives régulant l'homéostasie énergétique (Weickert et al. 2006). Parmi celles-ci, la ghréline est une hormone orexigène sécrétée par l'estomac et qui joue un rôle majeur dans la régulation de la prise alimentaire (Cummins et al. 2001). La ghréline serait impliquée dans l'initiation des repas, en effet la concentration plasmatique de ghréline augmente juste avant un repas et diminue immédiatement après (Shiyya et al. 2002; Tschöp et al. 2001). Sa réponse postprandiale dépend de facteurs diététiques et/ou de facteurs post-gastriques et/ou postabsorbants (Cummins et al. 2005). Mais les effets des fibres, et plus particulièrement des fibres fermentescibles, sur la ghréline ne sont pas encore complètement élucidés (Karhunen et al. 2008).

Le but de cette étude était d'étudier les effets d'une nouvelle fibre soluble fermentescible non visqueuse, NUTRIOSE®10, sur les paramètres métaboliques

postprandiaux et la concentration de ghréline. NUTRIOSE®10 est une dextrine de maïs fermentescible, qui est hydrolysée et absorbée de manière incomplète dans l'intestin grêle (van den Heuvel et al. 2005). Le NUTRIOSE®10 utilisé dans cette étude est naturellement enrichi en ^{13}C , car fabriqué à partir de maïs qui présente un enrichissement naturel par rapport à la plupart des autres plantes en ^{13}C (Schoeller et al. 1980). Ainsi, le devenir métabolique de cette fibre peut être suivi grâce à la mesure du $^{13}\text{CO}_2$ dans le CO_2 expiré, provenant de l'oxydation du NUTRIOSE®10 (résultant de la faible proportion absorbée au niveau intestinal) et de la fermentation colique majoritaire.

Premièrement, nous avons déterminé le profil de fermentation et d'oxydation de la fibre en utilisant la mesure simultanée du $^{13}\text{CO}_2$ et du H_2 dans l'air expiré pour déterminer l'origine du $^{13}\text{CO}_2$ expiré (digestion intestinale ou fermentation colique) (Lifschitz et al. 2002; Symonds et al. 2004).

Deuxièmement, nous avons étudié les effets métaboliques du NUTRIOSE®10 sur la réponse à un petit-déjeuner standard et au déjeuner suivant. Pour ce faire, l'apparition du ^{13}C glucose exogène dans le plasma provenant du NUTRIOSE®10 a été mesurée ainsi que les concentrations postprandiales de glucose, insuline, et ghréline pendant 10 heures suite à l'ingestion d'un petit-déjeuner test. En parallèle, l'effet de la fibre sur l'utilisation des substrats a été déterminé par la mesure de l'oxydation glucidique et lipidique.

NUTRIOSE[®] 10, a resistant dextrin, induces a prolonged oxidation pattern and alters satiety-related ghrelin profile

Julie-Anne Nazare¹, Valérie Sauvinet¹, Sylvie Normand¹, Laetitia Deremaux², Michel Desage¹, Daniel Wils² and Martine Laville¹

¹Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes; Univ de Lyon, F-69008; INSERM, INRA, Univ Lyon 1, F-69003; Hospices Civils de Lyon, F-69003, Lyon, France Hospices Civils de Lyon, ²Roquette Frères, 62080 Lestrem Cedex, France
Address correspondance and request reprints to: Martine Laville (or Julie-Anne Nazare), Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes (CRNH-RA), Pavillon Médical, Centre Hospitalier Lyon Sud, 165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite Cedex, France; phone number: +33 (0)4 78 86 19 77; fax number: + 33 (0)4 78 86 44 62; e-mail: martine.laville@chu-lyon.fr, julie-anne.nazare@recherche.univ-lyon1.fr

Keywords: NUTRIOSE[®] 10 / ghrelin / fermentation / ¹³CO₂ and H₂ breath tests / stable isotope analysis

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of a new soluble dietary fiber, NUTRIOSE[®] 10, a resistant dextrin, on daylong metabolic parameters in the postprandial phase and on ghrelin profile. In this randomized simple-blinded cross-over study, 12 healthy men ingested a standardized breakfast supplemented with 50g of NUTRIOSE[®] 10 or 50g of maltodextrin (malto) and then a standardized lunch 5 hours later. NUTRIOSE[®] 10 and malto are derived from corn flour, thus naturally enriched in ¹³C, allowing the follow-up of their metabolic fate. Fermentation and oxidation patterns of test products have been assessed by a simultaneous ¹³CO₂/H₂ breath test. The appearance of exogenous ¹³C-glucose in plasma by stable isotope analysis has been measured, as well as glycemia, insulinemia, ghrelin concentrations and nutrient oxidation (indirect calorimetry) for 10 hours following breakfast ingestion. The appearance of ¹³CO₂ was significantly prolonged and H₂ excretion (fermentation) significantly enhanced with NUTRIOSE[®] 10 (p<0.0001). The appearance of ¹³C-glucose in plasma (p<0.0001), the glycemic and insulinemic responses to breakfast (p<0.05) were reduced with NUTRIOSE[®] 10, but no second-meal effect was observed at lunch. Ghrelin secretion was less inhibited with NUTRIOSE[®] 10. Then from T270 (just before lunch) to T600, ghrelin concentration remained lower with NUTRIOSE[®] 10. In conclusion, the oxidation of NUTRIOSE[®] 10 was prolonged up to 10 hours after ingestion at breakfast. NUTRIOSE[®] 10 decreased postprandial glycemic and insulinemic response as well as daylong satiety-related ghrelin profile. This effect could be explained by the prolonged energy release with NUTRIOSE[®] 10 in the late postprandial phase. But this potential link between dietary fiber fermentation and satiety remained to be confirmed.

Introduction

Current recommendations for the management of metabolic disorders such as obesity, type 2 diabetes and cardiovascular diseases are in line with an increase in dietary fibers consumption. Thus dietary fibers have been extensively studied as dietary tools to improve metabolic control. More particularly, dietary fibers have been shown to improve postprandial glucose and insulin profile as well as lipid metabolism¹⁻⁸ but also to decrease food intake^{9,10}. Soluble dietary fibers through their ability to form gels and to increase gastro-intestinal viscosity that delay gastric emptying, reduce the rate of glucose absorption and thus decreased postprandial glycemic excursions^{11,12}. Among other potential physiological mechanisms of dietary fiber involved in improvement of glucose metabolism, the role of fermentation in colon has been proposed through the production of SCFA¹³⁻¹⁶. Similarly, if the bulking and viscosity-producing abilities of fibers have been identified as to participate in their satietogenic effect⁹, a potential role for fermentation has been identified¹⁷. The beneficial effect of dietary fibers on satiety¹⁸⁻²² and body weight management¹⁰ may be mediated by gut hormones regulating energy metabolism²³. The gut peptide ghrelin, an orexigenic hormone secreted in the stomach, is a key factor of the regulation of food intake²⁴. Ghrelin has been supposed to be involved in meal initiation as its plasma concentration rises during fasting before a meal and decreases immediately after^{25,26}. Modification of postprandial concentration of ghrelin is depending on dietary factors and/or post-gastric and/or post-absorptive factors²⁷. But the effects of dietary fiber and more particularly fermentable fiber on ghrelin is still not fully understood²⁸. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of a new soluble non viscous dextrin fiber, NUTRIOSE[®]10, on metabolic parameters and satiety factors. NUTRIOSE[®]10 is a resistant dextrin from

corn starch, incompletely hydrolyzed and absorbed in the small intestine²⁹ and may be a potential tool for the modulation of postprandial metabolism and food intake regulation as to improve metabolic risks. NUTRIOSE[®]10 is a naturally ¹³C-enriched product, as corn plant has a natural enrichment of ¹³C compared to most other plants³⁰. Thus, the metabolic fate of this fiber can be traced through the measurement of ¹³CO₂ in breath excretion from NUTRIOSE[®]10 oxidation resulting from minor intestinal absorption, as well as from major colonic fermentation.

First, we determined the fermentation and oxidation pattern of NUTRIOSE[®]10 using a simultaneous ¹³CO₂/H₂ breath test to assess ¹³CO₂ origin (digestion and fermentation)^{31,32}. Second, the effects of this new resistant dextrin on metabolic and satiety-related parameters were investigated in response to breakfast and to the subsequent lunch. For this purpose, the appearance of exogenous ¹³C-glucose from NUTRIOSE[®]10 in plasma, the concentrations of plasma glucose, insulin and ghrelin were measured for 10 hours following test breakfast ingestion. In parallel, the effect on substrate utilization was assessed by measurement of nutrient oxidation.

Subjects and methods

Subjects

Fifteen healthy men were first included in the study. All subjects received written and oral information about the protocol and signed an informed consent form. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon (CPP Sud Est II) according to both the French "Huriet-Serusclet" law and the Second Declaration of Helsinki. Pre-study screening tests were conducted where each subject gave a blood sample, was measured for height and weighed and was interviewed regarding general health (medical history and physical examination). Eating habits, especially usual fiber consumption, were

also explored by a trained dietician through a dietary survey.

A lactulose breath test was performed to exclude subjects who were not hydrogen-producers. For this test, subjects came at the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes at Hôpital Edouard Herriot after an overnight 12-hour fast and ingested a solution containing 10g of lactulose and a standardized breakfast. Then, breath samples were collected for 240 min at 30 min intervals following lactulose ingestion. An increase of 10 ppm of H₂ maintained for at least 3 successive time points was used as inclusion criteria.

The other inclusion criteria for the study were men aged 20–65 years, body mass index 20–25 kg/m², normal fasting glucose concentration < 7.0 mmol/L, total cholesterol < 7.0 mmol/l, stable body weight over the previous 3 months, normal results for pre-inclusion biological tests, sedentary or moderate physical activity, usual fibre intake, no history of metabolic or intestinal disorder, no medication that could influence study outcomes.

Three men were excluded following the re-study screening: two men because they were detected as non hydrogen-producers and one man because his BMI was > 25 kg/m². Finally, 12 men were included, aged 29 ± 1 years, weighing 71.7 ± 1.8 kg, with a body mass index of 22.7 ± 0.5 kg/m², and fasting glucose concentration of 4.49 ± 0.13 mmol/L and fasting total cholesterol concentration of 4.66 ± 0.24 mmol/L (mean ± SEM).

Test Products and experimental meals

NUTRIOSE[®]10 (Roquette Frères France) is a resistant dextrin made from either wheat or corn starch, using a highly controlled process of dextrinification. During this process, the starch undergoes a degree of hydrolysis followed by repolymerisation. It is the repolymerisation that converts the starch into fiber, by causing non-digestible glycosidic bonds to be formed, which cannot be cleaved by enzymes in the digestive tract, and in

addition, causes some hindrance to the cleavage of the digestible bonds. Dextrinification is followed by a separation step, which ensures the optimum molecular weight distribution. NUTRIOSE[®]10 tested in this study presents 75% of fiber with a average molecular weight of 4150 Da. A pure maltodextrin (malto) (Glucidex[®]6, Roquette Frères France) was selected as placebo. This maltodextrin is hydrolyzed and absorbed in the gastrointestinal tract up to at least 95%. Corn starch was chosen as raw material for the NUTRIOSE[®]10 and maltodextrin (malto) process, as corn is naturally enriched in stable isotope ¹³C³⁰. Moreover, potato starch (cultivated in a ¹³CO₂ enriched atmosphere) was added before processing as to increase ¹³C enrichment in test products (1g for 4kg of NUTRIOSE[®]10 or 1g for 5kg of malto).

The two tests products were supplied as powders. Either 50g of NUTRIOSE[®]10 or of malto were mixed with 100 mL of water and then ingested in this form (limpid solution) as part of a standardized breakfast (without fibre). The standardized breakfast consisted of 4 toasts, 20g of butter, a cup of coffee or tea (without sugar). The standardized lunch consisted of 50g of ham (about one slice), 200g of rice, 2 toasts and 30g of cheese. The composition of the test breakfasts and standardized lunch is given in Table 1.

Experimental design

This study was designed as a randomized, cross-over, single-blind trial. One month before beginning the investigations, the subjects were asked to avoid the consumption of food products which could probably affect the gastro intestinal tract microflora and alter fermentation pattern. Thus, food products containing high amount of fibre, pre- or pro-biotics were allowed for consumption up to once a week (dairy products with added cultures, chicory, artichoke, rhubarb, plum, light food products, legumes). Moreover, the subjects were asked to avoid nutrients

known to be enriched in ^{13}C (corn starch and oil, cane sugar, tropical fruits and tinned foods). 24h before the study, they were asked to limit their physical activity and not to drink alcohol-containing beverages. Dietary advices were given to each subject as to standardize dinner menu (rice, fish, toasts, cheese) on the day before investigation and to limit fibre ingestion that could interfere with the study outcomes.

Each subject came to the Centre on two separate days, with a wash-out of three weeks in between. They arrived at the Centre at 6.30 a.m. on the exploration day following a 12h overnight fast and had either the breakfast with NUTRIOSE[®]10 test solution or the breakfast with maltodextrin test solution (malto), selected at random. The body weight was measured with a calibrated scale (SECA[□]). At T0, subjects ingested the test solution, then the standardized breakfast in 15 minutes. Blood samples were collected at baseline and sequentially every 15 minutes until 60 minutes, then every 30 minutes until 180 minutes following ingestion of the breakfast and finally every 60 minutes between 240 minutes and 600 minutes. The standardized lunch was served and ingested at T300min. Blood was collected in tubes maintained at 4°C and immediately centrifuged at 4500 rpm for 10 minutes at 4°C and then stored at -20°C until assay. Blood samples were used to determine plasma concentration of glucose, insulin, ghrelin, ^{13}C -glucose isotopic enrichments. Breath samples were also collected at baseline and then every hour until T600 for breath hydrogen analysis as well as for $^{13}\text{CO}_2$ isotopic enrichments (oxidation of ingested test product). O_2 consumption and CO_2 production were monitored by indirect calorimetry (Datex instrument, Helsinki, Finland) before (from T-30 to T0) and after tests meal ingestion (from T15 to T300 and from T315 to T600) in order to calculate total carbohydrate and lipid oxidation. Subjects remained in the supine position for the

duration of the study except when required to void bladder (urinary nitrogen measured: before the breakfast (T0), before lunch (T300) and at the end of the experiment (T600)).

Analytical procedures

Breath hydrogen analysis

After mouth rinsing with an antibacterial mouthwash at arrival, subjects were instructed to breath out deeply and end expiratory breath samples were collected directly in a modified bag (Quintron, Milwaukee, WI, USA). Then, a sample of collected air was injected a Quintron Model DP Microlyzer gas chromatograph (Quintron Instruments, USA). Hydrogen concentration was measured with a detected accuracy of ± 2 ppm and a linear response range of between 2 ppm and 150 ppm.

Isotope analysis

Plasma glucose isotopic enrichments were determined on neutral fractions of de-proteinised plasma samples, partially purified over sequential anion-cation exchange resins, as previously described³³. Plasma ^{13}C glucose enrichment was measured by gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS, Isoprime, GV instruments, Lyon, France) after derivatisation to pentaacetylaldonitrile glucose³⁴. Breath sample $^{13}\text{CO}_2$ to $^{12}\text{CO}_2$ ratios were measured on a continuous-flow inlet system connected to an Isoprime isotope ratio mass spectrometer (GV Instrument, Lyon, France).

The ^{13}C isotopic enrichment of test products (NUTRIOSE[®]10 and malto) was determined by two procedures as previously described³⁵. First, the products were analyzed using an elemental nitrogen and carbon analyzer (Carlo Erba, Massy, France) on line with an isotope ratio-mass spectrometer (GV Instrument, Lyon, France). The ^{13}C isotopic enrichment of the test products measured was $2.56 \delta^{13}\text{C}^{\circ/\circ}$ ($1.11405 \text{ atom}\%^{13}\text{C}$) and $6.15 \delta^{13}\text{C}^{\circ/\circ}$

(1.11799 atom% ^{13}C) for NUTRIOSE[®]10 and malto respectively.

Moreover, the test products underwent an acid hydrolysis using chlorhydric acid reaction at 100°C for 45 minutes and the glucose obtained was purified by sequential anion-cation exchange chromatography before derivatization as glucose pentaacetylaldonitrile and analyzed as previously described ³⁵, as to determine the ^{13}C enrichment of the derivatized glucose. The ^{13}C enrichment of the derivatized glucose molecule was 1.81 ‰ (1.11322 atom% ^{13}C) and 5.75 ‰ (1.11755 atom% ^{13}C) for NUTRIOSE[®]10 and malto respectively.

Metabolites and Hormones

Glucose concentrations were measured with an enzymatic colorimetric method on a Cary 50 Bio[®] spectrophotometer (Varian[®]) using a BioMérieux[®] Glucose RTU kit (Marcy l'Etoile, France). Plasma insulin and ghrelin concentrations were determined by radioimmunoassay using a Medgenix Diagnostics kit (Rungis, France and Immunotech, Marseille, France) and a ghrelin (total) RIA kit respectively.

Indirect calorimetry

Respiratory gas exchanges (V_{CO_2} and V_{O_2} , ml/kg/min) were determined with computerized open-circuit calorimetry (Deltatrac, Datex instrument, Helsinki, Finland) at baseline, and for 5 hours following glucose ingestion, at 1-minute intervals. Before each test, the Deltatrac monitor was adjusted for temperature and barometric pressure, calibrated with a gas of known CO_2 and O_2 composition and the quality and stability of the calibration were checked by an ethanol burning test. Urine samples for determination of total nitrogen excretion were obtained before breakfast, before lunch and at the end of the experiment. The protein oxidation was calculated from nitrogen excreted in urine, assuming combustion of 6.25 g of protein/g of N excreted ³⁶. Total carbohydrate and lipid oxidation were calculated using the Ferrannini's equations ³⁷.

Calculations

^{13}C -glucose enrichment in plasma and $^{13}\text{CO}_2$ enrichment in expired air were expressed as Atom% Excess, APE. The measured Atom%, AP of plasma glucose after ingestion was transformed in APE by the formula:

$$\text{APE} = \text{AP}_s - \text{AP}_b$$

where AP_s is the AP of the sample (plasma glucose or test product) and AP_b the AP of the plasma glucose at baseline.

As the ^{13}C enrichment of the derivatized glucose molecule from the 2 test products (NUTRIOSE[®]10 and malto) differed, a correction was applied to take in account test product enrichment at baseline.

Then, APE_{cor} , which represent the % of plasma ^{13}C -glucose from ingested test product was calculated as:

$$\text{APE}_{\text{cor}} = (\text{APE}_t / \text{APE}_p) \times 100$$

where APE_t is the APE of plasma ^{13}C -glucose at time (t) and APE_p is the APE of test product.

Peaks of glucose, insulin and APE_{cor} were calculated as the maximum concentration or APE following breakfast for each subject (consequently it does not correspond to the same time point for each subject). Postprandial data were also assessed as areas under the curve (AUC) calculated using the trapezoidal method and integrated throughout the experiment (0-600 min) and between 0 and 300 minutes and 300 and 600 minutes.

Statistical analysis

The results at specific time points and the areas under the curve (AUCs) were expressed as mean \pm Standard Error of the Mean (SEM).

A power calculation was performed using as the study primary endpoint the difference in appearance of exogenous glucose in plasma and was also based on a previous study examining fermentation of a resistant dextrin through breath hydrogen excretion in healthy subjects ³⁸. According to previous studies, 12 subjects per group

provided $> 80\%$ power to detect a significant difference in the total quantity of exogenous glucose appearing in the plasma between the two groups, when investigating differences in postprandial glucose kinetics, at the $p < 0.05$ level^{39,40}. For each parameter, normality was checked before testing. Significant differences between products for AUCs kinetics and peaks were assessed using a paired-sample t test for normally distributed data. To compare the response to test meals, an analysis of variance (ANOVA) for repeated measures with product and time as within-participant factors was used to determine difference between products, over time course, and for the interaction meal x time. When there was a significant meal x time interaction, the difference between meals at specific time points was tested a paired-sample t test. Statistical significance was inferred at $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using Statview v 5.0 (SAS Institute, Cary, NC) software.

Results

Combined $^{13}\text{CO}_2/\text{H}_2$ breath tests analysis

Figure 1 shows the breath hydrogen excretion profile for 10 hours following NUTRIOSE[®]10 or malto ingestion. Little H_2 excretion occurred after malto consumption, when the ingestion of NUTRIOSE[®]10 induced an increase in breath H_2 (excretion peak 36 ± 6 ppm for NUTRIOSE[®]10 *versus* 20 ± 3 ppm for malto, $p=0.05$). The AUC for breath hydrogen was also significantly higher with the NUTRIOSE[®]10 ($p=0.008$).

Figure 1 also presents the kinetics of $\text{APE}_{\text{cor}} \text{CO}_2$, which represents the % of $^{13}\text{CO}_2$ from oxidation of ingested test product which appears in expired CO_2 . Following test breakfast ingestion, the appearance of $^{13}\text{CO}_2$ increased for the 2 products, but the appearance was twice lower after the NUTRIOSE[®]10 (main product effect, $p<0.0001$ and peak of $\text{APE}_{\text{cor}} \text{CO}_2$: 7.86 ± 0.43 % with

NUTRIOSE[®]10 *vs* 17.43 ± 0.42 % with malto, $p<0.0001$). After lunch ingestion at T300, the pattern of $\text{APE}_{\text{cor}} \text{CO}_2$ significantly differed: $\text{APE}_{\text{cor}} \text{CO}_2$ still decreased after malto until T600, whereas it remained steadier after NUTRIOSE[®]10 (significant interaction x time and main product effect, $p<0.0001$).

Metabolites concentration kinetics in plasma

Figure 2 shows the kinetics of APE_{cor} plasma glucose, which represents the % of plasma ^{13}C -glucose from ingested test product which appears in plasma following test breakfast ingestion. The appearance of exogenous ^{13}C -glucose from test product first increased thanks to glucose intestinal absorption, and then rapidly decreased after T60. When comparing the 2 products' kinetics, the NUTRIOSE[®]10 curve was significantly lower all throughout the experiment (significant product x time interaction and main product effect, $p<0.0001$). The peak of APE_{cor} plasma glucose was also significantly lower (26.36 ± 1.74 % with NUTRIOSE[®]10 *vs* 61.32 ± 1.65 % with malto, $p<0.0001$).

The glycemic response was significantly lower over the 300 minutes after ingestion of NUTRIOSE[®]10 breakfast (Figure 3). There was a significant product x time interaction ($p=0.03$) and a significant product effect ($p<0.0001$). Post-breakfast glucose peak was also significantly lower after NUTRIOSE[®]10 (7.6 ± 0.25 mmol/l with NUTRIOSE[®]10 *vs* 9.50 ± 0.44 mmol/l after malto, $p=0.01$). Consequently, the early AUC glycemia was significantly lower also after NUTRIOSE[®]10 ($\text{AUC}_{0-150\text{min}} p = 0.03$). Plasma insulin response was also significantly lower after ingestion of NUTRIOSE[®]10 breakfast (Figure 3), with a significant product x time interaction ($p<0.0001$), a significant product effect ($p=0.0004$), a lower insulinemic peak (58.5 ± 10.6 mU/l with NUTRIOSE[®]10 *vs* 118.0 ± 17.5 mU/l after malto, $p=0.0002$) and a lower AUC $_{0-300\text{min}}$ ($p=0.002$). There was no difference

between products for glycemic and insulinemic responses to lunch (at T300).

As can be seen on figure 4, following breakfast, ghrelin concentration decreased at a lesser extent with NUTRIOSE[®]10 than with malto and remained steadier (significant product x time interaction, $p < 0.0001$). As a consequence, at T300 just before lunch ingestion, ghrelin concentration was significantly lower after NUTRIOSE[®]10 (934 ± 103 pg/ml with NUTRIOSE[®]10 vs 1141 ± 91 pg/ml with malto, $p = 0.03$) and ghrelin concentration curve remained lower after NUTRIOSE[®]10 from T300 (lunch) to T600.

Substrate oxidation

Post-breakfast CO₂ production, VCO₂, as measured by indirect calorimetry, was lower following NUTRIOSE[®]10 ingestion. But, after lunch, from T300min to T600min, there was no more difference in VCO₂ between NUTRIOSE[®]10 and malto (data not shown). Following breakfast ingestion, glucose oxidation was reduced with NUTRIOSE[®]10 compared to malto. The quantity of total carbohydrate oxidized over the 600-minute period (defined as the AUC carbohydrate oxidation) was lower after NUTRIOSE[®]10 ($p = 0.08$). In parallel, lipid oxidation tended to be higher for the first 300 minutes. However, difference between products was not significant in term of quantity of total lipid oxidized (data not shown).

Discussion

This study demonstrated that NUTRIOSE[®]10, a resistant dextrin, presented a prolonged oxidation pattern that was parallel to its fermentation in colon. Thanks to the ¹³C-labelling of test products, this phenomenon has been highlighted by the simultaneous use of two breath markers: ¹³CO₂ as marker of test products oxidation and H₂ as marker of test products fermentation. Interestingly, this late oxidation was parallel to a reduction of ghrelin level at lunch, although the caloric

content of the NUTRIOSE[®]10 breakfast was lower (100 kcal). This could be one potential link between fermentation of dietary fibers and their satietogenic effect.

As indicated by the breath H₂ levels, colonic fermentation was significantly increased after the NUTRIOSE[®]10 breakfast compared to the malto breakfast. When measuring the appearance of ¹³CO₂ from oxidation of test products, we saw a first larger increase of APE_{cor} CO₂ for malto that reflected malto intestinal digestion and further oxidation. In the same time, the increase of APE_{cor} CO₂ for NUTRIOSE[®]10 was significantly lower, (only about 20% of the fiber is digested in the small intestine,²⁹). This was confirmed by the reduced appearance of exogenous ¹³C-glucose in plasma from test products. Then, the oxidation of malto decreased, when the oxidation of NUTRIOSE[®]10 remained steady and prolonged until T600. In the same time, VCO₂ kinetics were not different between products, indicating that the observed difference in product oxidation could not be allocated to a difference in CO₂ production rate.

The maintenance of ¹³CO₂ excretion from NUTRIOSE[®]10 oxidation was parallel to the H₂ increase due to fermentation of the fiber. Colonic bacterial fermentation results in the production of SCFAs (acetate, butyrate and propionate) together with gases and heat^{41,42}, with the proportion of different SCFAs depending on the substrate and eventually on gut microflora⁴³. Colonic epithelial cells use SCFAs for their metabolism, more particularly butyrate⁴⁴. Once absorbed in the colon, residual butyrate, acetate and propionate are extracted from portal circulation by the liver. Acetate is then taken up by peripheral tissues like muscles to be metabolized⁴⁵. Propionate could have a neoglucogenic effect in the liver^{46,15,47}, as also demonstrated in hepatocytes⁴⁸ and in ruminants⁴⁴. In the present study, the prolonged appearance of ¹³CO₂ was of particular interest. We hypothesized that SCFAs produced by the fermentation of

NUTRIOSE®10 (¹³C- labelled) in the colon could be used as neoglucogenic substrates before being oxidized. Another possible explanation could be that ¹³C-labelled SCFAs produced could be oxidized in colonocytes or other tissues. Thus, the colonic fermentation of NUTRIOSE®10 provided a more sustained energy supply for oxidation.

One of the main findings of the present study was also the significant smoothing of daylong ghrelin profile after NUTRIOSE®10 ingestion. Several gastrointestinal hormones (ghrelin, CCK, GLP-1, PYY) regulate satiety and appetite⁴⁹, and dietary fiber action on satiety may be mediated via these actors. Following NUTRIOSE®10 ingestion, post-breakfast ghrelin concentration was decreased at a lesser extent than after malto. Then, ghrelin concentration was significantly lower just before lunch ingestion and remained lower all through the day. The ingestion of maltodextrin or complex carbohydrates has been shown to decrease ghrelin concentrations⁵⁰, in proportion of their energy content⁵¹. Indeed, Callahan showed that the decline in ghrelin was all the more strong and prolonged that the ingested meal was high in calories⁵¹. This is in accordance with the present results, as NUTRIOSE®10 supplied twice less calories than the maltodextrin, and induced an acute weaker decrease in ghrelin response at breakfast. As caloric content of the NUTRIOSE®10 breakfast was lower than the malto breakfast, a greater rebound of ghrelin level were expected 5 hours following breakfast ingestion. But actually, with NUTRIOSE®10 breakfast, ghrelin concentration was still not back to its baseline level at lunch. This suggested a late effect of NUTRIOSE®10 that may be related to fermentation process that took place up to 6 hours following fiber ingestion. Up to now, the effect of dietary fiber on ghrelin postprandial suppression has not been fully clarified, mainly because scarce studies have been performed, with numerous different dietary fibers

presenting different properties²⁸. In Juvonen's study, the decrease in postprandial ghrelin (0-180 min) was greater with high-viscosity oat bran beverage than with low-viscosity beverage. However, ghrelin concentration just before lunch and food intake and appetite ratings at subsequent lunch were not affected⁵². Soluble arabinoxylan (6g) in breakfast induced a shorter postprandial decrease in ghrelin compared to control breakfast⁵³ but soluble psyllium fiber (23g) added to a 300 kcal meal did not alter postprandial ghrelin profile²⁸. When added to bread matrix, 10g of insoluble wheat fiber blunted postprandial decrease in ghrelin when 10g of soluble oat fibre did not, once again postprandial hunger scores were not altered²³. Another insoluble fiber, carob pulp, did not decrease total ghrelin concentration but affected the active form acetylated ghrelin⁵⁴. Such discrepancies *may* come from type of ghrelin measured and/or type of fibers. As previously shown, postprandial ghrelin concentration may require a post-gastric feedback⁵⁰. Among proposed regulatory factors, an inhibitory effect of insulin on ghrelin response has been proposed⁵⁵. Presently, as insulin response to breakfast was decreased with NUTRIOSE®10, the inhibitory effect of insulin on ghrelin may have been consequently reduced. However, this effect is still discussed, and supported by some authors^{56,50,55,57} but not all^{58,59}. Together, these results suggested a potential effect of resistant fiber on ghrelin levels, that may be mediated through a prolonged energy release by fermentation.

A limitation of the present results analysis could be that we did not performed satiety scores in parallel to ghrelin concentration measurement. However, in order to acutely characterize satiety feelings, such ratings of satiety remained subjective and could have been highly altered by experimental conditions (clinical research context, hospital environment).

The ingestion of NUTRIOSE®10 significantly decreased glycemic as well as

insulinemic responses to breakfast. This blunted plasma glucose response at breakfast compared to malto was consistent with the reduced appearance of exogenous ^{13}C -glucose in plasma reflecting a diminution of glucose absorption from NUTRIOSE[®]10 in the small intestine, due to many non-digestible glucoside linkages²⁹. This effect was in accordance with previous intervention studies investigating soluble fibers effects on postprandial glucose metabolism^{60,4,61,5-7,62}. As for resistant starches, the reduced glycemic response to breakfast could be linked to the reduced digestibility of NUTRIOSE[®]10 in the small intestine. Presently, this acute lower glycemic response at breakfast was not predictive of a lower glycemic response at the subsequent lunch. Such second-meal effect has been reported in several studies⁶³⁻⁶⁷. However, the implication of fermentation *per se* in second-meal effect is still debated in the semi-acute frame between breakfast and lunch^{64,67}. In conclusion, the present results demonstrated that the oxidation of NUTRIOSE[®]10, a highly resistant dextrin, was prolonged over 10 hours following its ingestion at breakfast. Such prolonged energy release from NUTRIOSE[®]10 may be linked to its colonic fermentation resulting in production of SCFAs that can act as neoglucogenic substrates for late oxidation.

Interestingly, NUTRIOSE[®]10 ingestion at breakfast induced in parallel a significant reduction of satiety-related ghrelin level at the subsequent lunch, even if the caloric load ingested at breakfast was lower. Fermentation of dietary fiber may be involved in modulating ghrelin and satiety possibly through prolonged energy released from fermentation. This reduction in ghrelin level may lead to a decrease in food intake, but relevance of such effects should be evidenced in the long term.

Thus, resistant dextrins, such as NUTRIOSE[®]10, present beneficial metabolic properties and could be considered as potential dietary tools to improve the regulation of food intake and body weight.

Acknowledgements

We thank all the staff of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes and more particularly C. Maitrepierre, J. Peyrat, C. Louche-Pélissier and M. Sothier for their excellent technical assistance in subject recruitment, sample collection and analysis, and dietary surveys, and Pr F. Mion and A. Gagne for expertise in breath H_2 analysis. We thank also C. Fouache, B. Toursel, O. Calande from Roquette Frères for their assistance in product manufacturing.

This study was financially supported Roquette frères.

Literature cited

1. Würsch, P. & Pi-Sunyer, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. *Diabetes Care* **20**, 1774-1780 (1997).
2. Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W. & Sacks, F.M. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr* **69**, 30-42 (1999).
3. Braaten, J.T. et al. Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load. *Am. J. Clin. Nutr* **53**, 1425-1430 (1991).
4. Tappy, L., Gügölz, E. & Würsch, P. Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. *Diabetes Care* **19**, 831-834 (1996).
5. Bourdon, I. et al. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *Am. J. Clin. Nutr* **69**, 55-63 (1999).
6. Juntunen, K.S. et al. Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr* **75**, 254-262 (2002).
7. Kabir, M. et al. Four-week low-glycemic index breakfast with a modest amount of soluble fibers in type 2 diabetic men. *Metab. Clin. Exp* **51**, 819-826 (2002).
8. Behall, K.M., Scholfield, D.J., Hallfrisch, J.G. & Liljeberg-Elmståhl, H.G.M. Consumption of both resistant starch and beta-glucan improves postprandial plasma glucose and insulin in women. *Diabetes Care* **29**, 976-981 (2006).
9. Burton-Freeman, B. Dietary fiber and energy regulation. *J. Nutr* **130**, 272S-275S (2000).
10. Slavin, J.L. Dietary fiber and body weight. *Nutrition* **21**, 411-418 (2005).
11. Jenkins, D.J. et al. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. *Br Med J* **1**, 1392-1394 (1978).
12. Brennan, C.S. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Mol Nutr Food Res* **49**, 560-570 (2005).
13. Wolever, T.M., Spadafora, P. & Eshuis, H. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *Am. J. Clin. Nutr* **53**, 681-687 (1991).
14. Thorburn, A., Muir, J. & Proietto, J. Carbohydrate fermentation decreases hepatic glucose output in healthy subjects. *Metab. Clin. Exp* **42**, 780-785 (1993).
15. Venter, C.S., Vorster, H.H. & Cummings, J.H. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *Am. J. Gastroenterol* **85**, 549-553 (1990).
16. Robertson, M.D., Bickerton, A.S., Dennis, A.L., Vidal, H. & Frayn, K.N. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *Am. J. Clin. Nutr* **82**, 559-567 (2005).
17. Cani, P.D., Dewever, C. & Delzenne, N.M. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br. J. Nutr* **92**, 521-526 (2004).
18. Pereira, M.A. & Ludwig, D.S. Dietary fiber and body-weight regulation. Observations and mechanisms. *Pediatr. Clin. North Am* **48**, 969-980 (2001).
19. Berti, C., Riso, P., Brusamolino, A. & Porrini, M. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *Br. J. Nutr* **94**, 850-858 (2005).
20. Delzenne, N.M., Cani, P.D., Daubioul, C. & Neyrinck, A.M. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *Br. J. Nutr* **93 Suppl 1**, S157-161 (2005).
21. Holt, S.H., Delargy, H.J., Lawton, C.L. & Blundell, J.E. The effects of high-carbohydrate vs high-fat breakfasts on feelings of fullness and alertness, and subsequent food intake. *Int J Food Sci Nutr* **50**, 13-28 (1999).

22. Pasman, W.J., Saris, W.H., Wauters, M.A. & Westerterp-Plantenga, M.S. Effect of one week of fibre supplementation on hunger and satiety ratings and energy intake. *Appetite* **29**, 77-87 (1997).
23. Weickert, M.O. et al. Wheat-fibre-induced changes of postprandial peptide YY and ghrelin responses are not associated with acute alterations of satiety. *Br. J. Nutr* **96**, 795-798 (2006).
24. Cummings, D.E. et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* **50**, 1714-1719 (2001).
25. Shiiya, T. et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **87**, 240-244 (2002).
26. Tschöp, M. et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J. Endocrinol. Invest* **24**, RC19-21 (2001).
27. Cummings, D.E., Foster-Schubert, K.E. & Overduin, J. Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. *Curr Drug Targets* **6**, 153-169 (2005).
28. Karhunen, L.J., Juvonen, K.R., Huotari, A., Purhonen, A.K. & Herzig, K.H. Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. *Regul. Pept* **149**, 70-78 (2008).
29. van den Heuvel, E.G.H.M., Wils, D., Pasman, W.J., Saniez, M. & Kardinaal, A.F.M. Dietary supplementation of different doses of NUTRIOSE FB, a fermentable dextrin, alters the activity of faecal enzymes in healthy men. *Eur J Nutr* **44**, 445-451 (2005).
30. Schoeller, D.A., Klein, P.D., Watkins, J.B., Heim, T. & MacLean, W.C. 13C abundances of nutrients and the effect of variations in 13C isotopic abundances of test meals formulated for 13CO₂ breath tests. *Am. J. Clin. Nutr* **33**, 2375-2385 (1980).
31. Lifschitz, C.H., Grusak, M.A. & Butte, N.F. Carbohydrate digestion in humans from a beta-glucan-enriched barley is reduced. *J. Nutr* **132**, 2593-2596 (2002).
32. Symonds, E.L., Kritas, S., Omari, T.I. & Butler, R.N. A combined 13CO₂/H₂ breath test can be used to assess starch digestion and fermentation in humans. *J. Nutr* **134**, 1193-1196 (2004).
33. Tissot, S. et al. Use of a new gas chromatograph isotope ratio mass spectrometer to trace exogenous 13C labelled glucose at a very low level of enrichment in man. *Diabetologia* **33**, 449-456 (1990).
34. Tserng, K.Y. & Kalhan, S.C. Estimation of glucose carbon recycling and glucose turnover with [U-13C] glucose. *Am. J. Physiol* **245**, E476-482 (1983).
35. Normand, S. et al. 13C appearance in plasma glucose and breath CO₂ during feeding with naturally 13C-enriched starchy food in normal humans. *Am. J. Clin. Nutr* **55**, 430-435 (1992).
36. Arock, M., Desnault, H., Viars, P. & Guillosson, J.J. [Determination of total nitrogen in biological milieux by chemoluminescence: a comparison with the reference method]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **43**, 872-874 (1985).
37. Ferrannini, E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metab. Clin. Exp* **37**, 287-301 (1988).
38. van den Heuvel, E.G.H.M. et al. Short-term digestive tolerance of different doses of NUTRIOSE FB, a food dextrin, in adult men. *Eur J Clin Nutr* **58**, 1046-1055 (2004).
39. Normand, S. et al. Influence of dietary fat on postprandial glucose metabolism (exogenous and endogenous) using intrinsically (13)C-enriched durum wheat. *Br. J. Nutr* **86**, 3-11 (2001).
40. Nazare, J. et al. Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects: effects on glucose and insulin kinetics. *Mol Nutr Food Res* **53**, 361-369 (2009).
41. Topping, D.L. & Clifton, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev* **81**, 1031-1064 (2001).

42. Cummings, J.H. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut* **22**, 763-779 (1981).
43. Weickert, M.O. & Pfeiffer, A.F.H. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J. Nutr* **138**, 439-442 (2008).
44. Cummings, J.H. & Englyst, H.N. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am. J. Clin. Nutr* **45**, 1243-1255 (1987).
45. Skutches, C.L., Holroyde, C.P., Myers, R.N., Paul, P. & Reichard, G.A. Plasma acetate turnover and oxidation. *J. Clin. Invest* **64**, 708-713 (1979).
46. Wong, J.M.W. & Jenkins, D.J.A. Carbohydrate digestibility and metabolic effects. *J. Nutr* **137**, 2539S-2546S (2007).
47. Wolever, T.M., Brighenti, F., Royall, D., Jenkins, A.L. & Jenkins, D.J. Effect of rectal infusion of short chain fatty acids in human subjects. *Am. J. Gastroenterol* **84**, 1027-1033 (1989).
48. Anderson, J.W. & Bridges, S.R. Short-chain fatty acid fermentation products of plant fiber affect glucose metabolism of isolated rat hepatocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* **177**, 372-376 (1984).
49. Cummings, D.E. & Shannon, M.H. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight. *Arch Surg* **138**, 389-396 (2003).
50. Blom, W.A.M. et al. Ghrelin response to carbohydrate-enriched breakfast is related to insulin. *Am. J. Clin. Nutr* **81**, 367-375 (2005).
51. Callahan, H.S. et al. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **89**, 1319-1324 (2004).
52. Juvonen, K.R. et al. Viscosity of oat bran-enriched beverages influences gastrointestinal hormonal responses in healthy humans. *J. Nutr* **139**, 461-466 (2009).
53. Möhlig, M. et al. Arabinoxylan-enriched meal increases serum ghrelin levels in healthy humans. *Horm. Metab. Res* **37**, 303-308 (2005).
54. Gruendel, S. et al. Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fiber and polyphenols enhances lipid oxidation and lowers postprandial acylated ghrelin in humans. *J. Nutr* **136**, 1533-1538 (2006).
55. Saad, M.F. et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **87**, 3997-4000 (2002).
56. Flanagan, D.E. et al. The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* **284**, E313-316 (2003).
57. Erdmann, J., Töpsch, R., Lippl, F., Gussmann, P. & Schusdziarra, V. Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **89**, 3048-3054 (2004).
58. Caixás, A., Bashore, C., Nash, W., Pi-Sunyer, F. & Laferrère, B. Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **87**, 1902 (2002).
59. Schaller, G. et al. Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes* **52**, 16-20 (2003).
60. Anderson, J.W., Allgood, L.D., Turner, J., Oeltgen, P.R. & Daggy, B.P. Effects of psyllium on glucose and serum lipid responses in men with type 2 diabetes and hypercholesterolemia. *Am. J. Clin. Nutr* **70**, 466-473 (1999).
61. Liljeberg, H.G., Granfeldt, Y.E. & Björck, I.M. Products based on a high fiber barley genotype, but not on common barley or oats, lower postprandial glucose and insulin responses in healthy humans. *J. Nutr* **126**, 458-466 (1996).
62. Behall, K.M., Scholfield, D.J. & Hallfrisch, J. Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am. J. Clin. Nutr* **80**, 1185-1193 (2004).

63. Jenkins, D.J. et al. Slow release dietary carbohydrate improves second meal tolerance. *Am. J. Clin. Nutr* **35**, 1339-1346 (1982).
64. Liljeberg, H.G., Akerberg, A.K. & Björck, I.M. Effect of the glycemic index and content of indigestible carbohydrates of cereal-based breakfast meals on glucose tolerance at lunch in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr* **69**, 647-655 (1999).
65. Wolever, T.M., Jenkins, D.J., Ocana, A.M., Rao, V.A. & Collier, G.R. Second-meal effect: low-glycemic-index foods eaten at dinner improve subsequent breakfast glycemic response. *Am. J. Clin. Nutr* **48**, 1041-1047 (1988).
66. Nilsson, A., Granfeldt, Y., Ostman, E., Preston, T. & Björck, I. Effects of GI and content of indigestible carbohydrates of cereal-based evening meals on glucose tolerance at a subsequent standardised breakfast. *Eur J Clin Nutr* **60**, 1092-1099 (2006).
67. Brighenti, F. et al. Colonic fermentation of indigestible carbohydrates contributes to the second-meal effect. *Am. J. Clin. Nutr* **83**, 817-822 (2006).

TABLES AND FIGURES

TABLE 1: Macronutrient composition of the 2 test breakfasts (NUTRIOSE[®]10 and Malto) of the standardized lunch.

	Serving size	Proteins	Lipids	Total CHO	Fiber	Energy
	g	g	g	g	g	kcal
NUTRIOSE[®]10 breakfast						
4 toasts	30	3.2	1.2	23.6	1.2	124
Butter	20	0.1	16.6	0.1	0	150
NUTRIOSE [®] 10 (100ml solution)	50	0	0	50	50	100
Total		3.3	17.8	73.7		374
Malto Breakfast						
4 toasts	30	3.2	1.2	23.6	1.2	124
Butter	20	0.1	16.6	0.1	0	150
GLUCIDEX (100ml solution)	50	0	0	50	50	200
Total		3.3	17.8	73.7		474
Standardized lunch						
Ham	50	9	0.6	0	0	57
Rice	200	4.6	0.4	52.6	1	238
2 toasts	15	1.4	1.1	11.4	0.6	62
Cheese	30	8.7	9.4	0	0	113
Total		23.7	11.5	64	1.6	470

FIGURE 1: Kinetics of breath hydrogen (H_2) and $APE_{cor} CO_2$ (% of $^{13}CO_2$ from oxidation of ingested test product) after consumption of NUTRIOSE[®]10 breakfast (white squares) or malto breakfast (black squares). Data are presented as mean \pm SEM. A standardized HGI lunch was ingested at $t=300$ min. H_2 excretion was significantly reduced by NUTRIOSE[®]10 ingestion ($p<0.0001$). $APE_{cor} CO_2$ was significantly reduced after consumption of NUTRIOSE[®]10 ($p<0.0001$). After T300, $APE_{cor} CO_2$ remained steadier after consumption of NUTRIOSE[®]10 but decreased after consumption of malto ($p<0.0001$).

FIGURE 2: Kinetics of APE_{cor} plasma glucose (% of ^{13}C glucose from ingested test product) after consumption of NUTRIOSE[®]10 breakfast (white squares) or malto breakfast (black squares). Data are presented as mean \pm SEM. A standardized HGI lunch was ingested at $t=300$ min. APE_{cor} plasma glucose was significantly reduced after consumption of NUTRIOSE[®]10 ($p<0.0001$).

FIGURE 3: Mean (\pm SEM) plasma glucose and insulin responses after consumption of NUTRIOSE[®]10 breakfast (white squares) or malto breakfast (black squares). Data are presented as mean \pm SEM. A standardized HGI lunch was ingested at $t=300$ min. Glycemic and insulinemic responses to breakfast were significantly lower with NUTRIOSE[®]10 compared to malto (piaks and AUC, $p<0.05$). But there was no significant difference between products (NUTRIOSE[®]10 and malto) for glycemic and insulinemic responses to lunch ingestion. (* $p<0.05$ at specific time points).

FIGURE 4: Mean (\pm SEM) plasma ghrelin responses after consumption of NUTRIOSE[®]10 breakfast (white squares) or malto breakfast (black squares). Data are presented as mean \pm SEM. A standardized HGI lunch was ingested at $t=300$ min. Ghrelin concentration decreased at a lesser extend following NUTRIOSE[®]10 breakfast and then remained steadier until T600 ($p<0.0001$). At T300, just before lunch, ghrelin concentration was significantly lower with NUTRIOSE[®]10 ($p=0.03$).

Figure 1

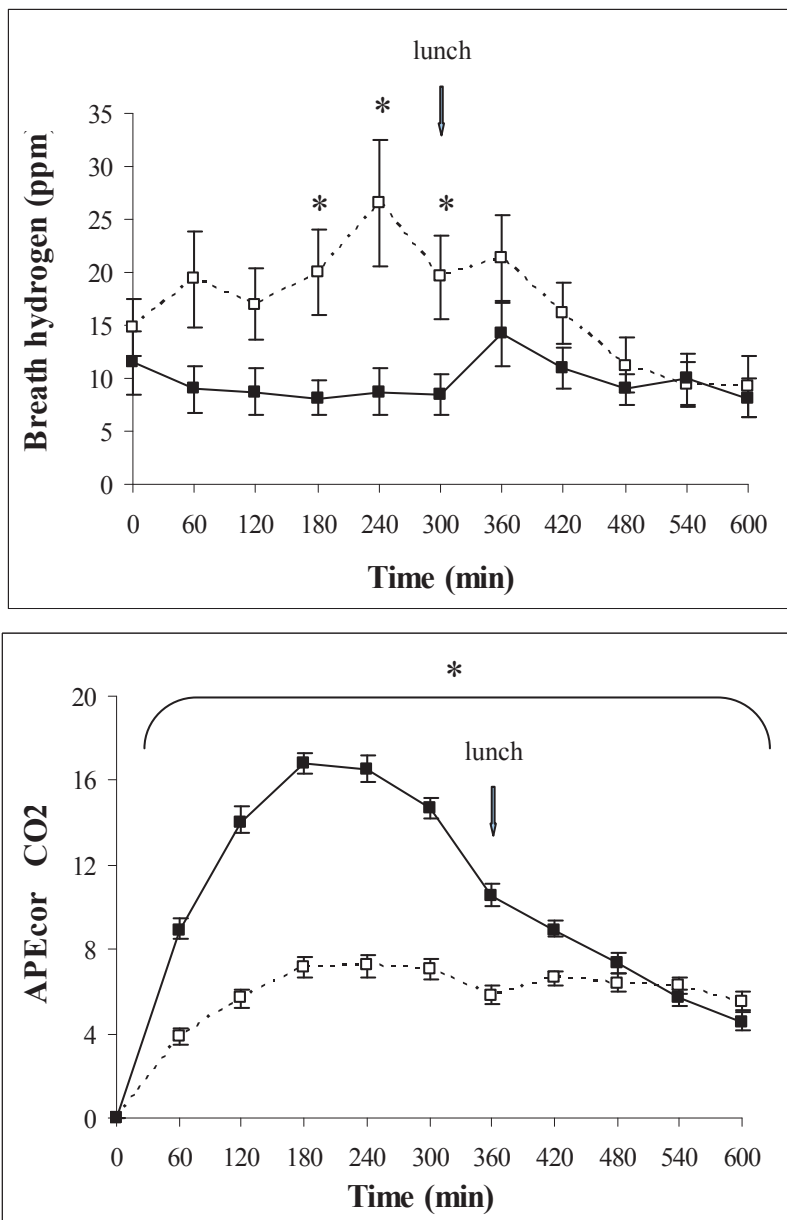


Figure 2

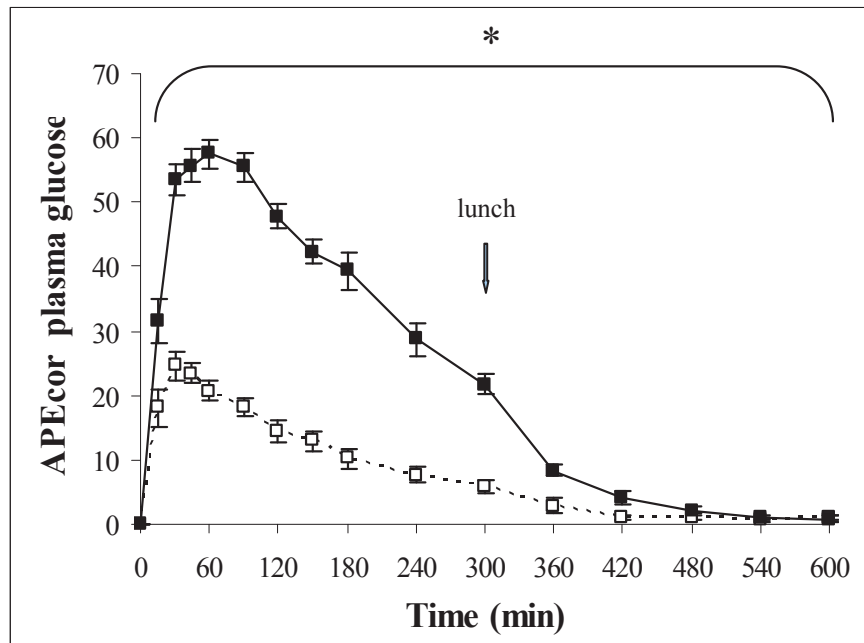


Figure 3

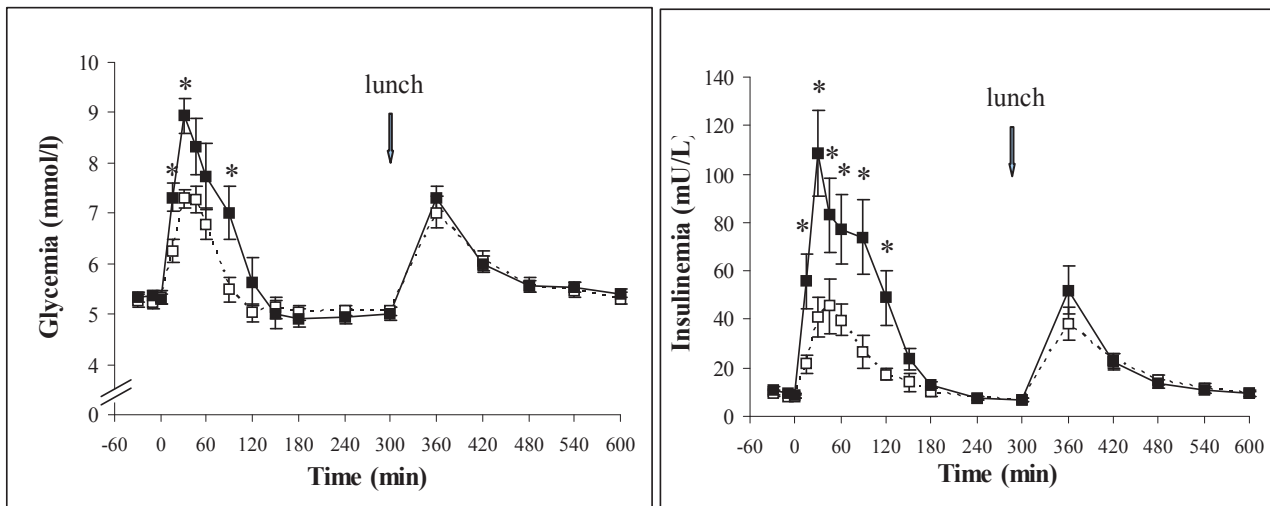
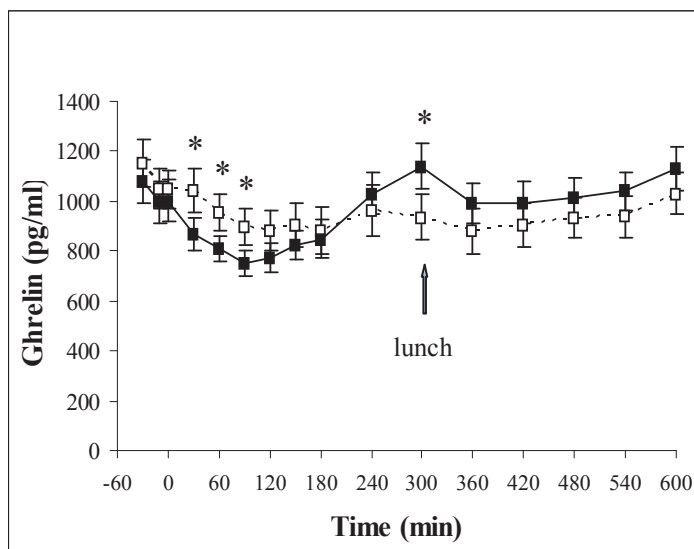


Figure 4



Discussion

Dans un premier temps, cette étude a permis de caractériser le devenir métabolique de la dextrine résistante NUTRIOSE[®]10 en suivant en parallèle son profil de fermentation et d'oxydation. La mesure simultanée des deux marqueurs ¹³CO₂ et H₂ a permis de caractériser l'origine du CO₂ provenant de l'oxydation des produits test (Lifschitz et al. 2002; Symonds et al. 2004). Nous avons mis en évidence une oxydation plus faible mais prolongée de la fibre NUTRIOSE[®]10 qui est à mettre en parallèle de son profil de fermentation.

La fermentation colique et la production induite d'AGCC dépendent fortement du type de glucide ingéré (Wong et al. 2006). Une fois absorbés, les AGCC sont métabolisés en 3 sites principaux : 1) l'épithélium intestinal et colique utilise le butyrate comme source principale d'énergie, 2) le foie capte le butyrate résiduel, le propionate utilisé pour la néoglucogénèse, et une partie de l'acétate (Cummings & Englyst 1987). La fermentation du NUTRIOSE[®]10 produit majoritairement du propionate (données non publiées). Le propionate semble avoir deux effets opposés sur la néoglucogénèse. D'un côté, il est un substrat de la néoglucogénèse, et de l'autre il inhibe la glycolyse et la néoglucogénèse, probablement via une action sur la pyruvate carboxylase (Blair et al. 1973; Wong et al. 2006). Le propionate pourrait aussi influencer le métabolisme hépatique du glucose de manière indirecte en diminuant les concentrations en AGNE, qui jouent sur la néoglucogénèse (Wong et al. 2006). Chez les ruminants, le propionate est crucial car il est utilisé pour la synthèse du glucose dans le foie. Chez l'homme, le propionate induit une augmentation de la glycémie par un effet dose réponse (Wolever et al. 1991), ceci suggérant son effet néoglucogénique in vivo, comme cela a été démontré in vitro (Chan & Freedland 1972) et de manière très importante chez les ruminants (Hooper et al. 2002).

Notre hypothèse était donc que la fermentation du ¹³C-NUTRIOSE[®]10 a produit du propionate marqué lui-même au ¹³C, qui pourrait avoir été utilisé comme substrat néoglucogénique. Ceci pourrait expliquer l'apparition tardive de ¹³CO₂ dans les échantillons respiratoires, reflet d'une oxydation prolongée de produits issus du ¹³C-NUTRIOSE[®]10. Une autre hypothèse pourrait être l'oxydation d'autres AGCC issus du NUTRIOSE[®]10 dans les colonocytes ou autres tissus.

En parallèle, nous avons mis évidence une réduction de la glycémie et de l'insulinémie plasmatiques, qui fait suite à une moindre absorption intestinale du glucose à partir du NUTRIOSE[®]10, comme attendu de par ses nombreuses liaisons glucosidiques non digestibles (van den Heuvel et al. 2005). Nous n'avons pas observé d'effet second-repas

suite à l'ingestion de NUTRIOSE®10, la réponse au déjeuner n'a pas été altérée par le type de petit-déjeuner ingéré. Comme discuté précédemment, l'effet potentiel bénéfique du petit-déjeuner sur le déjeuner serait lié à un ralentissement de l'absorption (Wolever et al. 1995; Granfeldt et al. 2006; Brighenti et al. 2006) plutôt qu'à un phénomène de fermentation (phénomène plus tardif, entre 4 et 6 heures après ingestion)(Levine et al. 1989; Nilsson et al. 2008). Dans cette étude, la diminution de la réponse glycémique réduit aussi la réponse insulinique. En parallèle, la lipolyse était moins inhibée suite à l'ingestion du petit-déjeuner mais de manière prolongée, et la concentration en AGNE juste avant le déjeuner était significativement plus faible après le NUTRIOSE®10. Mais ceci n'était pas associé à une réduction de la glycémie au déjeuner comme cela a été suggéré (Wolever et al. 1995; Brighenti et al. 2006 ; Granfeldt et al. 2006).

En ce qui concerne la ghréline, la moindre inhibition de la sécrétion de ghréline en réponse au petit-déjeuner NUTRIOSE®10 est en accord avec les résultats d'une étude de Callahan qui démontrait que la réponse de ghréline était fonction du nombre de calories ingérées (Callahan et al. 2004). De manière intéressante, nous n'observons pas de rebond plus précoce de la concentration de ghréline comme attendu après l'apport calorique plus faible du petit-déjeuner NUTRIOSE®10. Il pourrait s'agir ici d'un effet plus faible de régulation par l'insuline, dont la réponse postprandiale était plus faible. En effet, l'insuline pourrait aussi supprimer la sécrétion de ghréline (Murdolo et al. 2003; Flanagan et al. 2003a). Mais cette régulation insuline-ghréline reste discutée, soutenue par certains auteurs (Flanagan et al. 2003b; Blom et al. 2005; Saad et al. 2002; Erdmann et al. 2004) mais pas tous (Caixás et al. 2002; Schaller et al. 2003). En étudiant la concentration de ghréline en réponse à différents repas glucidiques, Blom a mis en évidence une corrélation négative entre la réponse insulinique et la concentration de ghréline au petit-déjeuner (Blom et al. 2005). Dans cette étude, nous n'avons pas mis en évidence une telle relation entre réponses ghréline et insuline au petit-déjeuner. Mais de manière intéressante, nous avons mis en évidence une corrélation positive entre les réponses insuliniques et glycémiques au petit-déjeuner et la concentration en ghréline suite à l'ingestion du déjeuner suivant. Ainsi, la modulation de la disponibilité en glucose, réduisant les réponses glycémiques et insuliniques postprandiales pourrait avoir un effet « second-repas » sur la concentration en ghréline au repas suivant.

Jusqu'à maintenant les études qui ont porté sur l'action des fibres sur la satiété et les niveaux de ghréline postprandiale n'ont pas toutes été concordantes, certainement à cause des propriétés différentes des fibres utilisées et des conceptions des études. Certaines fibres réduisent les concentrations de ghréline (Juvonen et al. 2009; Möhlig et al.

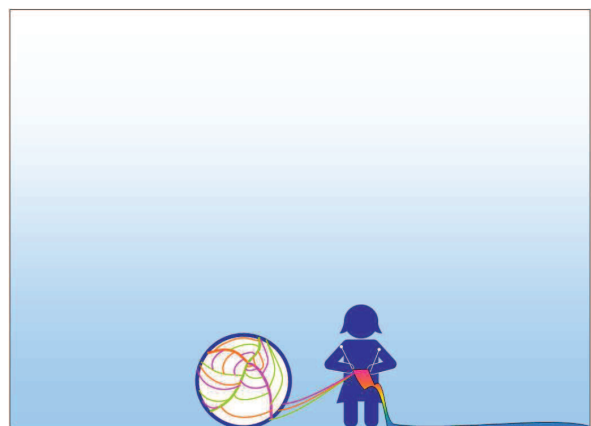
2005; Weickert et al. 2006) quand d'autres n'ont pas d'effet (Karhunen et al. 2008; Gruendel et al. 2006). Robertson a observé une augmentation de la ghréline après la supplémentation de 4 semaines d'amidon résistant (Robertson et al. 2005). De plus, si certaines fibres agissent sur les concentrations de ghréline, cet effet n'est pas forcément parallèle à une diminution de la prise alimentaire ou à une augmentation de la satiété (Weickert et al. 2006; Juvonen et al. 2009). Callahan a montré qu'il n'y avait pas de relation entre le profil de ghréline postprandial et l'intervalle interprandial (Callahan et al. 2004). De plus, Wolever a montré récemment que la réponse glycémique *per se* n'influençait pas la satiété en aigu, c'est-à-dire à 2 heures (Wolever et al. 2009).

Le contrôle de l'appétit serait influencé aussi par la quantité de glucides disponibles dans le repas. L'ingestion d'une certaine quantité de glucides serait nécessaire pour atteindre la satiété (Tremblay et al. 1991). Dans une étude récente de l'équipe d'Anderson, la consommation d'un petit-déjeuner riche en fibres insolubles (par rapport à un petit-déjeuner pauvre en fibres, ajustés en poids et volume), n'a pas entraîné de compensation en prise calorique au repas suivant (Hamedani et al. 2009). Le petit-déjeuner riche en fibres était pourtant presque 2 fois moins calorique à la base. L'énergie cumulée consommée au cours des deux repas était donc significativement plus faible après le petit-déjeuner riche en fibres insolubles. De plus, il a été proposé qu'une réduction du nombre quotidien de kcal ingéré de 100 kcal par jour serait significatif pour prévenir une prise de poids trop importante ainsi que le développement de l'obésité (Hill et al. 2003).

En conclusion, le lien entre fibres fermentescibles et satiété reste complexe et les mécanismes impliqués dans un effet satiétogène des fibres sont certainement multiples. Parmi ces mécanismes, un rôle potentiel des AGCC issus de la fermentation comme fournisseurs d'énergie à court terme a été envisagé ici, mais reste à confirmer.

CHAPITRE 6

Réflexions et perspectives



Une personne non diabétique passe environ la moitié de sa vie en état postprandial et il semble donc légitime d'étudier les facteurs qui permettent de réguler les variations de la glycémie en réponse à l'ingestion de nutriments. Les excursions glycémiques restent limitées chez le sujet sain, mais la dégradation du contrôle glycémique postprandial est une première étape vers l'intolérance au glucose qui augmente le risque de développer ultérieurement un diabète de type 2. Diminuer les excursions glycémiques et insulinémiques postprandiales pourrait donc être considéré comme favorable dans le cadre de la prévention et de la prise en charge diététique de l'insulino-résistance.

Dans les études que nous venons de présenter, nous avons utilisé divers ingrédients (fibres β -glucanes, amidon lentement digestible, dextrine résistante) pour moduler la réponse glycémique postprandiale dans le but de réduire les excursions glycémiques. Dans les 3 conditions expérimentales étudiées, grâce à l'utilisation des isotopes stables du glucose, nous avons pu mettre en évidence une réduction significative de la quantité de glucose exogène apparu dans le plasma lors de la première partie de la phase postprandiale (120 minutes). Cependant, les réponses glycémiques correspondantes n'ont pas été systématiquement réduites, et l'analyse des cinétiques de débit d'apparition et de disparition du glucose exogène et du glucose endogène, ainsi que celle de la réponse insulinique a permis d'appréhender les mécanismes de régulation de la réponse glycémique postprandiale globale chez les sujets sains en réponse à l'ingestion de fibres ou de produit d'IG bas.

De plus, en étendant l'analyse des paramètres métaboliques au-delà de 120 minutes, nous avons pu mettre en évidence les effets métaboliques à plus long terme du ralentissement et/ou de l'allongement et/ou de la réduction de la phase d'apparition du glucose dans le plasma sur la réponse métabolique en aigu (glycémie, insuline, AGNE,...) et au repas suivant, et sur l'oxydation des nutriments.

Modulation de la glycémie postprandiale : limites de l'IG ?

Comme cela a déjà été souligné (Ludwig 2007), l'analyse de l'IG ne permet pas seule d'appréhender tous les mécanismes sous-jacents à la régulation de la réponse glycémique en phase postprandiale. La mesure de l'IG, même si elle a soulevé diverses critiques, est une méthode utilisée très largement pour classifier les glucides en fonction de leur effet sur le métabolisme glucidique postprandial. De plus, de nombreuses études ont montré que la réponse glycémique entre 0 et 120 minutes était bien corrélée aux

facteurs de risque CV (Baltali et al. 2003; Heine et al. 2004; Karabulut et al. 2005; Ceriello et al. 2006).

La glycémie à 120 minutes est à la base un outil diagnostique de l'intolérance au glucose et du diabète de type 2. Cependant, l'utilisation et le métabolisme global du glucose dure plus de deux heures. Limiter le suivi des paramètres métaboliques postprandiaux à 120 minutes ne permet pas de mettre en évidence les effets à moyen terme des glucides. Ceci est plus particulièrement important pour l'étude des fibres et autres ingrédients lentement digestibles pour lesquels justement les effets métaboliques potentiellement bénéfiques (dont la fermentation) apparaissent au-delà de 2 heures. Ceci a bien été mis en évidence dans notre étude β -glucanes, dans laquelle les phénomènes observés sur la cinétique du glucose et sur la glycémie s'inversaient à partir de 90 à 120 minutes après l'ingestion du petit-déjeuner test.

D'autre part, comme certains experts, nous pensons que l'utilisation de l'aire sous courbe relative de la glycémie est un marqueur tout aussi important que l'aire sous courbe incrémentée (au-delà de la glycémie basale comme défini par la formule de l'IG) des changements métaboliques observés. En effet, cette ASC absolue est plus représentative des effets globaux, d'ailleurs les effets observés avec l'ASC sont souvent lissés par rapport aux valeurs incrémentées (Pi-Sunyer, 2002). L'ASC incrémentée permet, elle, de mettre en évidence des modifications plus fines de la glycémie. Dans les études présentées ici cependant, les sujets ne présentaient pas de différence en termes de glycémie basale (entre les journées tests ou entre les groupes) et par conséquent, les effets observés sur l'ASC ou l'iASC étaient les mêmes.

Comme nous l'avons vu, l'IG et la glycémie ne représentent pas une mesure directe de l'absorption intestinale des glucides, mais reflètent plutôt les effets combinés des différentes propriétés de la nourriture qui influencent le débit d'apparition et de disparition du glucose (endogène et exogène) dans la circulation. Cependant, les différents mécanismes responsables des modifications de la réponse glycémique à un repas ne sont pas tous égaux en matière d'impact métabolique et donc sur la santé. A ceci s'ajoute la difficulté à décrire les mécanismes mis en jeu et à discriminer les effets spécifiques d'un composant quand on s'intéresse à un repas mixte plutôt qu'à un aliment seul (Flint et al. 2004). L'apport du suivi des cinétiques de débit de renouvellement du glucose (apparition et disparition du glucose total et exogène et production endogène de glucose) après l'ingestion d'un aliment apparaît donc ici tout à fait approprié pour étudier au cas par cas, ces mécanismes. Un produit peut être qualifié d'IG bas car il a un faible débit d'apparition du glucose dans le sang ou parce qu'il a un débit d'utilisation relativement élevé.

De plus, qu'il s'agisse de l'IG ou de la CG, ces index ne prennent pas en compte la réponse insulinaire (Coulston et al. 1984); index glycémique et index insulinaire sont bien corrélés dans la plupart des cas (Björck et al. 2000), mais pas dans tous (Ostman et al. 2001). Par exemple, les produits laitiers ont un effet insulino-trope bien démontré du fait de certains de leurs acides aminés et induisent des réponses insulinaires plus élevées au vu des réponses glycémiques obtenues (Nilsson et al. 2004). De plus, le Rd (débit de disparition du glucose) est principalement dépendant de la sécrétion d'insuline et de son action sur les tissus (DeFronzo & Ferrannini 1982). Il a été précédemment montré dans notre centre de recherche que l'élévation glycémique était similaire pour la charge orale en glucose de 0,5 g/kg ou de 1 g/kg de poids corporel (Tissot et al. 1990). La réponse insulinaire plus importante dans le cas de la charge de 1 g/kg a permis de limiter l'excursion glycémique, par une inhibition plus importante de la production endogène de glucose. Ceci a pu être mis en évidence en utilisant des isotopes stables du glucose (^{13}C et ^2H glucose comme cela a été fait dans nos études).

Nous nous sommes donc intéressés dans nos études non seulement à la modulation de la glycémie postprandiale par l'étude des cinétiques du débit de renouvellement du glucose, mais aussi à son impact différentiel à court et moyen terme sur les réponses glycémique et insulinaire, la lipolyse et l'oxydation des substrats.

Modulation de la phase postprandiale du glucose :

... effet sur le profil insulinaire

Dans l'étude β -glucanes, la réponse insulinaire était significativement prolongée en parallèle à l'apparition prolongée du glucose exogène dans le plasma, comme cela a pu être mis en évidence grâce au marquage ^{13}C du glucose exogène. Nous avons observé que l'apparition du glucose dans le plasma ainsi que la glycémie étaient tout d'abord plus faibles après le repas additionné de fibres β -glucanes, puis le phénomène s'inversait à T120 du fait d'une prolongation de l'absorption du glucose. Par contre, comme le pic insulinaire n'était pas significativement diminué par l'ingestion de β -glucanes, la prolongation de l'apparition du glucose a induit une réponse insulinaire totale plus importante (120-360 minutes et 0-360 minutes).

Dans l'étude Eurostarch, nous n'avons pas observé de réduction significative de la réponse insulinaire suite à l'ingestion du repas LGI, comme attendu au vu de la diminution de l'apparition du glucose exogène dans le plasma. Cependant, la moindre inhibition de la

PEG, elle-même très sensible à l'insuline, pourrait être le reflet d'une réponse insulinique plus faible, que nous n'avons pas pu mettre en évidence du fait des écarts-types importants observés pour les concentrations en insuline (population hétérogène avec degré d'insulino-résistance variable et/ou manque de puissance).

Dans l'étude Nutriose (sujets sains de poids normal), la diminution de la glycémie postprandiale s'accompagnait cette fois d'une diminution significative de la réponse insulinique. Mais il faut cependant noter que la réduction de la réponse glycémique était plus significative que pour nos autres études. Comme discuté précédemment, ceci pourrait être le reflet d'une insulino-résistance même faible chez nos sujets en surpoids, qui expliquerait cette grande variabilité des réponses insuliniques atténuant les différences inter-repas.

Nous avons donc mis en évidence que l'ingestion de fibres ou d'amidon lentement digestible modulait l'apparition du glucose exogène dans le sang (diminution et/ou prolongation), influençant directement la cinétique de la réponse insulinique et par conséquent la PEG et la réponse glycémique globale.

D'autres travaux ont montré que les fibres insolubles pourraient avoir un effet sur le métabolisme du glucose via cette fois une accélération de la réponse insulinique et une augmentation de l'utilisation du glucose (Rd du glucose). En comparant deux petits-déjeuners à différents IG (131 ± 33 and 55 ± 7), le débit d'utilisation du glucose est apparu comme un déterminant majeur de l'hyperglycémie postprandiale (Schenk et al. 2003). Les auteurs ont observé que le petit-déjeuner IG bas a induit une réponse insulinique plus précoce que le petit-déjeuner IG haut, induisant une utilisation insulino-induite et une disparition plus rapides du glucose de la circulation vers les tissus utilisateurs. Cet effet était néanmoins lié à une plus grande proportion de protéines potentiellement insulintropes contenues dans le petit-déjeuner à IG bas. Nous n'avons pas observé de tels effets sur le débit de disparition du glucose ni dans l'étude β -glucanes, ni dans l'étude Eurostarch. D'autres auteurs ont proposé que cet effet sur le Rd pourrait être lié à une action sur la sécrétion de GIP, potentialisateur de la sécrétion d'insuline (Weickert et al. 2005).

En effet, un autre effet des fibres sur la réponse insulinique pourrait passer par une action sur les hormones type incrétines. La concentration plasmatique postprandiale en GLP-1 varie selon le type de glucide ingéré, ainsi elle augmente après l'ingestion de glucose mais pas après l'ingestion d'orge ou de riz complet (Elliott et al. 1993). L'effet des fibres sur le GLP-1 et le GIP a été peu étudié jusqu'à présent chez l'homme. Cependant, il

semblerait que les fibres modifient la concentration postprandiale de GLP-1, même si les études sont discordantes sur l'effet engendré, probablement à cause du type et/ou de la quantité de fibres étudiés (Karhunen et al. 2008), mais peut être aussi de la période d'observation, à court ou long terme. Par exemple, l'ingestion d'amidon résistant réduit la réponse du GLP-1 comparé à l'ingestion d'amidon digestible (Raben et al. 1994). Weickert rapporte que l'ingestion de pain enrichi en fibres accélère légèrement les réponses postprandiales de l'insuline et du GIP (Weickert et al. 2005). Si l'effet des fibres sur la sécrétion d'incrétines n'a pas encore été clairement explicité, il semblerait qu'il soit différent entre les fibres insolubles et les fibres solubles. Ces dernières augmenteraient les concentrations en GLP-1 circulant via une action des AGCC issus de la fermentation sur le niveau d'ARNm de GLP-1 chez le rat (Cani et al. 2004; Weickert & Pfeiffer 2008). Pour le moment chez l'homme, Cani a montré chez des sujets sains qu'une supplémentation en prébiotique (fibre fructane fermentescible, 16g par jour) augmentait la fermentation colique et les concentrations plasmatiques en GLP-1 et peptide YY suite à l'ingestion d'un repas test, en parallèle d'une diminution de la sensation de faim au cours de la journée (Cani et al. 2009). Mais dans cette étude, la réponse insulinaire n'était pas modifiée par la supplémentation en fibres. Un délai de 24h ne serait cependant pas suffisant pour réguler les niveaux d'ARNm de GLP-1, comme cela a été proposé à plus long terme (Robertson et al. 2005; Weickert et al. 2005). Wolever a montré chez des sujets hyperinsuliniques une augmentation de la production d'AGCC par fermentation colique et de la concentration plasmatique de GLP-1 suite à l'ingestion d'un régime riche en fibres (supplémenté en fibres de blé) pendant 1 an. Ces effets apparaîtraient de manière significative au bout de 9 à 12 mois d'intervention (Wolever et al. 2009).

Quels pourraient être les effets métaboliques d'une diminution et/ou d'une prolongation de la réponse insulinaire postprandiale ?

En parallèle à la diminution de la réponse glycémique, une moindre sécrétion insulinaire postprandiale (en réponse par exemple à une absorption ralentie des glucides) pourrait être significative même en aigu car il a été montré que des épisodes, même brefs, d'hyperinsulinémie induisent une insulino-résistance chez des sujets sains (DeFronzo & Ferrannini 1982).

D'autre part, une absorption prolongée des glucides induit une sécrétion prolongée de l'insuline, qui induit une suppression prolongée de la lipolyse et des réponses contre-régulatrices du glucose. Ainsi, des concentrations plus faibles en AGNE et une utilisation prolongée du glucose par les tissus provoquent une utilisation du glucose accélérée, et en

conséquence, la glycémie revient à la normale alors que le glucose est encore absorbé au niveau de l'intestin (Ludwig 2002). Dans le même sens, Ludwig a montré que, en comparaison à un repas à IG bas, l'ingestion d'un repas à IG haut induit une réponse insulinique plus élevée qui accentue l'utilisation du glucose par les tissus et inhibe la PEG et la lipolyse. En conséquence, la biodisponibilité en nutriments est diminuée en phase postabsorptive (moindres concentrations en glucose et AGNE) et pourrait modifier la prise alimentaire et l'oxydation des substrats (Ludwig 2003).

... effet sur les AGNE....et effet second repas

La lipolyse, nous l'avons vu, est très sensible à l'action de l'insuline (Rizza et al. 1981) et les variations postprandiales de concentration d'insuline ont donc des effets très marqués et sensibles sur la lipolyse.

Dans l'étude β -glucanes, la prolongation de la réponse insulinique même à bas niveau, induite par la prolongation de l'absorption du glucose par les fibres, a eu pour effet une inhibition prolongée de la lipolyse et un rebond tardif de la concentration en AGNE. Ainsi le retour au niveau basal de la concentration en AGNE a été retardé de 30 minutes suite à l'ingestion de fibres.

Dans l'étude Eurostarch, les profils postprandiaux de concentration en AGNE n'étaient pas significativement différents entre les deux repas test LGI et HGI. Ceci était attendu au vu des réponses insuliniques, elles aussi non significativement différentes. De plus après l'ingestion des deux-petits déjeuners LGI et HGI, la réponse insulinique est restée supérieure à 20 mU/L jusqu'à 210 minutes après l'ingestion et l'inhibition de la lipolyse était donc maximale pendant cette période. Comme un déjeuner standardisé était servi à T270 minutes, juste après le rebond des concentrations en AGNE, celles-ci n'étaient pas revenues à leur niveau basal au moment de ce déjeuner.

Dans l'étude Nutriose, la diminution importante de la réponse insulinique en réponse à l'ingestion de NUTRIOSE a limité l'inhibition de la lipolyse et par conséquent la chute de la concentration en AGNE en phase postprandiale.

En aigu, l'ampleur et la durée de l'inhibition de la lipolyse en phase postprandiale est donc un reflet sensible de la cinétique de la réponse insulinique suite à la modulation de l'apparition du glucose exogène dans le sang. Quelles en sont les conséquences sur le métabolisme glucidique à plus long terme ?

En ce qui concerne l'effet second-repas, Jenkins avait suggéré dès les années 80 que l'absorption prolongée de glucose à partir d'un repas de lentilles ou additionné de gomme de guar, provoquait une réponse glycémique plus faible et améliorait la tolérance au glucose au repas suivant (Jenkins et al. 1980; Jenkins et al. 1982). Cet effet dit « second-repas » a été démontré depuis entre le petit-déjeuner et le déjeuner (Liljeberg et al. 1999; Liljeberg & Björck 2000; Brighenti et al. 2006), mais aussi entre le dîner de la veille et le petit-déjeuner (Wolever et al. 1988b). Cependant, il semblerait que les effets et les mécanismes mis en jeu diffèrent selon la période étudiée (dîner/petit-déjeuner ou petit-déjeuner/déjeuner).

Pour les effets « petit-déjeuner/déjeuner », un des mécanismes effectif à court terme serait une suppression prolongée de la lipolyse et le maintien d'une concentration faible en AGNE (Wolever et al. 1995; Brighenti et al. 2006), connus pour affecter la sensibilité à l'insuline de manière dose-dépendante (Belfort et al. 2005). En effet, en étudiant les réponses métaboliques à plusieurs petits-déjeuners avec différents IG et quantité de glucides totaux, Wolever a montré que les niveaux en AGNE juste avant le repas étaient positivement corrélés à l'ASC glucose au déjeuner. Cette corrélation a été retrouvée par Nilsson entre concentration en AGNE avant le petit-déjeuner et réponse glycémique au petit-déjeuner (Nilsson et al. 2008). Ainsi, une diminution des concentrations en AGNE pourrait améliorer la tolérance au glucose à court terme.

Dans l'étude Eurostarch, nous n'avons pas obtenu de différence significative sur la glycémie post-déjeuner selon le type de petit-déjeuner ingéré. Nous n'avons pas non plus observé de différence significative entre les profils de concentrations en AGNE au cours de la journée, ni de corrélation entre les concentrations en AGNE pré-déjeuner et la réponse glycémique au petit-déjeuner. Cependant, nous parlons d'effet second-repas même modéré car nous avons bien une corrélation positive significative entre la réponse glycémique au petit-déjeuner et la réponse glycémique au déjeuner. Pour l'étude Nutriose, la concentration en AGNE était plus faible juste avant le déjeuner suite à l'ingestion de Nutriose. Mais, la concentration en AGNE était restée plus élevée au cours des 3 heures précédant le déjeuner. Cette fois, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les réponses glycémiques post-petit-déjeuner et post-déjeuner, ni entre la concentration préprandiale en AGNE et la réponse glycémique postprandiale.

Nos résultats ne nous permettent pas de confirmer l'implication des niveaux de concentrations en AGNE en aigu sur un potentiel effet-second repas, ou en tout cas, supposent que d'autres mécanismes entrent en jeu dans cette régulation sur la période « petit-déjeuner/déjeuner ».

Pour des périodes plus longues (dîner/petit-déjeuner), le caractère « IG bas » ne serait pas suffisant pour induire un effet second-repas, mais dépendrait aussi de la teneur en glucides non-digestibles et potentiellement fermentescibles (Brighenti et al. 2006). Il a d'ailleurs été suggéré que les AGCC issus de la fermentation des fibres fermentescibles réduisaient les concentrations en AGNE (Wolever et al. 1989) et pouvaient ainsi, à plus long terme, améliorer l'utilisation du glucose insulino-induite par le muscle squelettique.

Ces modifications des cinétiques de concentrations plasmatiques de glucose et en AGNE chez des sujets sains modulent la biodisponibilité des substrats, mais quels sont les effets sur l'oxydation des nutriments à court et long terme?

... Effet sur l'oxydation des nutriments

Dans nos études, nous avons observé en aigu une diminution (non significative) de l'oxydation glucidique suite à l'ingestion de β -glucanes, du petit-déjeuner à IG bas et de la dextrine résistante Nutriose, du fait probablement d'une moindre disponibilité immédiate en glucose plasmatique. Les quantités totales de glucides ou même de lipides oxydés au cours des journées test n'étaient pas significativement modifiées. A plus long terme dans l'étude Eurostarch, nous n'avons pas non plus mis en évidence d'effet d'un régime IG bas sur l'utilisation des nutriments. Les interventions nutritionnelles proposées dans nos études ne sont pas suffisantes pour induire des modifications en termes d'oxydation des substrats (quantitativement et/ou qualitativement).

Ces résultats sont en accord avec la littérature. Chez des sujets sains, une augmentation de l'oxydation glucidique au cours des deux premières heures de la phase postprandiale après le repas a été observée après la consommation d'un petit-déjeuner à IG haut (Würsch et al. 1988). A l'inverse, l'ingestion de produits à IG bas serait responsable d'une augmentation de l'oxydation lipidique par rapport à l'oxydation glucidique (Stevenson et al. 2005). En aigu, il a été montré que l'addition de glucides non digestibles diminuait et retardait le pic d'oxydation glucidique postprandiale, voire une prolongation de l'oxydation glucidique (attribuée à une diminution des AGNE circulants et de l'oxydation lipidique) (Sparti et al. 2000). Sparti a montré que l'ingestion de repas riches en glucides non digestibles au cours de la journée, diminuait l'oxydation glucidique et augmentait l'oxydation lipidique. Cependant le phénomène s'inversait la nuit et, par conséquent, les quantités globales de lipides et glucides oxydées au cours des 24 heures n'étaient pas altérées par le type de glucides ingérés (Sparti et al. 2000). Dans sa revue, Diaz répertorie les études à court, moyen et long-terme qui ont mesuré les effets de l'IG

sur l'oxydation des substrats et la répartition glucides/lipides oxydés. Même quand l'altération de l'IG a induit des différences en réponses insuliniques, les modifications des profils d'oxydation des nutriments sont négligeables. Selon Diaz, les modifications du profil de concentration en insuline ne sont pas suffisantes en amplitude et en durée pour modifier le profil d'oxydation des nutriments en phase postprandiale (Díaz et al. 2005; Díaz et al. 2006).

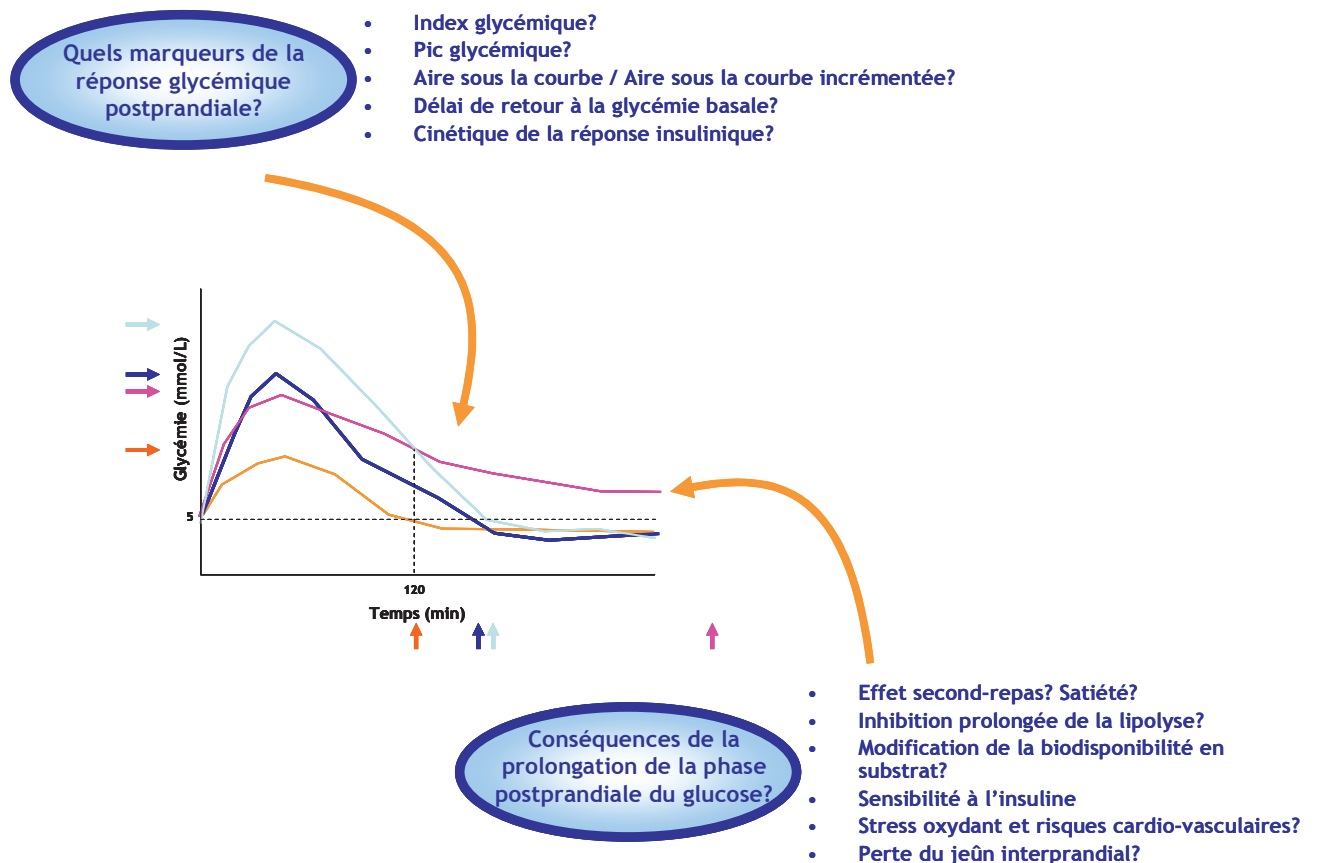
Conclusion et perspectives

L'étude de l'impact de l'ingestion de glucides faiblement, lentement et/ou non digestibles influençant la disponibilité postprandiale du glucose permet de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la réponse glycémique postprandiale.

Nous avons montré dans nos 3 études d'intervention qu'il était possible de réduire l'apparition du glucose exogène en phase postprandiale par l'utilisation de fibres ou de produits à IG bas. Cependant, l'utilisation des isotopes stables a permis de mettre en évidence que les effets sur la glycémie postprandiale étaient plus modestes, du fait de la régulation efficace chez les sujets sains, par l'action de l'insuline sur la production endogène de glucose. L'effet de telles interventions pour réduire la glycémie postprandiale pourrait donc être plus marqué chez des sujets dont le contrôle de l'homéostasie glucidique est déjà altéré (personnes intolérantes au glucose ou diabétiques de type 2). Parmi les trois études présentées, seule l'étude Eurostarch réalisée à long terme a mesuré l'effet de la modulation de la glycémie postprandiale sur les facteurs de risques CV (diminution significative du poids corporel, du cholestérol total et du LDL-cholestérol après le régime IG bas).

Nous avons aussi pu montrer que les effets de la modulation de l'apparition du glucose en phase postprandiale se prolongeaient bien au-delà de 2 heures après l'ingestion du repas. Nous avons ainsi mis en évidence une modification significative des paramètres métaboliques au repas suivant (réponse glycémique, AGNE, biodisponibilité en nutriments, ghreline) et du profil de concentration postprandiale en AGNE au cours de la journée. Ces effets étaient intimement liés à la cinétique d'apparition du glucose exogène et/ou à la cinétique de la réponse insulinique. Ceci amène à s'interroger sur les marqueurs pertinents et intégratifs de la réponse glycémique postprandiale et de ses conséquences : IG ? Pic glycémique? ASC? ASCi ? Réponse insulinique ?

Des études à plus long terme et chez des populations pathologiques sont donc nécessaires pour évaluer l'utilité de la prolongation de la phase postprandiale du glucose sur la sensibilité à l'insuline, les marqueurs du stress oxydant et de risque CV. Les conséquences métaboliques de la diminution/perte de la période de jeûn interprandial restent en effet encore à éclaircir.



BIBLIOGRAPHIE

AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2002. Dietary fibre: definitions, analysis and nutrition claims, Report of the Specialist Expert Committee on Human Nutrition.

Aggett, P.J. et al., 2005. Passclaim*. European Journal of Nutrition, 44(0), i5-i30.

Anderson, G.H. & Woodend, D., 2003. Effect of glycemic carbohydrates on short-term satiety and food intake. Nutrition Reviews, 61(5 Pt 2), S17-26.

Anderson, J.W., 1995. Dietary fibre, complex carbohydrate and coronary artery disease. The Canadian Journal of Cardiology, 11 Suppl G, 55G-62G.

Anderson, J.W. et al., 1999. Effects of psyllium on glucose and serum lipid responses in men with type 2 diabetes and hypercholesterolemia. The American Journal of Clinical Nutrition, 70(4), 466-473.

Anderson, J.W. & Bridges, S.R., 1984. Short-chain fatty acid fermentation products of plant fiber affect glucose metabolism of isolated rat hepatocytes. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.), 177(2), 372-376.

Anderson, J.W. & Hanna, T.J., 1999. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. The Journal of Nutrition, 129(7 Suppl), 1457S-66S.

Andreelli, F. & Girard, J., 2005. Régulation de l'homéostasie glucidique. Dans Traité de diabétologie. Médecine-sciences. Paris, pp. 22-40.

Augustin, L.S. et al., 2002. Glycemic index in chronic disease: a review. European Journal of Clinical Nutrition, 56(11), 1049-1071.

Ball, S.D. et al., 2003. Prolongation of satiety after low versus moderately high glycemic index meals in obese adolescents. Pediatrics, 111(3), 488-494.

Baltali, M. et al., 2003. Association between postprandial hyperinsulinemia and coronary artery disease among non-diabetic women: a case control study. International Journal of Cardiology, 88(2-3), 215-221.

Basdevant, A., 2001. Aliments fonctionnels. Dans Traité de nutrition clinique de l'adulte. Paris: Flammarion, pp. 691-692.

Battilana, P. et al., 2001. Mechanisms of action of beta-glucan in postprandial glucose metabolism in healthy men. European Journal of Clinical Nutrition, 55(5), 327-333.

- Behall, K.M. & Hallfrisch, J., 2002.** Plasma glucose and insulin reduction after consumption of breads varying in amylose content. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(9), 913-920.
- Behall, K.M., Scholfield, D.J. & Hallfrisch, J., 2004.** Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1185-1193.
- Behall, K.M. et al., 2006.** Consumption of both resistant starch and beta-glucan improves postprandial plasma glucose and insulin in women. *Diabetes Care*, 29(5), 976-981.
- Belfort, R. et al., 2005.** Dose-response effect of elevated plasma free fatty acid on insulin signaling. *Diabetes*, 54(6), 1640-1648.
- Benini, L. et al., 1995.** Gastric emptying of a solid meal is accelerated by the removal of dietary fibre naturally present in food. *Gut*, 36(6), 825-830.
- Berggren, A.M. et al., 1996.** Influence of orally and rectally administered propionate on cholesterol and glucose metabolism in obese rats. *The British Journal of Nutrition*, 76(2), 287-294.
- Bernard, C., 1877.** *Leçons sur le diabète et la glycogénèse animale.*, (Paris): JP Beillère. Available at: http://openlibrary.org/b/OL19418692M/Le%C3%A7ons_sur_le_diab%C3%A8te_et_la_glycog%C3%A8se_animale. [Accédé Septembre 11, 2009].
- Berti, C. et al., 2005.** Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *The British Journal of Nutrition*, 94(5), 850-858.
- Biörklund, M. et al., 2005.** Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with beta-glucans from oats or barley: a randomised dose-controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(11), 1272-1281.
- Björck, I., Liljeberg, H. & Ostman, E., 2000.** Low glycaemic-index foods. *The British Journal of Nutrition*, 83 Suppl 1, S149-155.
- Blair, J.B., Cook, D.E. & Lardy, H.A., 1973.** Interaction of propionate and lactate in the perfused rat liver. Effects of glucagon and oleate. *The Journal of Biological Chemistry*, 248(10), 3608-3614.
- Blom, W.A.M. et al., 2006.** Effect of a high-protein breakfast on the postprandial ghrelin response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(2), 211-220.
- Blom, W.A.M. et al., 2005.** Ghrelin response to carbohydrate-enriched breakfast is related to insulin. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(2), 367-375.
- Blundell, J.E. & Burley, V.J., 1987.** Satiating, satiety and the action of fibre on food intake. *International Journal of Obesity*, 11 Suppl 1, 9-25.
- Boden, G. et al., 1994.** Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *The Journal of Clinical Investigation*, 93(6), 2438-2446.

- Boden, G. et al., 1991.** Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. *The Journal of Clinical Investigation*, 88(3), 960-966.
- Bornet, F., 1992.** Technologie des amidons, digestibilité et effets métaboliques. , 27(3), 170-8.
- Bouché, C. et al., 2002.** Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care*, 25(5), 822-828.
- Bourdon, I. et al., 2001.** Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein b48 response to test meals in men. *The Journal of Nutrition*, 131(5), 1485-1490.
- Bourdon, I. et al., 1999.** Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(1), 55-63.
- Braaten, J.T. et al., 1991.** Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(6), 1425-1430.
- Brand, J.C. et al., 1985.** Food processing and the glycemic index. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(6), 1192-1196.
- Brand-Miller, J.C. et al., 2002.** Glycemic index and obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 281S-5S.
- Brand-Miller, J.C. et al., 2003.** Low-glycemic index diets in the management of diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Care*, 26(8), 2261-2267.
- Bratusch-Marrain, P.R. et al., 1980.** Oral glucose tolerance test: effect of different glucose loads on splanchnic carbohydrate and substrate metabolism in healthy man. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 29(3), 289-295.
- Brennan, C.S., 2005.** Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(6), 560-570.
- Brighenti, F. et al., 2006.** Colonic fermentation of indigestible carbohydrates contributes to the second-meal effect. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(4), 817-822.
- Brown, L. et al., 1999.** Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(1), 30-42.
- Brownlee, M., 2001.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820.
- Brownlee, M., 2005.** The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615-1625.
- Burton-Freeman, B., 2000.** Dietary fiber and energy regulation. *The Journal of Nutrition*, 130(2S Suppl), 272S-275S.

Caixás, A. et al., 2002. Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(4), 1902.

Callahan, H.S. et al., 2004. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(3), 1319-1324.

Calles-Escandon, J. & Robbins, D.C., 1987. Loss of early phase of insulin release in humans impairs glucose tolerance and blunts thermic effect of glucose. *Diabetes*, 36(10), 1167-1172.

Cani, P.D., Dewever, C. & Delzenne, N.M., 2004. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *The British Journal of Nutrition*, 92(3), 521-526.

Cani, P.D. et al., 2009. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90, 1236-43.

Carpentier, A. et al., 1999. Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation. *The American Journal of Physiology*, 276(6 Pt 1), E1055-1066.

Casiraghi, M.C. et al., 2006. Post-prandial responses to cereal products enriched with barley beta-glucan. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(4), 313-320.

Castillo, M.J., Scheen, A.J. & Lefèbvre, P.J., 1995. Amylin/islet amyloid polypeptide: biochemistry, physiology, patho-physiology. *Diabète & Métabolisme*, 21(1), 3-25.

Ceriello, A. et al., 2006. Postprandial hyperglycaemia and cardiovascular complications of diabetes: an update. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 16(7), 453-456.

Ceriello, A. et al., 2008. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 57(5), 1349-1354.

Ceriello, A. et al., 2002. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care*, 25(8), 1439-1443.

Ceriello, A. et al., 2002. Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation*, 106(10), 1211-1218.

Chambrier, C., Riou, J.P. & Beylot, M., 1988. Les isotopes stables dans les études métaboliques en nutrition humaine, Paris: Arnette.

Chan, T.M. & Freedland, R.A., 1972. The effect of propionate on the metabolism of pyruvate and lactate in the perfused rat liver. *The Biochemical Journal*, 127(3), 539-543.

Cherrington, A.D., Edgerton, D. & Sindelar, D.K., 1998. The direct and indirect effects of insulin on hepatic glucose production in vivo. *Diabetologia*, 41(9), 987-996.

Chew, I. et al., 1988. Application of glycemic index to mixed meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 47(1), 53-56.

Chiasson, J. et al., 2003. Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 290(4), 486-494.

Colditz, G.A. et al., 1995. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Annals of Internal Medicine*, 122(7), 481-486.

Coppack, S.W., Jensen, M.D. & Miles, J.M., 1994. In vivo regulation of lipolysis in humans. *Journal of Lipid Research*, 35(2), 177-193.

Coulston, A.M. et al., 1984. Effect of source of dietary carbohydrate on plasma glucose, insulin, and gastric inhibitory polypeptide responses to test meals in subjects with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40(5), 965-970.

Coutinho, M. et al., 1999. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care*, 22(2), 233-240.

Cugnet-Anceau, C. et al., 2009. A controlled study of consumption of beta-glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. *The British Journal of Nutrition*, 28;1-7.

Cummings, D.E. et al., 2001. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 50(8), 1714-1719.

Cummings, D.E., 2006. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. *Physiology & Behavior*, 89(1), 71-84.

Cummings, D.E., Foster-Schubert, K.E. & Overduin, J., 2005. Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. *Current Drug Targets*, 6(2), 153-169.

Cummings, D.E. et al., 2002. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *The New England Journal of Medicine*, 346(21), 1623-1630.

Cummings, J.H. & Englyst, H.N., 1987. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 45(5 Suppl), 1243-1255.

De Bodo, R.C. et al., 1963. Effects of insulin on hepatic glucose metabolism and glucose utilization by tissues. *Diabetes*, 12, 16-30.

DeFronzo, R.A. & Ferrannini, E., 1982. Influence of plasma glucose and insulin concentration on plasma glucose clearance in man. *Diabetes*, 31(8 Pt 1), 683-688.

Delargy, H.J. et al., 1995. Effects of different soluble: insoluble fibre ratios at breakfast on 24-h pattern of dietary intake and satiety. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(10), 754-766.

Delarue, J. & Beylot, M., 2007. Les traceurs isotopiques stables en nutrition humaine : que peut-on faire avec ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42(6), 324-335.

Delzenne, N.M. et al., 2005. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *The British Journal of Nutrition*, 93 Suppl 1, S157-161.

Delzenne, N.M., Cani, P.D. & Neyrinck, A.M., 2007. Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: experimental data. *The Journal of Nutrition*, 137(11 Suppl), 2547S-2551S.

Díaz, E.O., Galgani, J.E. & Aguirre, C.A., 2006. Glycaemic index effects on fuel partitioning in humans. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 7(2), 219-226.

Díaz, E.O. et al., 2005. Effect of glycemic index on whole-body substrate oxidation in obese women. *International Journal of Obesity* (2005), 29(1), 108-114.

Dutta, S.K. & Hlasko, J., 1985. Dietary fiber in pancreatic disease: effect of high fiber diet on fat malabsorption in pancreatic insufficiency and in vitro study of the interaction of dietary fiber with pancreatic enzymes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 41(3), 517-525.

Ekberg, K. et al., 1999. Contributions by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60 h of fasting. *Diabetes*, 48(2), 292-298.

Elliott, R.M. et al., 1993. Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute postprandial and 24-h secretion patterns. *The Journal of Endocrinology*, 138(1), 159-166.

Englyst, H.N., Kingman, S.M. & Cummings, J.H., 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2, S33-50.

Englyst, K.N. et al., 1999. Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448-454.

Englyst, K.N., Hudson, G.J. & Englyst, H.N., 2000. Starch analysis in food. Dans *Encyclopaedia of analytical chemistry* by RA Meyers. Chichester, Sussex: John Wiley and sons, pp. 4246-62.

Englyst, K.N. et al., 2003. Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *The British Journal of Nutrition*, 89(3), 329-340.

Erdmann, J. et al., 2004. Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 3048-3054.

FAO/WHO, 1997. carbohydrates in human nutrition. Report of a joint expert consultation, Rome.

FDA (Food and Drug Administration), 1996. Food labeling: Health claims; oats and coronary heart disease. , 61, 296.

Ferrannini, E., 1988. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 37(3), 287-301.

- Ferrannini, E. et al., 1985.** The disposal of an oral glucose load in healthy subjects. A quantitative study. *Diabetes*, 34(6), 580-588.
- Flanagan, D.E. et al., 2003a.** The influence of insulin on circulating ghrelin. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 284(2), E313-316.
- Flanagan, D.E. et al., 2003b.** The influence of insulin on circulating ghrelin. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 284(2), E313-316.
- Flint, A. et al., 2004.** The use of glycaemic index tables to predict glycaemic index of composite breakfast meals. *The British Journal of Nutrition*, 91(6), 979-989.
- Flourié, B., 1992.** Digestion des hydrates de carbone dans l'intestin grêle et le côlon humain. Dans *Sucre et nutrition*. Paris: Doin.
- Flourié, B. & Nancey, S., 2003.** Fibres alimentaires. Dans *Traité de nutrition clinique de l'adulte*. Paris: Flammarion, pp. 147-152.
- Floyd, J.C. et al., 1966a.** Insulin secretion in response to protein ingestion. *The Journal of Clinical Investigation*, 45(9), 1479-1486.
- Floyd, J.C. et al., 1966b.** Stimulation of insulin secretion by amino acids. *The Journal of Clinical Investigation*, 45(9), 1487-1502.
- Ford, E.S. & Liu, S., 2001.** Glycemic index and serum high-density lipoprotein cholesterol concentration among us adults. *Archives of Internal Medicine*, 161(4), 572-576.
- Foster-Powell, K., Holt, S.H.A. & Brand-Miller, J.C., 2002.** International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5-56.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I. & Fredrickson, D.S., 1972.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499-502.
- Frost, G. et al., 1999.** Glycaemic index as a determinant of serum HDL-cholesterol concentration. *Lancet*, 353(9158), 1045-1048.
- Frost, G.S. et al., 2003.** The effects of fiber enrichment of pasta and fat content on gastric emptying, GLP-1, glucose, and insulin responses to a meal. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(2), 293-298.
- Gannon, M.C. et al., 1988.** The insulin and glucose responses to meals of glucose plus various proteins in type II diabetic subjects. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 37(11), 1081-1088.
- Gannon, M.C. et al., 1993.** The effect of fat and carbohydrate on plasma glucose, insulin, C-peptide, and triglycerides in normal male subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 12(1), 36-41.
- Girard, J., 2007.** Les actions physiologiques de l'insuline. *Médecine clinique, Endocrinologie et Diabète*, HS, 3-7.

Girard, J., 2006. The Inhibitory Effects of Insulin on Hepatic Glucose Production Are Both Direct and Indirect. *Diabetes*, 55(S2), S65-S69.

Granfeldt, Y., Drews, A. & Björck, I., 1995. Arepas made from high amylose corn flour produce favorably low glucose and insulin responses in healthy humans. *The Journal of Nutrition*, 125(3), 459-465.

Granfeldt, Y., Wu, X. & Björck, I., 2006. Determination of glycaemic index; some methodological aspects related to the analysis of carbohydrate load and characteristics of the previous evening meal. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60(1), 104-112.

Gruendel, S. et al., 2006. Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fiber and polyphenols enhances lipid oxidation and lowers postprandial acylated ghrelin in humans. *The Journal of Nutrition*, 136(6), 1533-1538.

Hallfrisch, J., Scholfield, D.J. & Behall, K.M., 1995. Diets containing soluble oat extracts improve glucose and insulin responses of moderately hypercholesterolemic men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(2), 379-384.

Hallfrisch, J. et al., 1988. Fiber intake, age, and other coronary risk factors in men of the Baltimore Longitudinal Study (1959-1975). *Journal of Gerontology*, 43(3), M64-68.

Hamedani, A. et al., 2009. Reduced energy intake at breakfast is not compensated for at lunch if a high-insoluble-fiber cereal replaces a low-fiber cereal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(5), 1343-1349.

Hanefeld, M. et al., 2004. Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *European Heart Journal*, 25(1), 10-16.

Heine, R.J. et al., 2004. What does postprandial hyperglycaemia mean? *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 21(3), 208-213.

Heini, A.F. et al., 1998. Effect of hydrolyzed guar fiber on fasting and postprandial satiety and satiety hormones: a double-blind, placebo-controlled trial during controlled weight loss. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 22(9), 906-909.

Hellerstein, M.K., Schwarz, J.M. & Neese, R.A., 1996. Regulation of hepatic de novo lipogenesis in humans. *Annual Review of Nutrition*, 16, 523-557.

van den Heuvel, E.G.H.M. et al., 2005. Dietary supplementation of different doses of NUTRIOSE FB, a fermentable dextrin, alters the activity of faecal enzymes in healthy men. *European Journal of Nutrition*, 44(7), 445-451.

Hill, J.O. et al., 2003. Obesity and the environment: where do we go from here? *Science (New York, N.Y.)*, 299(5608), 853-855.

Holm, C., 2003. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochemical Society Transactions*, 31(Pt 6), 1120-1124.

Holst, J.J. & Gromada, J., 2004. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 287(2), E199-206.

Holt, S. et al., 1992. Relationship of satiety to postprandial glycaemic, insulin and cholecystokinin responses. *Appetite*, 18(2), 129-141.

Holt, S.H. et al., 1999. The effects of high-carbohydrate vs high-fat breakfasts on feelings of fullness and alertness, and subsequent food intake. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(1), 13-28.

Holt, S.H. & Miller, J.B., 1994. Particle size, satiety and the glycaemic response. *European Journal of Clinical Nutrition*, 48(7), 496-502.

Hooper, L.V., Midtvedt, T. & Gordon, J.I., 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual Review of Nutrition*, 22, 283-307.

Howarth, N.C., Saltzman, E. & Roberts, S.B., 2001. Dietary fiber and weight regulation. *Nutrition Reviews*, 59(5), 129-139.

Hu, F.B. et al., 2001. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England Journal of Medicine*, 345(11), 790-797.

IDF (International Diabetes Federation), 2006. *Diabetes atlas 3 éd.*, Bruxelles.

ILSI (International Life Sciences Institute), 2006. *Dietary fiber*.

Jenkins, D.J. et al., 1978. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. *British Medical Journal*, 1(6124), 1392-1394.

Jenkins, D.J. et al., 1980. Improved glucose tolerance four hours after taking guar with glucose. *Diabetologia*, 19(1), 21-24.

Jenkins, D.J. et al., 1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34(3), 362-366.

Jenkins, D.J. et al., 1982. Slow release dietary carbohydrate improves second meal tolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 35(6), 1339-1346.

Jenkins, D.J. et al., 1985. Low glycemic index carbohydrate foods in the management of hyperlipidemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(4), 604-617.

Jenkins, D.J. & Jenkins, A.L., 1995. Nutrition principles and diabetes. A role for "lente carbohydrate"? *Diabetes Care*, 18(11), 1491-1498.

Jenkins, D.J. et al., 2000. Viscous and nonviscous fibres, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, 11(1), 49-56.

Jenkins, D.J. et al., 2002a. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 266S-73S.

Jenkins, A.L. et al., 2002b. Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(7), 622-628.

Jenkins, D.J et al., 2002c. Effect of wheat bran on glycemic control and risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 25(9), 1522-1528.

Jenkins, D.J et al., 2008. Effect of a low-glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes: a randomized trial. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 300(23), 2742-2753.

Jeukendrup, A.E. et al., 1999. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects: effect of glucose ingestion. *The Journal of Physiology*, 515 (Pt 2), 579-589.

Jiang, G. & Zhang, B.B., 2003. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 284(4), E671-678.

Juntunen, K.S. et al., 2002. Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75(2), 254-262.

Juvonen, K.R. et al., 2009. Viscosity of oat bran-enriched beverages influences gastrointestinal hormonal responses in healthy humans. *The Journal of Nutrition*, 139(3), 461-466.

Kabir, M. et al., 2002. Four-week low-glycemic index breakfast with a modest amount of soluble fibers in type 2 diabetic men. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 51(7), 819-826.

Kahn, S., Hull, R. & Utzschneider, K., 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840-846.

Karabulut, A. et al., 2005. Insulin response to oral glucose loading and coronary artery disease in nondiabetics. *International Heart Journal*, 46(5), 761-770.

Karhunen, L.J. et al., 2008. Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. *Regulatory Peptides*, 149(1-3), 70-78.

Katz A et al., 2000. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(7):2402-10.

Kelley, D. et al., 1988. Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. *The Journal of Clinical Investigation*, 81(5), 1563-1571.

Keogh, G.F. et al., 2003. Randomized controlled crossover study of the effect of a highly beta-glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(4), 711-718.

Kerckhoffs, D.A.J.M., Hornstra, G. & Mensink, R.P., 2003. Cholesterol-lowering effect of beta-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when beta-glucan is incorporated into bread and cookies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(2), 221-227.

- Khaw, K.T. & Barrett-Connor, E., 1987.** Dietary fiber and reduced ischemic heart disease mortality rates in men and women: a 12-year prospective study. *American Journal of Epidemiology*, 126(6), 1093-1102.
- Kianian, S.F. et al., 2000.** Quantitative trait loci influencing β -glucan content in oat (*Avena sativa*, 2n=6x=42). *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 101(7), 1039-1048.
- Kiens, B. & Richter, E.A., 1996.** Types of carbohydrate in an ordinary diet affect insulin action and muscle substrates in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(1), 47-53.
- Koh-Banerjee, P. et al., 2004.** Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1237-1245.
- Kojima, M. et al., 1999.** Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762), 656-660.
- Kopp, W., 2003.** High-insulinogenic nutrition--an etiologic factor for obesity and the metabolic syndrome? *Metabolism: Clinical and Experimental*, 52(7), 840-844.
- Korach-André, M. et al., 2004.** Glucose appearance in the peripheral circulation and liver glucose output in men after a large ^{13}C starch meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(4), 881-886.
- Krezowski, P.A. et al., 1987.** Insulin and glucose responses to various starch-containing foods in type II diabetic subjects. *Diabetes Care*, 10(2), 205-212.
- Lairon, D. et al., 2003.** Dietary fibre intake and clinical indices in the French Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) adult cohort. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 11-15.
- Laurent, C. et al., 1995.** Effect of acetate and propionate on fasting hepatic glucose production in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(7), 484-491.
- Le Floch, J.P. et al., 1992.** Influence of non-carbohydrate foods on glucose and insulin responses to carbohydrates of different glycaemic index in type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 9(1), 44-48.
- Levine, A.S. et al., 1989.** Effect of breakfast cereals on short-term food intake. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 50(6), 1303-1307.
- Lia, A. et al., 1995.** Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1245-1251.
- Liddle, R.A. et al., 1988.** Physiological role for cholecystokinin in reducing postprandial hyperglycemia in humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 81(6), 1675-1681.
- Lifschitz, C.H., Grusak, M.A. & Butte, N.F., 2002.** Carbohydrate digestion in humans from a beta-glucan-enriched barley is reduced. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2593-2596.

- Liljeberg, H. & Björck, I., 1998.** Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52(5), 368-371.
- Liljeberg, H. & Björck, I., 2000.** Effects of a low-glycaemic index spaghetti meal on glucose tolerance and lipaemia at a subsequent meal in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54(1), 24-28.
- Liljeberg, H.G., Akerberg, A.K. & Björck, I.M., 1999.** Effect of the glycemic index and content of indigestible carbohydrates of cereal-based breakfast meals on glucose tolerance at lunch in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(4), 647-655.
- Liljeberg, H.G., Granfeldt, Y.E. & Björck, I.M., 1996.** Products based on a high fiber barley genotype, but not on common barley or oats, lower postprandial glucose and insulin responses in healthy humans. *The Journal of Nutrition*, 126(2), 458-466.
- Liu, K. et al., 1982.** Dietary lipids, sugar, fiber and mortality from coronary heart disease. Bivariate analysis of international data. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)*, 2(3), 221-227.
- Liu, S. et al., 1999.** Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 412-419.
- Liu, S. et al., 2000.** A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1455-1461.
- Liu, S. & Willett, W.C., 2002.** Dietary glycemic load and atherothrombotic risk. *Current Atherosclerosis Reports*, 4(6), 454-461.
- Livesey, G. et al., 2008a.** Glycemic response and health--a systematic review and meta-analysis: relations between dietary glycemic properties and health outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(1), 258S-268S.
- Livesey, G. et al., 2008b.** Glycemic response and health--a systematic review and meta-analysis: the database, study characteristics, and macronutrient intakes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(1), 223S-236S.
- van Loon, L.J. et al., 2000.** Plasma insulin responses after ingestion of different amino acid or protein mixtures with carbohydrate. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(1), 96-105.
- Lovegrove, J.A. et al., 2000.** Modest doses of beta-glucan do not reduce concentrations of potentially atherogenic lipoproteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(1), 49-55.
- Lu, Z.X. et al., 2000.** Arabinoxylan fiber, a byproduct of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1123-1128.
- Ludwig, D.S. et al., 1999a.** High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics*, 103(3), E26.

- Ludwig, D.S. et al., 1999b.** Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 282(16), 1539-1546.
- Ludwig, D.S., 2000.** Dietary glycemic index and obesity. *The Journal of Nutrition*, 130(2S Suppl), 280S-283S.
- Ludwig, D.S., 2002.** The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 287(18), 2414-2423.
- Ludwig, D.S., 2003.** Dietary glycemic index and the regulation of body weight. *Lipids*, 38(2), 117-121.
- Ludwig, D.S., 2007.** Clinical update: the low-glycaemic-index diet. *Lancet*, 369(9565), 890-892.
- Malkki, Y., 2001.** Oat Fibres: production, composition, physico-chemical properties, physiological effects, safety and food applications. Dans *Handbook of dietary fibre*. New-york: Cho S S and Dreher M, Marcel Dekker Inc., pp. 497-517.
- Marlett, J.A. et al., 1994.** Mechanism of serum cholesterol reduction by oat bran. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 20(6), 1450-1457.
- Matthews DR et al., 1985.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 , 28(7):412-9.
- McMillan-Price, J. et al., 2006.** Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults: a randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*, 166(14), 1466-1475.
- Meier, J.J. et al., 2002.** Gastric inhibitory polypeptide: the neglected incretin revisited. *Regulatory Peptides*, 107(1-3), 1-13.
- Meyer, K.A. et al., 2000.** Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(4), 921-930.
- Miles, J.M., 2008.** A role for the glycemic index in preventing or treating diabetes? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(1), 1-2.
- Miller, J.C., 1994.** Importance of glycemic index in diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(3 Suppl), 747S-752S.
- Mithieux, G. et al., 2006.** Contribution of intestine and kidney to glucose fluxes in different nutritional states in rat. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 143(2), 195-200.
- Mittelman, S.D. et al., 1997.** Indirect effect of insulin to suppress endogenous glucose production is dominant, even with hyperglucagonemia. *The Journal of Clinical Investigation*, 100(12), 3121-3130.

- Moeri, R. et al., 1988.** Oxidative and nonoxidative glucose metabolism following graded doses of oral glucose in man. *Diabète & Métabolisme*, 14(1), 1-7.
- Möhlig, M. et al., 2005.** Arabinoxylan-enriched meal increases serum ghrelin levels in healthy humans. *Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Métabolisme*, 37(5), 303-308.
- Monnier, L. et al., 2006.** Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 295(14), 1681-1687.
- Monnier, L. et al., 2007.** The loss of postprandial glycemic control precedes stepwise deterioration of fasting with worsening diabetes. *Diabetes Care*, 30(2), 263-269.
- Monteleone, P. et al., 2003.** Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high-carbohydrate meal in healthy women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(11), 5510-5514.
- Morris, K.L. & Zemel, M.B., 1999.** Glycemic index, cardiovascular disease, and obesity. *Nutrition Reviews*, 57(9 Pt 1), 273-276.
- Mössner, J. et al., 1992.** Influence of various nutrients and their mode of application on plasma cholecystokinin (CCK) bioactivity. *The Clinical Investigator*, 70(2), 125-129.
- de Munter, J.S.L. et al., 2007.** Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. *PLoS Medicine*, 4(8), e261.
- Murdolo, G. et al., 2003.** Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes*, 52(12), 2923-2927.
- Naumann, E. et al., 2006.** Beta-glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(3), 601-605.
- Nauck MA et al., 1997.** Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *American Journal of Physiology*, 273(5 Pt 1):E981-8.
- Nilsson, M. et al., 2004.** Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1246-1253.
- Nilsson, A. et al., 2006.** Effects of GI and content of indigestible carbohydrates of cereal-based evening meals on glucose tolerance at a subsequent standardised breakfast. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60(9), 1092-1099.
- Nilsson, M., Holst, J.J. & Björck, I.M., 2007.** Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(4), 996-1004.
- Nilsson, A.C. et al., 2008.** Effect of cereal test breakfasts differing in glycemic index and content of indigestible carbohydrates on daylong glucose tolerance in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(3), 645-654.

Normand, S. et al., 1992. ^{13}C appearance in plasma glucose and breath CO_2 during feeding with naturally ^{13}C -enriched starchy food in normal humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(2), 430-435.

Normand, S. et al., 2001. Influence of dietary fat on postprandial glucose metabolism (exogenous and endogenous) using intrinsically (^{13}C) -enriched durum wheat. *The British Journal of Nutrition*, 86(1), 3-11.

Nuttall, F.Q. et al., 1985. Plasma glucose and insulin profiles in normal subjects ingesting diets of varying carbohydrate, fat, and protein content. *Journal of the American College of Nutrition*, 4(4), 437-450.

Onning, G. et al., 1999. Consumption of oat milk for 5 weeks lowers serum cholesterol and LDL cholesterol in free-living men with moderate hypercholesterolemia. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 43(5), 301-309.

Opperman, A.M. et al., 2004. Meta-analysis of the health effects of using the glycaemic index in meal-planning. *The British Journal of Nutrition*, 92(3), 367-381.

Ostman et al., 2001. Inconsistency between glycemic and insulinemic responses to regular and fermented milk products. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(1), 96-100.

Ostman, E.M. et al., 2006. A dietary exchange of common bread for tailored bread of low glycaemic index and rich in dietary fibre improved insulin economy in young women with impaired glucose tolerance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60(3), 334-341.

Pascal, G. et al., 2006. Redécouverte des propriétés fonctionnelles de l'aliment : fondements scientifiques généraux. , 41(1), 39-45.

Pasman, W.J. et al., 1997. Effect of one week of fibre supplementation on hunger and satiety ratings and energy intake. *Appetite*, 29(1), 77-87.

Pénicaud, L., 2001. Contrôle du métabolisme intermédiaire par le système nerveux central et périphérique. Dans traité de nutrition artificielle de l'adulte. Paris: Flammarion, pp. 179-186.

Pereira, M.A. & Ludwig, D.S., 2001. Dietary fiber and body-weight regulation. Observations and mechanisms. *Pediatric Clinics of North America*, 48(4), 969-980.

Pierce, M., Keen, H. & Bradley, C., 1995. Risk of diabetes in offspring of parents with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 12(1), 6-13.

Pomare, E.W., Branch, W.J. & Cummings, J.H., 1985. Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood. *The Journal of Clinical Investigation*, 75(5), 1448-1454.

Poppitt, S.D., 2007. Soluble fibre oat and barley beta-glucan enriched products: can we predict cholesterol-lowering effects? *The British Journal of Nutrition*, 97(6), 1049-1050.

Proietto, J. et al., 1987. Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model. *The American Journal of Physiology*, 252(1 Pt 1), E77-84.

Rabasa-Lhoret, R. & Laville, M., 2001. Physiopathologie des obésités et diabète de type 2. Dans Encyclopédie Médicochirurgicale.

Raben, A. et al., 1994. Resistant starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response, and satiety. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60(4), 544-551.

Radziuk, J. et al., 1978. Initial splanchnic extraction of ingested glucose in normal man. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 27(6), 657-669.

Randle, P.J. et al., 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 1(7285), 785-789.

Ranganathan, S. et al., 1994. Comparative study of the acute effects of resistant starch and dietary fibers on metabolic indexes in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(4), 879-883.

Rasmussen, O., 1993. Day-to-day variation of the glycemic response in subjects with insulin-dependent diabetes with standardized premeal blood glucose and prandial insulin concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57(6), 908-911.

Reyna, N.Y. et al., 2003. Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients. *American Journal of Therapeutics*, 10(6), 438-443.

Rigalleau, V. et al., 2006. Effect of hyperglycemia on glucose metabolism before and after oral glucose ingestion in normal men. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 290:1198-1204.

Rimm, E.B. et al., 1996. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 275(6), 447-451.

Ripsin, C.M. et al., 1992. Oat products and lipid lowering. A meta-analysis. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 267(24), 3317-3325.

Rizkalla, S.W., Bellisle, F. & Slama, G., 2002. Health benefits of low glycaemic index foods, such as pulses, in diabetic patients and healthy individuals. *The British Journal of Nutrition*, 88 Suppl 3, S255-262.

Rizza, R.A., Mandarino, L.J. & Gerich, J.E., 1981. Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *The American Journal of Physiology*, 240(6), E630-639.

Roberts, S.B., 2003. Glycemic index and satiety. *Nutrition in Clinical Care: An Official Publication of Tufts University*, 6(1), 20-26.

Roberts, S.B. & Pittas, A.G., 2003. The role of glycemic index in type 2 diabetes. *Nutrition in Clinical Care: An Official Publication of Tufts University*, 6(2), 73-78.

Robertson, M.D. et al., 2005. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(3), 559-567.

Rossetti, L., Giaccari, A. & DeFronzo, R.A., 1990. Glucose toxicity. *Diabetes Care*, 13(6), 610-630.

de Rougemont, A. et al., 2007. Beneficial effects of a 5-week low-glycaemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects. *The British Journal of Nutrition*, 98(6), 1288-1298.

Ruppin, H. et al., 1980. Absorption of short-chain fatty acids by the colon. *Gastroenterology*, 78(6), 1500-1507.

Saad, M.F. et al., 2002. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(8), 3997-4000.

Salmerón, J. et al., 1997. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care*, 20(4), 545-550.

Salmerón, J. et al., 1997. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 277(6), 472-477.

Saltiel, A.R. & Kahn, C.R., 2001. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806.

Schaller, G. et al., 2003. Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes*, 52(1), 16-20.

Schenk, S. et al., 2003. Different glycemic indexes of breakfast cereals are not due to glucose entry into blood but to glucose removal by tissue. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(4), 742-748.

Schnell, O. & Standl, E., 2006. Impaired glucose tolerance, diabetes, and cardiovascular disease. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 12 Suppl 1, 16-19.

Schoeller, D.A. et al., 1980. ¹³C abundances of nutrients and the effect of variations in ¹³C isotopic abundances of test meals formulated for ¹³CO₂ breath tests. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33(11), 2375-2385.

Schulze, M.B. et al., 2004. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 348-356.

Schulze, M.B. et al., 2007. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Archives of Internal Medicine*, 167(9), 956-965.

Shiyya, T. et al., 2002. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(1), 240-244.

Simonson, D.C & DeFronzo R.A., 1990. Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. *American Journal of Physiology*, 258:395-412.

- Skutches, C.L. et al., 1979.** Plasma acetate turnover and oxidation. *The Journal of Clinical Investigation*, 64(3), 708-713.
- Slavin, J., 2004.** Whole grains and human health. *Nutrition Research Reviews*, 17(1), 99-110.
- Slavin, J.L., 2005.** Dietary fiber and body weight. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 21(3), 411-418.
- Sloth, B. et al., 2004.** No difference in body weight decrease between a low-glycemic-index and a high-glycemic-index diet but reduced LDL cholesterol after 10-wk ad libitum intake of the low-glycemic-index diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 337-347.
- Sorkin, J.D. et al., 2005.** The relation of fasting and 2-h postchallenge plasma glucose concentrations to mortality: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging with a critical review of the literature. *Diabetes Care*, 28(11), 2626-2632.
- Sparti, A. et al., 2000.** Effect of diets high or low in unavailable and slowly digestible carbohydrates on the pattern of 24-h substrate oxidation and feelings of hunger in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(6), 1461-1468.
- Spiegel, K., Leproult, R. & Van Cauter, E., 1999.** Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet*, 354(9188), 1435-1439.
- Stalmans, W., Bollen, M. & Mvumbi, L., 1987.** Control of glycogen synthesis in health and disease. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 3(1), 127-161.
- Stevenson, E., Williams, C. & Nute, M., 2005.** The influence of the glycaemic index of breakfast and lunch on substrate utilisation during the postprandial periods and subsequent exercise. *The British Journal of Nutrition*, 93(6), 885-893.
- Stratton, I.M. et al., 2000.** Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 321(7258), 405-412.
- Symonds, E.L. et al., 2004.** A combined $^{13}\text{CO}_2/\text{H}_2$ breath test can be used to assess starch digestion and fermentation in humans. *The Journal of Nutrition*, 134(5), 1193-1196.
- Tappy, L., Gügölz, E. & Würsch, P., 1996.** Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. *Diabetes Care*, 19(8), 831-834.
- The DECODE study group, 1999.** Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. , 354(9179), 617-21.
- Thorburn, A., Muir, J. & Proietto, J., 1993.** Carbohydrate fermentation decreases hepatic glucose output in healthy subjects. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 42(6), 780-785.
- Tissot, S. et al., 1990.** Use of a new gas chromatograph isotope ratio mass spectrometer to trace exogenous ^{13}C labelled glucose at a very low level of enrichment in man. *Diabetologia*, 33(8), 449-456.

- Todesco, T. et al., 1991.** Propionate lowers blood glucose and alters lipid metabolism in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(5), 860-865.
- Tremblay, A. et al., 1991.** Nutritional determinants of the increase in energy intake associated with a high-fat diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 1134-1137.
- Trout, D.L., Behall, K.M. & Osilesi, O., 1993.** Prediction of glycemic index for starchy foods. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(6), 873-878.
- Tschöp, M. et al., 2001.** Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *Journal of Endocrinological Investigation*, 24(6), RC19-21.
- Tserng, K.Y. & Kalhan, S.C., 1983.** Calculation of substrate turnover rate in stable isotope tracer studies. *The American Journal of Physiology*, 245(3), E308-311.
- Unger, R.H. & Eisentraut, A.M., 1969.** Entero-insular axis. *Archives of Internal Medicine*, 123(3), 261-266.
- de Vegt, F. et al., 2001.** Relation of impaired fasting and postload glucose with incident type 2 diabetes in a Dutch population: The Hoorn Study. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 285(16), 2109-2113.
- Venter, C.S., Vorster, H.H. & Cummings, J.H., 1990.** Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers. *The American Journal of Gastroenterology*, 85(5), 549-553.
- Vinoy, S., 2001.** the glycemic index of cereal foods commonly consumed at breakfast depends on the type of food processing. abstract, 45.
- Vuksan, V. et al., 1999.** Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. A randomized controlled metabolic trial. *Diabetes Care*, 22(6), 913-919.
- Wannamethee, S.G. & Shaper, A.G., 1999.** Weight change and duration of overweight and obesity in the incidence of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 22(8), 1266-1272.
- Weickert, M.O. et al., 2005.** Impact of cereal fibre on glucose-regulating factors. *Diabetologia*, 48(11), 2343-2353.
- Weickert, M.O. et al., 2006.** Cereal fiber improves whole-body insulin sensitivity in overweight and obese women. *Diabetes Care*, 29(4), 775-780.
- Weickert, M.O. & Pfeiffer, A.F.H., 2008.** Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *The Journal of Nutrition*, 138(3), 439-442.
- Weickert, M.O. & Pfeiffer, A.F.H., 2009.** Low-glycemic index vs high-cereal fiber diet in type 2 diabetes. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 301(15), 1538; author reply 1538-1539.
- Wild, S. et al., 2004.** Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(5), 1047-1053.

Willett, W., Manson, J. & Liu, S., 2002. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 274S-80S.

Woerle, H.J. et al., 2007. Impact of fasting and postprandial glycemia on overall glycemic control in type 2 diabetes Importance of postprandial glycemia to achieve target HbA1c levels. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 77(2), 280-285.

Wolever, T.M. et al., 1985. Prediction of the relative blood glucose response of mixed meals using the white bread glycemic index. *Diabetes Care*, 8(5), 418-428.

Wolever, T.M. & Jenkins, D.J., 1986. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 43(1), 167-172.

Wolever, T.M. et al., 1988a. Second-meal effect: low-glycemic-index foods eaten at dinner improve subsequent breakfast glycemic response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 48(4), 1041-1047.

Wolever, T.M. et al., 1988b. Second-meal effect: low-glycemic-index foods eaten at dinner improve subsequent breakfast glycemic response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 48(4), 1041-1047.

Wolever, T.M. et al., 1989. Effect of rectal infusion of short chain fatty acids in human subjects. *The American Journal of Gastroenterology*, 84(9), 1027-1033.

Wolever, T.M. et al., 1990. Glycemic index of foods in individual subjects. *Diabetes Care*, 13(2), 126-132.

Wolever, T.M. et al., 1991. The glycemic index: methodology and clinical implications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(5), 846-854.

Wolever, T.M., Spadafora, P. & Eshuis, H., 1991. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(3), 681-687.

Wolever, T.M. et al., 1991. Effect of method of administration of psyllium on glycemic response and carbohydrate digestibility. *Journal of the American College of Nutrition*, 10(4), 364-371.

Wolever, T.M., Bentum-Williams, A. & Jenkins, D.J., 1995. Physiological modulation of plasma free fatty acid concentrations by diet. Metabolic implications in nondiabetic subjects. *Diabetes Care*, 18(7), 962-970.

Wolever, T.M. & Bolognesi, C., 1996. Prediction of glucose and insulin responses of normal subjects after consuming mixed meals varying in energy, protein, fat, carbohydrate and glycemic index. *The Journal of Nutrition*, 126(11), 2807-2812.

Wolever, T.M.S. et al., 2003. Determination of the glycaemic index of foods: interlaboratory study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(3), 475-482.

Wolever, T.M.S. et al., 2006. Food glycemic index, as given in glycemic index tables, is a significant determinant of glycemic responses elicited by composite breakfast meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(6), 1306-1312.

- Wolever, T.M.S. et al., 2008.** Low glycaemic index diet and disposition index in type 2 diabetes (the Canadian trial of carbohydrates in diabetes): a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 51(9), 1607-1615.
- Wolever, T.M.S. et al., 2008.** Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(1), 247S-257S.
- Wolever, T.M.S. et al., 2009.** Day-to-day variation in glycemic response elicited by white bread is not related to variation in satiety in humans. *Appetite*, 52(3), 654-658.
- Wolk, A. et al., 1999.** Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 281(21), 1998-2004.
- Wong, J.M.W. et al., 2006.** Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3), 235-243.
- Wood, P.J. et al., 1994.** Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *The British Journal of Nutrition*, 72(5), 731-743.
- Wood, P.J., Beer, M.U. & Butler, G., 2000.** Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat beta-glucan in determining effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *The British Journal of Nutrition*, 84(1), 19-23.
- Wright, R.S., Anderson, J.W. & Bridges, S.R., 1990.** Propionate inhibits hepatocyte lipid synthesis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 195(1), 26-29.
- Würsch, P. et al., 1988.** Metabolic effects of instant bean and potato over 6 hours. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 48(6), 1418-1423.
- Würsch, P. & Pi-Sunyer, F.X., 1997.** The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. *Diabetes Care*, 20(11), 1774-1780.
- Ylönen, K. et al., 2003.** Associations of dietary fiber with glucose metabolism in nondiabetic relatives of subjects with type 2 diabetes: the Botnia Dietary Study. *Diabetes Care*, 26(7), 1979-1985.
- Zimmet, P., Alberti, K.G. & Shaw, J., 2001.** Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 414(6865), 782-787.

ANNEXES

de Rougemont, Normand, Nazare, et al. (2007) Beneficial effects of a 5-week low-glycaemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects. Br J Nutr; 6: 1288-1298.

Nazare, Laville, Biliaderis, et al. (2008) Novel food ingredients for weight control - Part 2: Ingredients from grains, fruit and vegetables for weight control 7. β -glucans, Woodhead Publishing Limited

Cugnet-Anceau et Nazare, Biorklund et al. (2009) A controlled study of consumption of beta-glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. Br J Nutr 28: 1-7.

Beneficial effects of a 5-week low-glycaemic index regimen on weight control and cardiovascular risk factors in overweight non-diabetic subjects

Alexis de Rougemont^{1*}, Sylvie Normand¹, Julie-Anne Nazare¹, Michael R. Skilton¹, Monique Sothier¹, Sophie Vinoy² and Martine Laville¹

¹Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, INSERM U 449, INRA 1235, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²Danone Vitapole (Part of Eurostarch research program, European Union), Paris, France

(Received 4 January 2007 – Revised 20 April 2007 – Accepted 14 May 2007)

The glycaemic index (GI) has been developed in order to classify food according to the postprandial glycaemic response. This parameter is of interest, especially for people prone to glucose intolerance; however, the effects of a low-GI (LGI) diet on body weight, carbohydrate and lipid metabolism remain controversial. We studied the effects of either a LGI or high-GI (HGI) diet on weight control and cardiovascular risk factors in overweight, non-diabetic subjects. The study was a randomized 5-week intervention trial. The thirty-eight subjects (BMI 27.3 (SEM 0.2) kg/m²) followed an intervention diet in which usual starch was replaced *ad libitum* with either LGI or HGI starch. Mean body weight decrease was significant in the LGI group (−1.1 (SEM 0.3) kg, $P=0.004$) and was significantly greater than in the HGI group (−0.3 (SEM 0.2) kg, $P=0.04$ between groups). Hunger sensation scales showed a trend towards a decrease in hunger sensation before lunch and dinner in the LGI group when compared with the HGI group ($P=0.09$). No significant increase in insulin sensitivity was noticed. The LGI diet also decreased total cholesterol by 9.6% ($P<0.001$), LDL-cholesterol by 8.6% ($P=0.01$) and both LDL:HDL-cholesterol ratio (10.1%, $P=0.003$) and total:HDL-cholesterol ratio (8.5%, $P=0.001$) while no significant changes were observed in the HGI group. Lowering the GI of daily meals with simple dietary recommendations results in increased weight loss and improved lipid profile and is relatively easy to implement with few constraints. These potential benefits of consuming a LGI diet can be useful to develop practical dietetic advice.

Glycaemic index: Weight loss: CVD: Glucose oxidation: Insulin: Cholesterol

The notion of glycaemic index (GI) was introduced two decades ago to compare food exchanges within carbohydrate food categories¹. Two tables of GI values were successively published in 1995² and 2002³ and referenced nearly 1300 foods and ingredients. The classification of carbohydrates into simple or complex carbohydrates is of little use for food GI prediction. GI is influenced by starch structure itself, manufacture and cooking processes, which play a considerable role in the final GI^{4,5}. In fact, dietary carbohydrates influence metabolism by at least four mechanisms: nature of the monosaccharides absorbed; amount of carbohydrate consumed; rate of absorption; colonic fermentation⁶. Then, GI was proposed as a way to reduce postprandial glucose and insulin peaks – a situation that could have health benefits, in particular towards obesity, diabetes development and cardiovascular risk^{7–12}. Despite controversial literature data, dietary GI is potentially important in the treatment and prevention of chronic diseases and cancers⁷.

Many studies over the past two decades performed with diabetic subjects have shown that low-GI (LGI) regimens were able to improve glucose tolerance and plasma insulin sensitivity. LGI diets would also be beneficial through a

more moderate insulin response (lower postprandial peak). Acute experiments in healthy subjects have shown a decrease in 24 h glucose concentrations^{13,14}. Improvement in the lipid profile with a decrease in total cholesterol, LDL-cholesterol and TAG concentrations and an increase in HDL-cholesterol were observed in longer-term studies^{15–18}. A decrease in fat mass without weight modification was also found in one recent study¹⁹. An increase in glucose oxidation during the first two postprandial hours was noted in healthy adults after a high-GI (HGI) breakfast consumption²⁰. Conversely, LGI foods are responsible for an increase in fat oxidation^{21,22}.

Moreover, food intake may be influenced by the quality of carbohydrates, which could play a substantial role in satiety²³. A LGI breakfast in an obese adolescent is associated with a lower food intake at lunch^{24,25}. This suggests that the GI of foods could play a role in hunger regulation. Therefore, the prolonged satiety associated with LGI foods may be an effective method for reducing energy intake and achieving long-term weight control²⁵.

This trial assessed the metabolic effects of LGI and HGI regimens on body composition and blood parameters in overweight, non-diabetic subjects. Influence of a LGI diet and

Abbreviations: GI, glycaemic index; GL, glycaemic load; HGI, high GI; LGI, low GI; WHR, waist:hip ratio.

* **Corresponding author:** Dr. Alexis de Rougemont, fax +33 (0) 47 211 9539, email alexis.de-rougemont@sante.univ-lyon1.fr

metabolic adaptations to a 5-week nutritional intervention were studied through the variation of anthropometric parameters (weight, BMI, body fat mass), fasting plasma glucose and lipid concentrations as well as substrate oxidation on day 1 and day 36. It is part of the European project, EURO-STAR, designed to assess the nutritional benefits of starchy foods according to their nature, especially in patients at high risk for developing obesity and diabetes.

Subjects and methods

Experimental design

A 5-week nutritional, intervention trial was conducted using two types of dietary regimens. Subjects received either LGI or HGI foods in replacement of their usual starchy foods. It was a randomized, parallel group study. All participating subjects received written and oral information about the protocol and gave written informed consent. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon and was in accordance with both the French 'Huriet-Serusclet' law and the Second Declaration of Helsinki. The two types of diets were randomly allocated according to the CONSORT guidelines.

On day 1 and day 36 of the study, body weight, body composition (impedance), energy and substrate oxidation (indirect calorimetry) were measured; fasting blood and urine samples were collected. Subjects also completed a 5-d dietary survey during the pre-inclusion period, as well as in weeks 3 and 5 of the study period.

Subjects

Subjects were recruited from the greater Lyon (France) area by advertisements. We performed a power calculation based on our primary study endpoint of change in bodyweight. Assuming a decrease in body weight of 1 (SD 1) kg for the LGI diet group and no change in body weight for the HGI diet group (SD 1), seventeen subjects per group provided >80% power to detect a significant difference in weight loss between groups at the $P < 0.05$ level. The inclusion criteria for the study were men and women aged 20–60 years, BMI 25–30 kg/m², stable body weight over the previous 3 months, non-pathological results for pre-inclusion biological tests, report of sedentary or moderate physical activity and a usual breakfast habit including cereals and representing 10–25% of the daily energy intake. The exclusion criteria were pregnancy or women likely to become pregnant, post-menopausal women, any physiological or psychological illness that could influence the results, subjects likely to take medical drugs interfering with the biological parameters of the study, any metabolic disorders (including diabetes, dyslipidaemia and glucose intolerance), intense physical activity and report or evidence of excessive alcohol consumption or eating disorders. Subjects were also required not to have made any blood donation within the past 3 months before entering the study.

Approximately eighty people responded by telephone to the recruitment campaign; sixty-eight of these people were given further information about the study and underwent the pre-inclusion tests. Each subject had a screening test including measurements of body weight, height, blood pressure, waist:hip ratio (WHR), an interview regarding general health and

a blood sample (blood differential count, glycaemia, transaminases, γ GT, total cholesterol, HDL- and LDL-cholesterol, and TAG). Eating habits were also explored through dietary surveys, including consultation and advice by a trained dietitian and dietary records. Following the pre-inclusion tests, a total of forty suitable volunteers (twenty men and twenty women) were enrolled in the study.

The subjects were randomized into two groups as follows: twenty subjects in the LGI diet group (nine men and eleven women); twenty subjects in the HGI diet group (eleven men and nine women). Out of the forty enrolled subjects, only thirty-eight completed the study. Two subjects (women) – one in each diet group – could not perform the metabolic exploration on day 36 because of a viral infection (influenza) in one case and technical problems in the other case (inability to set catheters). Data from these two subjects were not analysed.

Experimental diets and assessment

The present study consisted of *ad libitum* diets in which starches were replaced by either LGI or HGI starchy foods. Foods were considered as LGI whenever GI < 50 and HGI whenever GI > 70 (relative to glucose). The subjects received individual guidance by a trained clinical dietitian during the pre-inclusion period, on day 1 and at the end of week 3 (day 21).

According to their dietary group, a list was given to the subjects indicating the starches they were allowed to eat and those prohibited in their group (Table 1). Lists of products were set using tables published by Foster-Powell *et al.*³. To increase subject compliance, part of the starches was provided for both groups throughout the study. Because of the relative availability of some food products, durum wheat precooked in pouches and black bread were provided by the Research Centre in Human Nutrition of Lyon to the subjects of the

Table 1. Allowed starch lists according to diet group*§

Allowed starch
<i>LGI diet group</i>
Breakfast biscuits† (GI 45)
Black bread‡ (Harris® pumpnickel, GI 50)
Spaghetti al dente (GI 32)
Other pastas (GI 48)
Durum wheat precooked in pouch‡ (Ebly®, GI 40)
Bulgur (GI 48)
Semolina (GI 55)
<i>HGI diet group</i>
Breakfast extruded cereals† (GI 70)
White bread, whole meal bread (GI 95)
Mashed potatoes (GI 75) Peeled, baked or 35-min boiled potatoes (GI 70)
French fries, chips (GI 75)
Gnocchi (GI 70)
Flour contents: pizzas, quiche, etc. (GI 70–80)
Prohibited starch
Rice (GI unpredictable)
Starches belonging to the other diet group list

* Glycaemic index (GI) was calculated using glucose as standard.

† Supplied by Danone Vitapole®, Paris, France.

‡ Supplied by the Centre de Recherche en Nutrition, Humaine, Lyon, France.

§ For details of subjects and procedures, see Subjects and methods.

LGI, low-GI; HGI, high-GI.

LGI group. Breakfasts were provided by Danone Vitapole[®] (Paris, France) and consisted of biscuits for the LGI group and extruded cereals for the HGI group. These breakfasts were isoenergetic, isoproteic, isoglucidic and isolipidic and their composition is reported in Table 2. Resistant starch, slowly and rapidly available glucose were estimated according to the method proposed by Englyst *et al.*²⁶. Subjects were asked to consume the same amount of starch as usual and change only the type of starch. They were also asked not to modify their dietary habits regarding the food patterns and the amount of fruits and vegetables eaten.

The subjects were instructed to evaluate and record the amount of food and beverages eaten each day using a 5-d food diary during the pre-inclusion period (day 11–day 7) and in weeks 3 (day 16–day 20) and 5 (day 31–day 35) of the study. Ingested quantities were evaluated by the dietician using a SU.VI.MAX[®] (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants) dietary photographic support²⁷. The macronutrient content of the test foods and 5-d dietary records were calculated using a computerized food database that included specific product-ingredient lists and recipes for test foods (latest release of GENI[®] software by MICRO 6[®] using CIQUAL tables (AFSSA, France)). Energy intake:BMR ratio was calculated on the basis of the 5-d dietary record periods for each subject to identify underreporting. Underreporting was researched using the Goldberg's cut-off limits ($1.04 \times \text{BMR}$)²⁸. BMR was measured using indirect calorimetry at baseline and week 5. Mean GI of all meals taken in a day were determined using the following equation:

$$\text{GI}_{\text{mean}} = \sum((C_{\text{food}}/C_{\text{total}}) \times \text{GI}_{\text{food}})$$

where C_{food} is the amount of carbohydrate (g) contained in each ingested food product and C_{total} is the total amount of carbohydrate (g) ingested during the day. Mean GI targets were defined as <50 for the LGI group and >70 for the HGI group. Mean glycaemic loads (GL) of all meals taken in a day were determined using the following equation:

$$\text{GL}_{\text{mean}} = \sum(\text{GI}_{\text{food}} \times C_{\text{food}})$$

Subjects were also asked to assess hunger sensations four times per d (in the morning, before lunch, in the afternoon

Table 2. Breakfast biscuits and extruded cereals composition†

Cereal products	LGI breakfast biscuits		HGI breakfast extruded cereals	
	g	kJ	g	kJ
Total	80	1467	80	1455
Protein	7.0	117	6.9	115
Fat	9.8	369	9.5	357
Carbohydrate	58.6	980	58.6	980
Sugar	18.8	–	18.8	–
Starch	39.8	–	39.8	–
SAG* (g)	26	–	<1	–
RAG* (g)	40	–	66	–

* Estimated types of nutritional carbohydrate fractions according to Englyst's method²⁶.

† For details of subjects and procedures, see Subjects and methods. LGI, low glycaemic index; HGI, high glycaemic index; SAG, slowly available glucose; RAG, rapidly available glucose.

and before dinner) by repeated ratings on 100 mm visual analogue scales anchored at either end with the words 'none' and 'extreme'²⁹.

Measurements

Metabolic explorations and protocol sequence. Metabolic explorations were undertaken in the fasting state on day 1 and day 36 of the protocol. The body weight of subjects dressed in underwear was measured to the nearest 0.1 kg using a calibrated digital scale from SECA S.A. (Valenciennes, France). Body composition was assessed through monofrequency impedance measurement at 50 kHz (Star 50[®]; Spengler S.A., Antony, France)³⁰.

All blood samples were taken from an antecubital arm vein through a catheter. Blood samples were collected in tubes containing lithium heparinate and centrifuged at 3000g and 4°C for 10 min; plasmas were stored at -20°C . Glucose, TAG and NEFA concentrations were measured with an enzymatic colorimetric method (introduced by Trinder³¹) on a Cary 50 Bio[®] spectrophotometer from Varian Inc. (Palo Alto, California, USA) using a Glucose RTU[®] kit and a TG PAP[®] 150 kit from BioMérieux S.A. (Lyon, France) and a NEFA-C[®] kit from Oxoid Ltd. (Basingstoke, Hampshire, UK).

Plasma total cholesterol and HDL-cholesterol concentrations were measured on a MODULAR[®] Analytics P800 module from F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Roche Diagnostics Division, Basel, Switzerland). Plasma LDL-cholesterol concentrations were calculated using the equation of Friedewald *et al.*³².

Changes in mean serum total cholesterol between day 1 and day 36 were also estimated with equations developed by Keys *et al.*³³ and Hegsted *et al.*³⁴ respectively:

$$\Delta\text{Cholesterol1 (mg/dl)} = 2.7 \Delta\text{S} - 1.35 \Delta\text{P} + 1.5 \Delta\text{Z}^{\frac{1}{2}}$$

$$\Delta\text{Cholesterol (mg/dl)} = 2.16 \Delta\text{S} - 1.65 \Delta\text{P} + 0.067 \Delta\text{C} - 0.53$$

where S is SFA expressed as a percentage of total energy intake, P is PUFA expressed as a percentage of total energy intake, Z is dietary cholesterol expressed in mg/4200 kJ per d and C is dietary cholesterol expressed in mg/d. The results are then converted to mmol/l.

Plasma insulin and C-peptide concentrations were determined by RIA. Quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) was calculated using the formulas proposed by Katz *et al.*³⁵. Homeostasis model assessment for estimate of relative insulin resistance (HOMA-IR) was calculated using the formulas proposed by Matthews *et al.*³⁶.

$$\text{QUICKI} = 1/(\log[\text{insulin}] + \log[\text{glucose}])$$

$$\text{HOMA-IR} = ([\text{glucose}] \times [\text{insulin}])/22.5$$

where plasma glucose is expressed in mmol/l and serum insulin is expressed in mU/l.

Indirect calorimetry. Indirect calorimetry records were performed concomitantly with the metabolic explorations on day 1 and day 36 using a Deltatrac[®] calorimeter from Datex

Instrumentation Corp. (Helsinki, Finland). Resting metabolism and energy expenditure as well as substrate oxidations (proteins, lipids and carbohydrates) were analysed. During explorations, VO_2 ml/min and VCO_2 ml/min were recorded every minute for 60 min. Substrate oxidations were calculated with Ferrannini's equations³⁷.

Statistical analyses

Differences between groups at baseline were calculated using Mann and Whitney test. Differences between groups in weight and cholesterol were assessed using analysis of covariance procedure with baseline as a covariate³⁸. Mean GI and macronutrient distribution from dietary records at pre-inclusion, week 3 and week 5 were calculated on the basis of the amounts of foods eaten (self-reported compliance) and assessed by ANOVA procedure for repeated measures, testing for overall difference in level between diet groups (main effect of diet), change over time (main effect of time) and difference in time course between groups (diet \times time interaction).

Differences between groups on days 1 and 36, changes in fasting blood samples, insulin resistance and sensitivity indexes and substrate oxidation values were analysed using analysis of covariance procedure using baseline as covariate.

All statistical analyses were performed using JMP[®] software, version 5.1.1 from SAS Institute Inc. (Cary, NC, USA). Statistical significance was inferred at $P < 0.05$. Results are reported as means with their standard errors.

Results

The characteristics of the thirty-eight subjects are presented in Table 3. There were no significant differences between groups at baseline. After statistical calculations, age did not interfere with any measured parameters.

Dietary intake

Dietary survey data and compliance. Self-reported data determined from the dietary records indicated good subject compliance. Nutritional intervention required a short-term adaptation but new regimens were completely accepted after a few days with good tolerance. A few cases of bloating were reported due to the use of black bread but without any impact on subject compliance. Only twenty hunger sensation reports (nine in the LGI group; eleven in the HGI group) were complete and suitable for analysis, and hunger sensation scale data revealed no differences between groups at baseline. In the LGI group, there was a trend towards an increased satiety before lunch when compared with the HGI group ($P = 0.09$ for diet \times time interaction; data not shown).

Mean glycaemic index and glycaemic load. There were no significant differences in GI and GL between groups at baseline. After a 5-week nutritional intervention, dietary survey results showed that all subjects in the LGI group reached the defined LGI target (i.e. < 50) with a significant decrease in mean GI after 5 weeks of diet (LGI -17.3 (SEM 1.1), $P < 0.001$). In the HGI group the defined HGI target (i.e. > 70) was not reached, GI remained at a high level but with no significant variation of their mean GI after 5 weeks of diet. The difference in mean GI between the LGI and HGI groups was significant after 5 weeks of treatment ($P < 0.0001$). GL were also decreased in the LGI diet group (-2.1 (SEM 0.6), $P = 0.002$) but remained unchanged in the HGI group. There was no significant difference in GL between groups after 5 weeks of diet (Table 4).

Macronutrient distribution. Dietary records showed that there was no significant variation in energy intake, protein, fat and carbohydrate distribution in both groups during the study period as well as between groups at baseline and after 5 weeks of nutritional intervention. There was also no difference in dietary fibre intake between groups at baseline

Table 3. Subject characteristics at baseline*†
(Mean values with their standard errors)

	LGI diet group (n 19)			HGI diet group (n 19)		
	Mean	SEM	Range	Mean	SEM	Range
Age (years)	36.3	2.0	24–50	40.4	2.2	23–57
Weight (kg)	77.2	2.2	57.6–91.2	77.3	2.1	65.5–91.0
BMI (kg/m ²)	27.5	0.3	24.7–30.1	27.2	0.3	25.3–30.7
Fat mass (kg)	24.5	3.2	20.2–30.7	22.1	4.3	14.6–30.0
WHR	0.86	0.02	0.71–0.98	0.90	0.02	0.81–1.00
Glucose (mmol/l)	5.15	0.15	4.20–7.13	5.31	0.08	4.74–6.09
Insulin (mU/l)	9.7	1.4	2.7–24.4	8.9	0.8	4.9–18.8
C-peptide (pmol/l)	0.67	0.06	0.27–1.28	0.67	0.05	0.34–1.12
Total cholesterol (mmol/l)	5.21	0.23	3.77–7.22	5.20	0.18	3.89–6.73
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.51	0.08	0.96–2.32	1.59	0.11	0.94–2.93
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.07	0.24	0.96–4.84	3.12	0.18	2.13–5.08
Total/HDL cholesterol	3.68	0.28	1.67–6.43	3.50	0.24	1.99–6.17
LDL/HDL cholesterol	2.21	0.24	0.41–4.74	2.17	0.22	0.81–4.66
TAG (μ mol/l)	954	493	370–2601	879	285	352–1520
NEFA (μ mol/l)	472	119	230–726	448	158	217–803
Carbohydrate oxidation (mg/kg per min)	1.16	0.13	0.23–2.57	1.26	0.13	0.29–2.54
Lipid oxidation (mg/kg per min)	0.68	0.06	0.05–1.36	0.73	0.07	0.11–1.20

* No significant difference between groups was found at baseline using a Mann and Whitney test.

† For details of subjects and procedures, see Subjects and methods.

WHR, waist:hip ratio; LGI, low-glycaemic index; HGI, high-glycaemic index.

Table 4. Dietary record data†
(Mean values with their standard errors)

	LGI diet group (n 19)						HGI diet group (n 19)						P*		
	Baseline		Week 3		Week 5		Baseline		Week 3		Week 5				
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Diet	Time	Diet×time
Glycaemic index	63.7	0.8	46.2	0.4	46.5	0.3	68.9	0.7	67.1	0.6	66.3	0.6	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Glycaemic load	13.2	0.6	11.0	0.4	11.3	0.4	16.4	0.6	15.9	0.5	16.5	0.7	0.16	0.02	0.16
Energy intake															
(kJ/d)	8536	272	8210	201	8289	247	8937	259	8699	251	8607	255	0.49	0.17	0.90
(kcal/d)	2042	65	1964	48	1983	59	2138	62	2081	60	2059	61	–	–	–
BMR															
(kJ/d)	6496	209	–	–	6420	222	6830	276	–	–	6926	322	0.25	0.89	0.26
(kcal/d)	1554	50	–	–	1536	53	1634	66	–	–	1657	77	–	–	–
EI/BMR	1.31	0.07	1.28	0.03	1.30	0.05	1.33	0.05	1.27	0.04	1.26	0.06	0.85	0.21	0.62
Total carbohydrates															
(g/d)	201.1	7.0	198.1	4.6	199.4	5.0	226.0	7.7	212.3	5.9	220.1	7.0	0.17	0.34	0.62
(% energy)	40.9	0.9	42.6	0.9	42.6	0.9	43.5	0.8	42.7	0.8	44.1	0.8	0.39	0.44	0.37
Dietary fibre (g)	18.3	1.1	24.4	1.2	25.8	1.5	17.7	0.7	16.9	0.6	18.1	0.9	0.0002	<0.0001	<0.0001
Sugar (g)	74.6	3.7	73.9	2.1	72.9	2.5	89.5	4.1	83.7	2.9	87.3	3.3	0.04	0.57	0.52
Fat															
(g/d)	88.7	3.7	81.5	3.2	83.1	3.9	91.7	3.6	90.2	3.8	87.6	3.5	0.49	0.09	0.67
(% energy)	40	0.9	37.8	0.9	37.7	1.0	38.9	0.8	39.3	0.8	38.4	0.7	0.80	0.26	0.27
SFA (g/d)	33.4	2.2	26.2	2.1	27.5	3.0	35.3	2.8	29.8	2.6	27.6	2.6	0.58	<0.0001	0.53
MUFA (g/d)	29.4	2.2	25.5	1.9	27.8	3.0	29.0	2.0	27.3	2.5	24.9	2.4	0.87	0.02	0.37
PUFA (g/d)	11.6	1.2	9.0	1.0	8.8	0.9	11.1	0.9	10.8	1.0	11.6	1.3	0.24	0.20	0.14
Cholesterol (mg/d)	351.2	33.9	276.6	17.4	304.2	21.9	338.6	18.7	333.7	32.8	290.6	20.1	0.72	0.03	0.09
Protein															
(g/d)	93.3	3.1	93.3	2.8	94.1	2.9	88.8	2.4	90.0	3.0	87.2	2.8	0.37	0.84	0.70
(% energy)	19.1	0.5	19.6	0.4	19.8	0.4	17.6	0.5	18.0	0.4	17.6	0.4	0.02	0.56	0.62

Glycaemic index and weight loss

* ANOVA for repeated measures testing the effects of diet, time and diet × time interaction between groups with baseline values as covariate. No significant difference was found at baseline between groups using a Mann and Whitney test.

† For details of subjects and procedures, see Subjects and methods.
LGI, low-glycaemic index; HGI, high-glycaemic index; EI, energy intake.

(Table 4). However, the dietary surveys did show a significant increase in dietary fibre intake in the LGI group (+6.8 (SEM 0.8) g, $P < 0.0001$) while no significant difference was noticed in the HGI group (-0.4 (SEM 0.9) g, $P = 0.33$).

No differences in BMR were noted between groups at baseline ($P = 0.50$). No significant differences in BMR were observed within each group or between groups from week 0 to week 5. No subject was reported as underreporting when using Goldberg's cut-off limits. The calculated energy intake:BMR ratios were respectively 1.31 (SEM 0.07) in the LGI diet group and 1.33 (SEM 0.05) in the HGI diet group at baseline and no significant differences between groups, either at baseline or after intervention, were observed (Table 4).

Body weight, BMI, composition and waist:hip ratio

There were no significant differences in body weight and BMI between groups at baseline ($P = 0.50$ and $P = 0.41$ respectively). After a 5-week nutritional intervention, body weight measurements and BMI calculations were significantly decreased in the LGI group (-1.1 (SEM 0.3) kg, $P = 0.004$ and -0.4 (SEM 0.1) kg/m², $P = 0.005$ respectively), while no significant changes were reported in the HGI group (HGI -0.2 (SEM 0.2) kg, $P = 0.41$ and -0.1 (SEM 0.1) kg/m², $P = 0.39$ respectively). These differences between groups for body weight and BMI were significant ($P = 0.04$ and $P = 0.03$ respectively) (Fig. 1).

The subjects' body fat mass was similar between groups at baseline ($P = 0.09$). Changes in fat mass from week 0 to week 5 were not significant within the LGI group (-0.7 (SEM 0.6) %, $P = 0.15$) nor within the HGI group (-0.2 (SEM 0.4) %, $P = 0.40$). Furthermore, there were no differences between groups ($P = 0.50$) in percentage body fat mass (Fig. 1).

Mean WHR were higher than 0.8 in both groups, indicating that the type of body fat distribution was android. No change in mean WHR was observed after 5 weeks of nutritional intervention in both groups.

Fasting blood samples parameters

Plasma glucose, insulin and C-peptide concentrations, insulin resistance and sensitivity indexes. No significant differences in fasting glucose, insulin and C-peptide concentrations were noted between groups at baseline. After a 5-week nutritional intervention, fasting glucose and insulin concentrations did not change significantly in the LGI group, while C-peptide concentrations showed a significant decrease ($P < 0.05$). In the HGI group, fasting insulin and C-peptide concentrations did not change significantly while glucose concentrations showed a small but significant decrease (-0.15 (SEM 0.04) mmol/l, $P = 0.002$). There were no significant differences in these three parameters after 5 weeks of diet. Quantitative insulin sensitivity check index and homeostasis model assessment for estimate of relative insulin resistance values revealed a non-significant decrease in insulin resistance in both groups (Table 5).

Blood lipid concentrations. Significant decreases in fasting total cholesterol by 9.6 (SEM 2.0) % (-0.52 (SEM 0.12) mmol/l, $P < 0.001$) and LDL-cholesterol concentrations by 8.6 (SEM 4.7) % (-0.36 (SEM 0.13) mmol/l, $P = 0.01$) were observed in the LGI group after 5 weeks of nutritional intervention. No significant changes were found in the HGI group as regards fasting total cholesterol (-0.24 (SEM 0.13) mmol/l, $P = 0.12$) and LDL-cholesterol concentrations (-0.22 (SEM 0.11) mmol/l, $P = 0.07$) (Fig. 2).

HDL-cholesterol concentrations tend to decrease in both groups after 5 weeks of nutritional intervention (-0.05 (SEM 0.03) mmol/l and -0.05 (SEM 0.04) mmol/l in LGI and HGI groups respectively) but was not significant. No difference in HDL-cholesterol between groups was reported.

LDL:HDL-cholesterol and total:HDL-cholesterol ratios did not differ significantly between groups at baseline ($P = 0.91$ and $P = 0.73$ respectively), but a significant decrease in the LGI group (-0.22 (SEM 0.08), $P = 0.003$ and -0.31 (SEM 0.09), $P = 0.001$ respectively) was observed between week

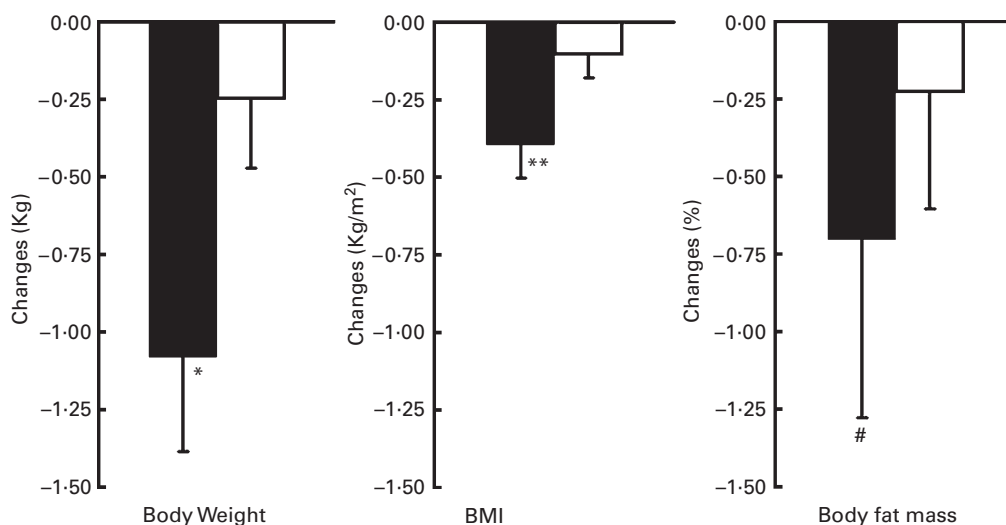


Fig. 1. Changes in body weight, body composition and BMI after 5 weeks of an *ad libitum* low-glycaemic index (■; n 19) or high-glycaemic index (□; n 19) diet in overweight subjects. Fat mass values were obtained by using impedance. There were no differences in body weight and body composition at baseline between groups. Significant differences in body weight and BMI changes between groups were found by analysis of covariance using baseline as covariate (* $P = 0.04$ and ** $P = 0.03$ respectively). For details of subjects and procedures, see Subjects and methods.

Table 5. Fasting plasma glucose, plasma insulin and C-peptide concentrations, quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) and homeostasis model assessment of relative insulin sensitivity (HOMA-IR) in both diet groups*†

(Mean values with their standard errors)

	LGI diet group (n 19)				HGI diet group (n 19)			
	day 1		day 36		day 1		day 36	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Glucose (mmol/l)	5.15	0.15	5.15	0.13	5.31	0.08	5.17	0.09
Insulin (mU/l)	9.7	0.8	9.2	0.6	8.8	0.5	8.4	0.4
C-peptide (pmol/l)	0.67	0.06	0.62	0.06	0.67	0.03	0.62	0.03
QUICKI	0.348	0.008	0.349	0.006	0.346	0.003	0.350	0.003
HOMA-IR	2.27	0.34	2.11	0.26	2.04	0.19	1.93	0.14

* No significant difference was found at baseline between groups using a Mann and Whitney test. No significant difference was found by analysis of covariance using baseline as covariate.

† For details of subjects and procedures, see Subjects and methods. LGI, low-glycaemic index; HGI, high-glycaemic index.

0 and week 5, while no significant changes were reported in the HGI group (-0.06 (SEM 0.09), $P=0.68$ and -0.02 (SEM 0.12), $P=0.83$ respectively) (Fig. 2).

Predicted changes in serum total cholesterol using the equations of Keys *et al.* and Hegsted *et al.* were significantly lower in the LGI diet group than observed changes ($P=0.0004$ and $P=0.0016$ respectively), while no significant difference was observed in the HGI group ($P=0.12$ and $P=0.19$ respectively). No difference between groups was reported (Table 6).

Fasting plasma TAG was not different between groups at baseline ($P=0.93$) and, furthermore, was not altered by dietary treatment ($P=0.32$). Moreover, no significant differences in plasma NEFA concentrations were observed between groups either at baseline ($P=0.70$) or over time, between week 0 and week 5, within each group or between groups ($P=0.79$).

None of these changes over time in lipid profile was significant between groups.

Carbohydrate and lipid oxidation. There were no differences in baseline values (LGI 1.16 (SEM 0.13) mg/kg per min; HGI 1.26 (SEM 0.13) mg/kg per min, $P=0.52$) and no changes between week 0 and week 5 as regards fasting carbohydrate oxidation. Furthermore, no significant differences were observed within each group or between groups ($P=0.93$). No significant differences in lipid oxidation were observed between groups either at baseline (LGI 0.68 (SEM 0.06) mg/kg per min; HGI 0.73 (SEM 0.07) mg/kg per min, $P=0.48$) or between week 0 and week 5, within each group or between groups ($P=0.87$).

Discussion

In view of the widespread concern about the obesity epidemic and associated health care costs, the development of effective weight management strategies has become a public health priority. As a consequence, considerable interest has been

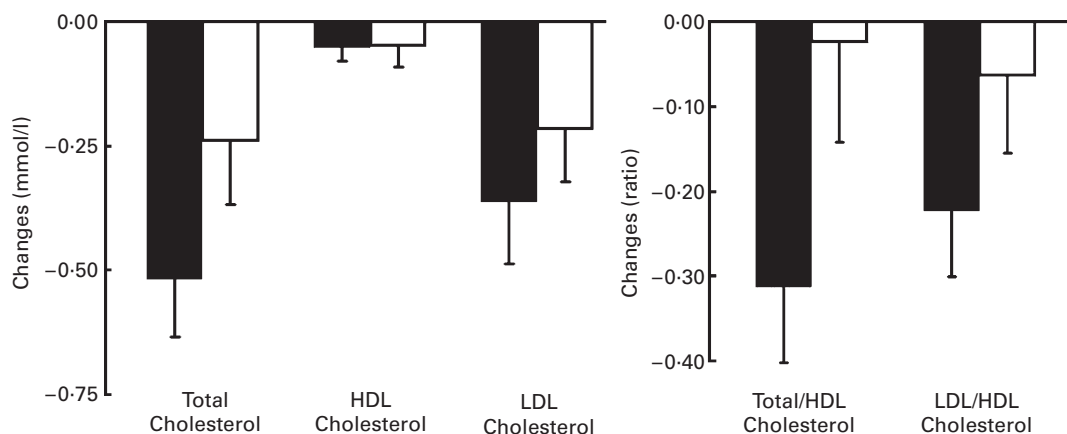


Fig. 2. Changes in fasting plasma total, HDL- and LDL-cholesterol concentrations, total:HDL-cholesterol ratio and LDL:HDL-cholesterol ratio after 5 weeks of an *ad libitum* low-glycaemic index (LGI, ■; n 19) or high-glycaemic index (HGI, □; n 19) diet in overweight subjects. No significant difference between groups was found in the baseline values between groups using Mann and Whitney test. In the LGI group, significant decreases were found in total cholesterol, LDL-cholesterol, total/HDL-cholesterol and LDL/HDL-cholesterol compared with baseline using a Wilcoxon test ($P=0.001$, $P=0.01$, $P=0.003$, $P<0.001$ respectively). No significant differences were found between groups using an analysis of covariance using baseline as covariate. For details of subjects and procedures, see Subjects and methods.

Table 6. Predicted and observed changes in mean serum total cholesterol†

	Predicted*		Observed (mmol/l)
	Keys <i>et al.</i> (mmol/l)	Hegsted <i>et al.</i> (mmol/l)	
LGI diet group	-0.02 (0.01)†	-0.11 (-0.003)	-0.52
HGI diet group	-0.02 (-0.001)	-0.06 (-0.01)	-0.24

*Predicted changes in serum total cholesterol were calculated by using the equations of Keys *et al.*³³ and Hegsted *et al.*³⁴ respectively: $\Delta\text{cholesterol (mg/dl)} = 2.7\Delta S - 1.35\Delta P + 1.5\Delta Z^{1/2}$ and $\Delta\text{cholesterol (mg/dl)} = 2.16\Delta S - 1.65\Delta P + 0.067\Delta C - 0.53$, where S is SFA (percentage total energy intake), P is PUFA (percentage total energy intake), Z is dietary cholesterol (mg/4200 kJ per d) and C is dietary cholesterol (mg/d). Then results are converted to mmol/l. No significant difference was found between groups.

†Values in parentheses were calculated assuming no change in mean dietary cholesterol intake between the two periods.

‡For details of subjects and procedures, see Subjects and methods. LGI, low-glycaemic index; HGI, high-glycaemic index.

paid to carbohydrate qualities and particularly to GI and GL as potential tools for regulating weight and food intake^{23–25} and also for the prevention of diabetes and CVD³⁹. Although dozens of randomized controlled trials have already highlighted the impact of LGI diets on carbohydrate and lipid metabolism, frequently in association with energy restriction^{11,17,19,40,41}, few have focused on the feasibility of an intervention on feeding habits by simple dietary instructions and its impact on body weight, carbohydrate and lipid metabolism. Therefore, this trial was designed to assess the metabolic effects of lowered GI in overweight, non-diabetic subjects without energy restrictions. Indeed, our main finding demonstrates that a LGI diet results in a decrease in body weight and an improvement in the lipid profile.

Subjects were monitored by a trained clinical dietitian with the use of dietary surveys and visual scales. Validity and accuracy of surveys were verified with indirect calorimetry and calculation of energy intake:BMR ratios. This ratio was around 1.3 in both diet groups, which corresponds to what is usually found in sedentary people⁴². Energy intakes did not differ after 5 weeks, contrary to recent studies in which a significant decrease in energy intake likely interfered with weight loss^{17,19}.

Replacing starches with LGI foods in daily meals was relatively simple to implement in the medium term and well accepted by all subjects despite the inevitable feeding strains. Reducing GI was rapidly obtained with only few modifications of food habits and could be maintained for 5 weeks. This is consistent with a recent study that showed that implementation of a LGI diet in overweight children was feasible on the basis of a 12-week nutritional intervention by giving brief instructions on categorizing food⁴³.

The main finding was the significant decrease in body weight after a 5-week *ad libitum* LGI diet. The subjects of the LGI diet group did not lower their energy intake significantly more than those in the HGI diet group. The mean weight loss was around 1 kg. No change in body composition was observed but such a change is below the limit of sensitivity of impedance. Indeed, the energy deficit corresponding to 1000 g of weight decrease is lower than approximately 30 MJ (7000 kcal) (i.e. 1000 g of fat mass loss), which represents the equivalent of an energy deficit of approximately

0.8 MJ/d (200 kcal/d) over 5 weeks. This corresponds to the known limits of measuring daily energy intake using a dietary survey⁴⁴.

Our hunger sensation scales have shown a trend to a decrease in hunger sensation between meals: before lunch and dinner in the LGI group. This effect may be due to the consumption of food richer in dietary fibre in this group and thus potentially more satiating than the subjects' usual foods⁴⁵. However, its potential for associated weight loss may be minimized when compared with some other studies where the amount of dietary fibre ingested is high^{17,41,46}. Therefore, the present data tend to support the argument that LGI diets are more satiating and result in lower *ad libitum* energy intake than do HGI diets^{9,23–25,47}. Weight loss may not be explained by an increase in energy expenditure because BMR did not change after 5 weeks of regimen when assessed by indirect calorimetry. The observed decrease in body weight in the LGI diet group is not in agreement with two other studies showing no significant difference in body weight after a 5- or 10-week LGI diet compared with a HGI regimen^{17,19}. However, these two studies both included reduced energy intake. So far, no appropriate long-term studies have been undertaken to assess the effects of a LGI diet on appetite and energy intake, although evidence from short-term studies is available^{24,25}.

We found no evidence of improvement of risk markers for type 2 diabetes. Fasting glucose concentrations did not change in the LGI group after 5 weeks, while a slight and unexpected decrease was observed in the HGI diet group. Although this change was small (from 5.3 to 5.1 mmol/l), it could thus be of clinical benefit given that impaired fasting glucose is frequently associated with overweight. There were no differences in fasting insulin and C-peptide concentrations observed between groups; also, a trend towards a decrease in insulin resistance was noted in both dietary groups. Previous studies show that LGI diets are able to lower fasting glucose and insulin concentrations and therefore to increase insulin sensitivity^{13,14,22,46,48}. However, evaluation of insulin sensitivity would have required the use of an insulin clamp procedure. In addition, mean WHR were higher than 0.8 in both groups indicating that the type of body fat distribution was android. Thus, subjects, and especially women, could be potentially at risk of insulin resistance even if ratios remained lower than 1.0. This could partially explain the lack of sensitivity necessary to observe improvement of risk markers for type 2 diabetes.

A significant decrease in total and LDL-cholesterol was seen in the LGI diet group. Thus, the 5-week LGI diet resulted in an 8.6% decrease in LDL-cholesterol (-0.36 (SEM 0.13) mmol/l), whereas a much smaller decrease (3.7%) was seen in the HGI diet group. Despite a similar decrease in HDL-cholesterol, a difference could still be observed when LDL-cholesterol was expressed relative to HDL-cholesterol. Therefore, the present results are in accordance with previous studies, performed in diabetic, hyperlipidaemic or healthy subjects, showing lower LDL-cholesterol and total cholesterol after LGI diets than after HGI diets^{11,17–19}. Moreover, according to very recent studies, a reduction in LDL-cholesterol of 1 mmol/l leads to a decrease in overall mortality by 15%, in coronary mortality by 24% and in the incidence of strokes by 24%, independently of the prior LDL level^{49,50}. Thus, a

reduction of one third of mmol/l in LDL concentration in the LGI diet group may also have a beneficial impact on cardiovascular risk factors, the more so as it is reasonable to estimate that the reduction in LDL continues beyond 5 weeks of LGI diet. On the other hand, a trend towards a decrease by 2.5% in HDL-cholesterol was also observed following the LGI diet. This is not in accordance with previous studies, where LGI diets have been associated with higher HDL-cholesterol concentrations^{15,16,51}.

This global decrease in the cholesterol fraction could be due to a decrease in total energy intake or fat intake, which is in accordance with the decrease in body weight but not with our dietary records. Predicted changes in serum total cholesterol using the equations of Keys *et al.* and Hegsted *et al.* showed indeed that observed cholesterol changes were not due to a modification of cholesterol intake during the nutritional intervention. The increase in dietary fibres that characterized the LGI diet did not contribute to lower cholesterol concentrations either. Nevertheless, the decrease in LDL-cholesterol was more than twice the decrease in HDL-cholesterol and, thus, lipid ratios indicate the benefit in terms of decreased cardiovascular risk^{52,53}.

Finally, although mean GI and GL were reduced in the LGI diet group as expected, there was no significant difference in GL between groups after 5 weeks of nutritional intervention. According to some authors, GL seems to be a better indicator of the glycaemic response to mixed meals than either GI or carbohydrate intake alone^{54,55}. However, one can argue that GI is a better measure of carbohydrate quality than is GL, because any given overall dietary GL value is driven by both GI and carbohydrate quantity. Moreover, in observational studies of habitual diets, LGI diets may be more likely to reflect a prudent nutrient-rich, fibre-rich diet than are low-GL diets^{12,56}. Thus, even if changes in GL do not correspond with changes in GI, beneficial effects on carbohydrate and probably on lipid metabolism can still be observed with LGI diets. Additionally, in the HGI group the defined GI target (i.e. >70%) was not reached. This may have decreased the power of the present study to observe a difference between dietary groups and, furthermore, have contributed to the relatively weak effects of low GI diet observed in the present study.

In conclusion, this study shows that lowering the GI of daily meals with simple dietary recommendations is relatively simple to implement in the medium term with few constraints: simplicity of provisioning and low costs of LGI foods; no impact on food patterns and the amount of fruits and vegetables eaten; few social constraints; rare digestive disorders. It supports previous findings on the beneficial effects of LGI diets on body weight regulation as well as on cardiovascular risk factors. The effects of such a minor intervention remain subtle, but nonetheless important if the effect is cumulative with time. However, it does not support the argument that LGI diets are more beneficial than HGI diets regarding carbohydrate metabolism. Thus, further long-term studies are needed to consolidate these findings and assess whether adverse metabolic adaptations arise. However, the present study emphasizes the feasibility of such interventions. These are required to develop practical dietetic advice for overweight/obese subjects and diabetics and possibly contribute to the prevention of such pathologies or decrease the associated comorbidities.

Acknowledgements

We thank Christine Maîtrepierre and Jocelyne Peyrat for their management of the subjects during the metabolic exploration days, Corinne Louche-Pélessier for the management of the biological analyses and Yann Salerio for his assistance in the translation of the manuscript. This study was supported by the European Union (EUROSTARCH project). Contract no. QLK1-2001-00431. Breakfast cereals were supplied by Danone Vitapole, Paris, France. The authors declare no conflict of interest in the conduction of the study and the writing of the manuscript.

References

- Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL & Goff DV (1981) Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr* **34**, 362–366.
- Foster-Powell K & Miller JB (1995) International tables of glycemic index. *Am J Clin Nutr* **62**, 871S–890S.
- Foster-Powell K, Holt SH & Brand-Miller JC (2002) International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr* **76**, 5–56.
- Bjorck I, Liljeberg H & Ostman E (2000) Low glycaemic-index foods. *Br J Nutr* **83**, Suppl. 1, S149–S155.
- Wolever TM, Nuttall FQ, Lee R, Wong GS, Josse RG, Csima A & Jenkins DJ (1985) Prediction of the relative blood glucose response of mixed meals using the white bread glycemic index. *Diabetes Care* **8**, 418–428.
- Wolever TM (2003) Carbohydrate and the regulation of blood glucose and metabolism. *Nutr Rev* **61**, S40–S48.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A, Jenkins AL & Axelsen M (2002) Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* **76**, 266S–273S.
- Liu S & Willett WC (2002) Dietary glycemic load and atherosclerotic risk. *Curr Atheroscler Rep* **4**, 454–461.
- Ludwig DS (2000) Dietary glycemic index and obesity. *J Nutr* **130**, 280S–283S.
- Morris KL & Zemel MB (1999) Glycemic index, cardiovascular disease, and obesity. *Nutr Rev* **57**, 273–276.
- Opperman AM, Venter CS, Oosthuizen W, Thompson RL & Vorster HH (2004) Meta-analysis of the health effects of using the glycaemic index in meal-planning. *Br J Nutr* **92**, 367–381.
- Salmeron J, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Spiegelman D, Jenkins DJ, Stampfer MJ, Wing AL & Willett WC (1997) Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care* **20**, 545–550.
- Brynes AE, Adamson J, Dornhorst A & Frost GS (2005) The beneficial effect of a diet with low glycaemic index on 24 h glucose profiles in healthy young people as assessed by continuous glucose monitoring. *Br J Nutr* **93**, 179–182.
- Stevenson E, Williams C, Nute M, Swaile P & Tsui M (2005) The effect of the glycemic index of an evening meal on the metabolic responses to a standard high glycemic index breakfast and subsequent exercise in men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **15**, 308–322.
- Ford ES & Liu S (2001) Glycemic index and serum high-density lipoprotein cholesterol concentration among US adults. *Arch Intern Med* **161**, 572–576.
- Frost G, Leeds AA, Dore CJ, Madeiros S, Brading S & Dornhorst A (1999) Glycaemic index as a determinant of serum HDL-cholesterol concentration. *Lancet* **353**, 1045–1048.

17. Sloth B, Krog-Mikkelsen I, Flint A, Tetens I, Bjorck I, Vinoy S, Elmstahl H, Astrup A, Lang V & Raben A (2004) No difference in body weight decrease between a low-glycemic-index and a high-glycemic-index diet but reduced LDL cholesterol after 10-wk ad libitum intake of the low-glycemic-index diet. *Am J Clin Nutr* **80**, 337–347.
18. Jenkins DJ, Wolever TM, Kalmusky J, *et al.* (1985) Low glycemic index carbohydrate foods in the management of hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr* **42**, 604–617.
19. Bouche C, Rizkalla SW, Luo J, Vidal H, Veronese A, Pacher N, Fouquet C, Lang V & Slama G (2002) Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care* **25**, 822–828.
20. Wursch P, Acheson K, Koellreutter B & Jequier E (1988) Metabolic effects of instant bean and potato over 6 hours. *Am J Clin Nutr* **48**, 1418–1423.
21. Wee SL, Williams C, Tsintzas K & Boobis L (2005) Ingestion of a high-glycemic index meal increases muscle glycogen storage at rest but augments its utilization during subsequent exercise. *J Appl Physiol* **99**, 707–714.
22. Stevenson E, Williams C & Nute M (2005) The influence of the glycaemic index of breakfast and lunch on substrate utilisation during the postprandial periods and subsequent exercise. *Br J Nutr* **93**, 885–893.
23. Roberts SB (2003) Glycemic index and satiety. *Nutr Clin Care* **6**, 20–26.
24. Ludwig DS, Majzoub JA, Al-Zahrani A, Dallal GE, Blanco I & Roberts SB (1999) High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics* **103**, E26.
25. Ball SD, Keller KR, Moyer-Mileur LJ, Ding YW, Donaldson D & Jackson WD (2003) Prolongation of satiety after low versus moderately high glycemic index meals in obese adolescents. *Pediatrics* **111**, 488–494.
26. Englyst KN, Englyst HN, Hudson GJ, Cole TJ & Cummings JH (1999) Rapidly available glucose in foods: an *in vitro* measurement that reflects the glycemic response. *Am J Clin Nutr* **69**, 448–454.
27. Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, *et al.* (1996) Validation of photographic documents used to estimate the amounts of foods eaten by subjects in the Suvimax study. *Cah Nutr Diet* **31**, 158–164.
28. Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, Cole TJ, Murgatroyd PR, Coward WA & Prentice AM (1991) Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-reporting. *Eur J Clin Nutr* **45**, 569–581.
29. Marmonier C, Chapelot D & Louis-Sylvestre J (1999) Metabolic and behavioral consequences of a snack consumed in a satiety state. *Am J Clin Nutr* **70**, 854–866.
30. Ellis KJ (2000) Human body composition: *in vivo* methods. *Physiol Rev* **80**, 649–680.
31. Trinder P (1969) Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Pathol* **22**, 158–161.
32. Friedewald WT, Levy RI & Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **18**, 499–502.
33. Keys A, Anderson JT & Grande F (1957) Prediction of serum-cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet* **273**, 959–966.
34. Hegsted DM, McGandy RB, Myers ML & Stare FJ (1965) Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* **17**, 281–295.
35. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G & Quon MJ (2000) Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 2402–2410.
36. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF & Turner RC (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412–419.
37. Ferrannini E (1988) The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* **37**, 287–301.
38. Vickers AJ (2005) Analysis of variance is easily misapplied in the analysis of randomized trials: a critique and discussion of alternative statistical approaches. *Psychosom Med* **67**, 652–655.
39. Ludwig DS (2003) Diet and development of the insulin resistance syndrome. *Asia Pac J Clin Nutr* **12**, Suppl., S4.
40. Ebbeling CB, Leidig MM, Sinclair KB, Seger-Shippee LG, Feldman HA & Ludwig DS (2005) Effects of an ad libitum low-glycemic load diet on cardiovascular disease risk factors in obese young adults. *Am J Clin Nutr* **81**, 976–982.
41. Wolever TM, Jenkins DJ, Vuksan V, Jenkins AL, Wong GS & Josse RG (1992) Beneficial effect of low-glycemic index diet in overweight NIDDM subjects. *Diabetes Care* **15**, 562–564.
42. Black AE, Goldberg GR, Jebb SA, Livingstone MB, Cole TJ & Prentice AM (1991) Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 2. Evaluating the results of published surveys. *Eur J Clin Nutr* **45**, 583–599.
43. Young PC, West SA, Ortiz K & Carlson J (2004) A pilot study to determine the feasibility of the low glycemic index diet as a treatment for overweight children in primary care practice. *Ambul Pediatr* **4**, 28–33.
44. Schoeller DA (1990) How accurate is self-reported dietary energy intake? *Nutr Rev* **48**, 373–379.
45. Howarth NC, Saltzman E & Roberts SB (2001) Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev* **59**, 129–139.
46. Jarvi AE, Karlstrom BE, Granfeldt YE, Bjorck IE, Asp NG & Vessby BO (1999) Improved glycemic control and lipid profile and normalized fibrinolytic activity on a low-glycemic index diet in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **22**, 10–18.
47. Pawlak DB, Ebbeling CB & Ludwig DS (2002) Should obese patients be counselled to follow a low-glycaemic index diet? *Yes. Obes Rev* **3**, 235–243.
48. Wolever TM & Mehling C (2002) High-carbohydrate-low-glycaemic index dietary advice improves glucose disposition index in subjects with impaired glucose tolerance. *Br J Nutr* **87**, 477–487.
49. Genser B & Marz W (2006) Low density lipoprotein cholesterol, statins and cardiovascular events: a meta-analysis. *Clin Res Cardiol* **95**, 393–404.
50. Baigent C, Keech A, Kearney PM, *et al.* (2005) Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90 056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* **366**, 1267–1278.
51. Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Holmes MD, Hu FB, Hankinson SE & Willett WC (2001) Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cholesterol and fasting plasma triacylglycerols in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* **73**, 560–566.
52. Anderson KM, Castelli WP & Levy D (1987) Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. *JAMA* **257**, 2176–2180.
53. Lemieux I, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Cantin B, Bergeron J, Dagenais GR & Despres JP (2001) Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men: the Quebec Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* **161**, 2685–2692.

54. Atkinson FS, McMillan-Price JM, Petocz P & Brand-Miller JC (2004) Physiological validation of the concept of glycemic load in mixed meals over 10 hours in overweight females. *Asia Pac J Clin Nutr* **13**, S42.
55. Brand-Miller JC, Thomas M, Swan V, Ahmad ZI, Petocz P & Colagiuri S (2003) Physiological validation of the concept of glycemic load in lean young adults. *J Nutr* **133**, 2728–2732.
56. Salmeron J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Wing AL & Willett WC (1997) Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA* **277**, 472–477.

Part II

Ingredients from grains, fruits and vegetables for weight control



Q



6

β -Glucans

J.-A. Nazare, M. Laville, C. G. Biliaderis, A. Lazaridou, G. Önning, M. Salmenkallio-Marttila and A. Triantafyllou, Faculté de Médecine RTH Laennec, France

6.1 Introduction

Dietary guidance universally recommends diets with higher fibre content for health promotion and disease prevention. This goal is often difficult to achieve. That is why research has to be developed to find sources of fibre that could easily be worked into a normal diet at levels that could allow beneficial effects.

An official definition of dietary fibre was given by the American Association of Cereal Chemists in 2001:

- Dietary fibre is the edible parts of plants or analogous carbohydrates that are resistant to digestion and absorption in the human small intestine with complete or partial fermentation in the large intestine. Dietary fibres include polysaccharides, oligosaccharides, lignin and associated plant substances. Dietary fibres promote beneficial physiological effects including laxation and/or blood cholesterol attenuation, and/or blood glucose attenuation.¹

Fibres can be separated into two groups according to whether or not they are soluble. β -Glucans are fibres, they are highly viscous, soluble fermentable polysaccharides. They have been shown to have a positive effect on lipid and carbohydrate metabolism, and could therefore be considered as potentially useful ingredients for weight control.

6.2 Sources of β -glucans

Six types of β -glucans have been identified in the cell walls of green plants and fungi. Cellulose is a (1 \rightarrow 4)- β -glucan, a long linear glucose polymer,

with low flexibility and solubility. It is a ubiquitous component of the fibrillar phase of cell walls while it is also found as an extracellular secretion in certain bacteria.²

In cereals, cellulose microfibrils appear to be embedded in a matrix of mixed-linkage (1 → 3, 1 → 4)-β-glucan in the walls of aleurone and starchy endosperm cells. Oat (*Avena sativa*) and barley (*Hordeum vulgare*) both contain large amounts of (1 → 3, 1 → 4)-β-glucan, the latter constituting approximately 75% of the walls of their starchy endosperm cells. The β-glucan found in oat and barley is a soluble fibre that is easily fermented in the intestine and that has a high nutritive value. In addition, the endosperm cell walls of other monocots of the grass family *Gramineae* – such as wheat (*Triticum aestivum*), rye (*Secale cereale*) and rice (*Oryza sativa*) – contain small amounts of β-glucans.^{3,4}

A range of fluorescent dyes have been studied for their interaction with endosperm cell walls showing that Calcofluor and Congo red can be used as sensitive and specific markers for the detection of β-glucan.⁵ Calcofluor binding reveals that the distribution of β-glucan in the kernels of barley is generally even whereas the concentration of β-glucan is particularly high in the subaleurone layer of the oat groat and this may contribute significantly to the water-binding capacity of the bran and to its efficacy as dietary fibre. Hence dry milling and air-sifting techniques have been exploited to manufacture enriched fractions of oats.^{6,7} Enrichment methods have also been employed for barley due to the fact that the grain is to some extent morphologically differentiated.^{8,9} Plant breeding has developed oat and barley cultivars with varying contents of β-glucan.¹⁰ Evaluation of groat characteristics and groat composition in 35 genotypes from 9 taxonomic species of *Avena* has revealed a variation in β-glucan from 2.2 to 11.3%.¹¹

Barley has traditionally been seen as a food for human consumption. On the other hand, oat has gained extra attention due to a large number of clinical studies that identified oat β-glucan as the component responsible for the significant cholesterol-lowering properties attributed to oats, particularly the decrease of low-density lipoprotein (LDL) cholesterol.¹² Oat β-glucan hydrolysates are furthermore thought to possess a probiotic effect.¹³ Higher plants not only contain significant amounts of mixed linkage (1 → 3, 1 → 4)-β-glucan but also (1 → 3)-β-glucan with a single monomer and linkage type. Deposits of (1 → 3)-β-glucans, referred to as callose, occur in the cell walls of plant tissues during their development and are found in specialized cell walls in response to wounding, infection and physiological stress.¹⁴ Certain bacteria secrete extracellularly a polymer of similar structure, namely curdlan.

Microbial β-glucan is a component of cell walls or is secreted by microorganisms in the growing medium, as in the case of lactic acid bacteria that are living and growing on plants, often under harsh conditions, such as *Pediococcus damnosus*.¹⁵ The glucose molecules in these polymers are generally connected with (1 → 3) linkages with varying proportions of (1 → 6)-

linked β-glucosyl residues substituted at intervals along, or as branches of, the (1 → 3) backbone.

Mushroom myco-polysaccharides such as β-glucan lentinan from shiitake *Lentinus edodes* are also comprised of a β-(1 → 3)-D-glucan backbone with β-(1 → 6)-glucan side chains. The content of β-glucan is typically around 0.3 g per 100 g of mushroom on a dry basis whereas its distribution in the soluble fraction of total dietary fibre ranges widely from 17 to 46%. The soluble:insoluble ratio varies depending on the particular mushroom whereas the content of soluble β-glucan is higher in cereals.¹⁶

Yeast β-D-glucan, also a polyglucose polysaccharide, derived from the cell walls of baker's yeast or *Saccharomyces cerevisiae*, consists of straight-chain and branched polymers. The straight-chain structures are (1 → 3)-β-D-linked glucose polymers and (1 → 6)-β-D-linked glucose polymers. Similarly the homopolysaccharide of glucose produced by *Botryosphaeria rhodina* (laminaran) consists of a (1 → 3)-β-D-linked backbone containing varying degrees of (1 → 6)-β branches.¹⁷ Yeast β-glucan has been demonstrated to have non-specific immune-enhancing effects in *in vitro* and some animal and human studies.¹⁸

6.3 β-Glucans structure and related properties

Mixed-linkage (1 → 3, 1 → 4) linear β-D-glucans (β-glucans) are major components of endosperm cell walls of commercially important cereals, such as oat, barley, rye and wheat. β-Glucans from cereals are linear homopolysaccharides of D-glucopyranosyl residues (Glc_p) linked via a mixture of β-(1 → 3) and β-(1 → 4) linkages. The structure features the presence of consecutive (1 → 4)-linked β-D-glucose in blocks (i.e. oligomeric cellulose segments) that are separated by single (1 → 3) linkages. Although most of the cellulose segments are trimers and tetramers, longer cellulosic oligosaccharides are also present in the polymeric chains.^{19–25} Cereal β-glucans exhibit diversity with respect to their molecular/structural features, such as molecular size, ratio of tri- to tetramers, amount of longer cellulosic oligomers and ratio of β-(1 → 4):β-(1 → 3) linkages. These structural features seem to be important determinants of their physical properties, such as water solubility, viscosity, and gelation properties. The molecular size and fine structural features of β-glucans play an important role in the solubility and chain conformation, or shape and, therefore, in their rheological properties in solution. The chemical features of cereal β-glucans are reflected in their solubility in water and in their extended, flexible chain conformation.¹⁹ The cellulose-like portions of cereal β-glucans might contribute to the stiffness of the molecules in solution.²² Furthermore, β-glucans containing blocks of adjacent β-(1 → 4) linkages may exhibit a tendency for interchain aggregation (and hence lower solubility) via strong hydrogen bonds along the cellulose-like segments; the β-(1 → 3) linkages break up the regularity of the

β -(1 \rightarrow 4) linkage sequence, making it more soluble and flexible.²⁶ On the other hand, it has been shown that a higher content of cellotriosyl units might impose some conformational regularity within the β -glucan chain, and consequently a higher degree of organization of these polymers in solution (i.e. lower solubility).^{27,28} Suggestions have been made that differences in the amount of cellotriosyl fragments, long cellulosic oligomers, and the ratio of (1 \rightarrow 4):(1 \rightarrow 3) linkages, might explain solubility differences among cereal β -glucans in accord with the two previous aggregation mechanisms.^{21,29-31}

Rheologically, solutions of cereal β -glucans fall into the category of viscoelastic fluids behaving similarly to the well-characterized random-coil polysaccharides; i.e. a Newtonian region can be observed at low shear rates and a shear thinning flow at high shear rates. However, the preparation of β -glucan solutions, their storage time (i.e. waiting time before analysis) and their thermal history have been proven to affect their rheological behaviour.³²⁻³⁷ Time-dependent rheological behaviour is revealed by thixotropic loop experiments for cereal β -glucans with certain structural features, implying the formation of intermolecular networks. Moreover, freshly prepared cereal β -glucan solutions exhibit typical random-coil flow behaviour, an increased storage time induces an unusual shear-thinning flow behaviour at low shear rates. This behaviour becomes more pronounced with increasing storage time prior to the rheological testing. A strong time-dependent behaviour has been observed for mixed-linked (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4) β -glucans with low molecular size and high amounts of cellotriose units and/or long cellulose-like oligomers in the polymeric chain. In addition, the departure from the usual flow behaviour was noticed in shorter storage periods for solutions with increasing concentration of β -glucans.^{34,35,37}

As expected, an increased molecular weight induces an increase in the viscosity and the shear-thinning properties of β -glucan dispersions at equivalent polysaccharide concentrations.^{34,35,37,38} In addition to solution viscosity enhancement on storage, β -glucans have been shown to gel under certain conditions.³⁴⁻⁴⁵ Two different gelation models have been proposed in the literature for mixed-linkage (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4) β -glucans. One model involves the side-by-side interactions of cellulose-like segments of more than three contiguous β -(1 \rightarrow 4)-linked glucosyl units, whereas the other model involves the association of chain segments with consecutive cellotriosyl units linked by β -(1 \rightarrow 3) bonds.³⁹ Among cereal β -glucans of equivalent molecular weight, the gelation time decreased and the gelation rate increased in the order of oat, barley and wheat β -glucans – reflecting the order of the molar ratio DP3/DP4 units.^{35,39,40,44} (NB, the enzyme lichenase, a (1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)- β -D-glucan-4-glucanohydrolase, specifically cleaves the (1 \rightarrow 4)-glycosidic bond of the 3-substituted glucose residues in β -glucans, yielding oligomers with different degrees of polymerization (DP). The major products for the cereal β -glucans are 3-*O*- β -cellobiosyl-D-glucose (DP3) and 3-*O*- β -cellotriosyl-D-glucose (DP4).) Further to the fine struc-

ture, the molecular size of the polymer seems to have a strong impact on polysaccharide gelation ability. For samples with similar distribution of cellulose-like fragments the gelation time decreases and the gelation rate increases with decreasing molecular weight, possibly due to the higher mobility of the shorter chains that enhances diffusion and lateral interchain associations.^{34,35,37–39,41,46,47} Although a slower gelation process is noted for the high molecular size β-glucans, the gel network structure consists of structural elements (microaggregates) with better organization and/or it involves interchain associations over longer chain segments.^{34,35,37}

Variations in the mechanical properties of cereal β-glucan gels have also been revealed by large deformation compression tests. An increase in strength and a decrease in brittleness of the β-glucan gels cured at room temperature were found with increasing concentration, molecular size and DP3/DP4 ratio of the polysaccharide, whereas cereal β-glucans with high molecular size and low amounts of DP3 units promoted the formation of strong cryogels (formed under repeated freezing–thawing cycles) when tested under large deformation protocols, a fact that was attributed to differences in the nature of the network microstructure among samples.^{34,35,37,42}

Overall, the structure–physical property relations for cereal β-glucan isolates have been largely explored. Structural features, such as distribution of cellulosic oligomers, ratio of DP3/DP4 units and molecular size of the polysaccharides were proven to be important determinants of their solubility, rheological behaviour in aqueous solution and gelation ability, as well as of the thermal and mechanical properties of hydrogels obtained by interchain associations either at room temperature or via repeated freeze–thaw cycles.

6.4 Effects of β-glucans on lipid metabolism

Cardiovascular diseases, such as myocardial infarction (MI), angina and stroke, are major contributors to the global burden of disease. The diseases are caused by the development of atherosclerosis in the blood vessels and one factor that may influence the atherosclerotic process is the dietary fibre content in the diet. The intake of dietary fibre and risk of coronary heart disease were followed for 10 years among women in the Nurses' Health Study.⁴⁸ In total 68782 women were included in the analysis and the age-adjusted relative risk for major cardiovascular events was 0.53 for women in the highest quintile of total dietary fibre intake (median 22.9 g/day) compared with women in the lowest quintile (median 11.5 g/day). Among different sources of dietary fibre only cereal fibre was strongly associated with a reduced risk of cardiovascular events. Male health professionals have been followed in a similar study.⁴⁹ Their food habits were assessed using a 131-item food frequency questionnaire. During 6 years of follow-up there

were 511 non-fatal cases of MI and 229 coronary deaths. The age-adjusted relative risk of MI for the top quintile of total dietary fibre intake was 0.64 (median intake 28.9 g/day) compared with men in the lowest quintile (median intake 12.4 g/day). Cereal fibre was most strongly associated with a reduced risk of MI compared with other fibre sources like vegetables and fruits. Thus, the same associations were found for male health professionals as for female health professionals. In the study on female health professionals, an inverse relation between both soluble and insoluble fibre and the risk of cardiovascular diseases and MI was also found, but after multivariate adjustments the associations were no longer significant.⁵⁰

More data on the effect of dietary fibre on cardiovascular diseases have been gained from intervention trials. Over 50 studies have investigated the effect of β -glucans on blood cholesterol levels. Some investigators have also addressed the task to make overall evaluations on the relation between oat β -glucan intake and its cholesterol-lowering effects. A large meta-analysis of oat products and their lowering effects on plasma cholesterol was made by Ripsin *et al.*⁵¹ The included studies presented differences in study designs, oat products, doses of oats and control products, and subjects with different initial cholesterol levels, gender and age; the influence of these parameters was assessed in the meta-analysis. To be included in the meta-analysis, studies had to be controlled and randomized and the control product had to have a low soluble fibre content. Moreover, the trial should also have included a dietary assessment and measurement of body weight. Twelve trials were included in the calculation of the summary effect size.⁵¹ Most of the trials used a parallel design and the length of the treatment phase varied between 18 days and 12 weeks. The summary effect size for change in total cholesterol was -0.13 mmol/l. The initial cholesterol level was highly predictive of the reduction in total cholesterol level while age and gender could not predict the response to oats. The dose-response effect was also evaluated and after dividing the material into intakes of <3 g and ≥ 3 g of soluble fibre, the interaction was statistically significant. Mälkki⁵² also evaluated the dose-response effect of oats. She identified 53 clinical trials, and 37 of them showed significant reductions in blood cholesterol levels after consumption of oat products while in 10 studies no significant effects were detected. The dose-response effect was not very obvious. The Food and Drug Administration (FDA) reviewed 37 oat trials and 17 studies showed a positive effect of oat bran and oat meal on total and LDL cholesterol.⁵³ The amount of oat bran or oat meal given in the studies ranged from 34 g (2.5 g soluble fibre) to 123 g (10.3 g soluble fibre). Five studies showed equivocal results in reducing serum cholesterol, 4 had a too short study period and 11 showed no effect on serum lipid levels. However, the overall conclusion was that oats could lower serum cholesterol levels, specifically LDL cholesterol, without any significant change in the high-density lipoprotein (HDL) fraction. The FDA thus authorized a health claim stating: 'Diets high in oat bran or oat meal and low in saturated fat and cholesterol may reduce the risk of

heart disease.' To be able to use the health claim a product must contain at least 0.75 g β-glucan soluble fibre per serving and the recommended daily intake is 3 g.⁵³ It is known that the cholesterol-lowering effect is larger in subjects with increased cholesterol levels. Ripsin *et al.*⁵¹ indicated that if the initial cholesterol levels were over 5.9 mmol/l the reduction was larger. The molecular weight of the β-glucans may also be of importance for the cholesterol-lowering effects. In one study an intake of 5.9 g β-glucan from oat bran incorporated into bread and cookies did not have any significant effect on blood lipids while an intake of 5 g β-glucans mixed in orange juice significantly lowered LDL cholesterol compared with a control group.⁵⁴ The molecular weight of the β-glucans was lower in the bread compared with the muffins and the preparation mixed with orange juice. However, the molecular weight is probably not the only important factor for the cholesterol-reducing potential. In another trial an oat drink containing β-glucans of rather low molecular weight (peak molecular weight 82400) was compared with a control drink with low β-glucans content.⁵⁵ The intake of oat drink (3.8 g β-glucan/day) resulted in significantly lower cholesterol (6%) and LDL cholesterol (6%) levels compared with the control drink, and thus the oat drink had the expected quantitative cholesterol-lowering effects as in products containing β-glucans with a higher molecular weight. One explanation for the results could be that the β-glucans were in a soluble form. Önning⁵⁶ compared the method for administration of β-glucans in 17 human studies that included hyperlipidaemic subjects. The total cholesterol level at the end of the intervention period in the control group was between 5.9 and 7.4 mmol/l. The change in total cholesterol in the oat group in comparison with the control group varied from 0 to -13% while the change in LDL cholesterol varied from 0 to -16.5%. The studies with the largest reductions incorporated the oats in crisps, hot cereals, muffins and beverages while in the studies with small reductions the oats were given in cold cereals and also in bread. Inclusion of the β-glucans in liquid foods and also using some heat treatment seemed to increase the lipid-lowering effect probably by increasing the solubility of the β-glucans. The fact that the solubility of the β-glucans varies a lot in foods was confirmed in a study by Lia Amundsen *et al.*⁵⁷ Products like bread, teacakes, muesli, muffins, macaroni, pasta and apple drinks were supplemented with an oat bran concentrate and the solubility of the β-glucans varied from 22% in pasta to 70% in the apple drink. Thus, the solubility of the β-glucans in the products was rather low (mean value of about 50%) but the daily dose of soluble β-glucans consumed by hypercholesterolaemic subjects (2.7 g) was still high enough to significantly decrease blood cholesterol levels compared with a control diet. The molecular weight and the solubility of the β-glucans used in human studies have seldom been documented and this makes it difficult to compare results from different studies in relation to the doses used.

Several mechanisms have been proposed for the cholesterol-lowering effects of β-glucans. The main hypothesis is that they decrease the intestinal

uptake of bile acids. In subjects with ileostomy, intake of oat bran bread lead to an increased excretion of chenodeoxycholic acid and total bile acids in comparison with intake of wheat flour bread.⁵⁸ A recent study focused on the effects of oat β -glucans incorporated into a drink on cholesterol absorption (measurement of plant sterols) and cholesterol synthesis (analysis of lathosterol) in humans.⁵⁹ Intake of 5 g β -glucan daily led to a significant decrease in serum total and LDL cholesterol levels, and at the same time the concentration of lathosterol was increased and that of sitosterol was decreased. This indicates that β -glucans reduce cholesterol absorption in the intestine.

Furthermore, β -glucans are fermented in the colon and the short-chain fatty acids produced may influence cholesterol metabolism in the liver. Until now, however, only few human studies exist on this subject and more studies are needed to evaluate this effect. Soluble fibre can also decrease gastric emptying, prolong glucose absorption and increase insulin sensitivity. These changes can also have an effect on lipid metabolism in the liver. In animals the main outcome of the action of fibre is a lowering of hepatic cholesterol pools as a result of more cholesterol being diverted to bile acid synthesis and lower cholesterol delivery to the liver through chylomicron remnants.⁶⁰

6.5 Effects of β -glucans on energy and carbohydrate metabolism

β -Glucan has been suspected to influence glucose metabolism by modulation of glycaemia or insulin response to a meal. It works by slowing the rate of nutrient absorption leading to a smaller increase in glycaemia and insulinaemia whenever nutrients are ingested concomitantly with β -glucans compared to without β -glucans.⁶¹ A study by Battilana *et al.*⁶² performed in healthy subjects was designed to observe the action of β -glucans on post-prandial metabolism independently of a delayed absorption effect. The absence of any relevant effect in this case led the authors to conclude that the action of β -glucans after a single meal was mainly due to their delaying the rate of carbohydrate absorption. In addition, it is known that β -glucans taken in a meal increase the viscosity of the meal bolus, thereby reducing the rate of absorption and flattening post-prandial glycaemia. In fact, the viscosity of fibres relates positively with the degree of flattening of post-prandial glycaemia.⁶³⁻⁶⁶ In epidemiological studies, the precise type of fibre ingested is seldom reported but could be important to record. Few studies have been published comparing the differential effects of fermentable and non-fermentable fibres on energy intake and metabolism. Howarth *et al.*⁶⁷ did not find any differential effects of fermentable fibres versus non-fermentable fibres (taken as a supplement in flavoured water before the meal) on energy intake or changes in body fatness in a population whose body

mass index (BMI) ranged from 20 to 34 kg/m². Still, in animals models, fermentable fibres enhanced satiety to a greater extent. Therefore, a greater reduction in energy intake and body fatness over time was expected. A study in which 10 healthy men ingested either a diet with β -glucans or a diet with cellulose failed to produce significantly different effects on plasma glucose and insulin concentrations.⁶² In this case, the effects of the specific action of the β -glucans (colic fermentation, production of short-chain fatty acids) did not seem to interfere with carbohydrate metabolism.

The glycaemic index (GI) of the carbohydrate and fibre content can be related since viscous fibres and foods with intact natural cell walls generally have a lower GI.⁶⁸ Dietary fibre was shown to account for about 40% of the variance in GI among 18 starchy foods.⁶⁹ In fact, epidemiological and intervention studies showed that body weight is positively correlated with GI. Ma *et al.*⁶⁸ carried out a study of 572 healthy men, BMI was positively associated with GI: a 5-unit increase in GI was significantly associated with a 0.75-unit increase in BMI ($p = 0.01$). Therefore, dietary fibres like β -glucans, which affect food digestion and absorption rate, also affect GI values as a consequence. Jenkins *et al.*⁶⁶ found that addition of β -glucans reduces GI (4 units/g) while maintaining palatability.

Some intervention studies have been carried out with specific test products with high β -glucan content to evaluate the glycaemic and insulin responses in healthy and diabetic subjects. It has been shown that 8–10% of β -glucans in cereals can decrease the glycaemia peak by 50%.⁷⁰ Juntunen *et al.*⁷¹ showed that the lowered insulin response observed after consumption of different grain products in healthy men was not dependent on the type of cereals. In another study, β -glucan-enriched products consisted of barley-enriched pasta. Healthy men fed barley pasta enriched with β -glucans did not show any difference in glycaemia response but did show a greater insulin response compared with men fed low-fibre-content pasta. This discrepancy between insulin and glycaemia schemes, also found in other studies, indicates a complicated pattern for the effect of fibres on glucose metabolism, which could be modulated by the action of hormones such as cholecystokinin.⁶⁵ These intervention studies showed that a high β -glucan content is required to obtain a significant effect on post-prandial glycaemia and insulinaemia in healthy subjects.

The antidiabetic effects of β -glucans have been suspected in response to their actions on energy and glucose metabolism. Longer studies have been designed to observe the beneficial metabolic effects of β -glucans on type 2 diabetes. The risk of developing type 2 diabetes has been shown to be more than twice as high when consuming a diet high in glycaemic load in combination with a low fibre intake.^{70,72} Another study has shown that the addition of β -glucan was highly able to reduce hyperglycaemia but that there was a threshold level for the amount of fibre.⁶⁴ In diabetics, β -glucans-enriched diets have also been shown to improve metabolic control with a decrease in haemoglobin A1c (HbA1c).^{73,74} However, only a few studies have focused

on the specific effects of β -glucans on HbA1c, and no clear and direct correlation has been found to date.⁶¹ Nevertheless, the improved glycaemic control and the reduction of cardiovascular risks (due to lowered blood lipid levels) associated with fibre intake indicate that it could be a recommended part of the diet for subjects with type 2 diabetes.

6.6 β -Glucans and weight control

β -Glucans could play a role in body weight regulation through different mechanisms: it increases satiation, decreases the absorption efficiency of the small intestine, regulates glucose and insulin responses, and has beneficial effects on lipid metabolism.

Different epidemiological studies have shown an inverse correlation between fibre intake and body weight, BMI and body fat.⁷⁵ In the CARDIA study, a population-based cohort study of the change in cardiovascular risk factors over 10 years, it was shown that dietary fibre was inversely associated with fasting insulin levels (mean difference across quintiles: -5.6 pmol/l, $p = 0.007$ in Whites; -9.7 pmol/l in Blacks, $p = 0.01$), weight gain (mean difference across quintiles in both populations: -3.65 kg, $p > 0.001$) and other risk factors for cardiovascular diseases in young adults.⁷⁶ White men and women consuming diets supposed to be the lowest in GI (high fibre, high fat) had the least weight gain over 10 years compared with those consuming supposedly high-GI diets (low fibre, low fat).

Another epidemiological study carried out on a cohort of 27802 men demonstrated a reduced risk of weight gain (8 years of observation) associated with increased whole-grain or bran intake.⁷⁷ Dietary fibre was inversely related to weight gain independent of whole-grains (p for trend < 0.0001). They found that for every 20 g/day increase in dietary fibre, weight gain was reduced by 1.18 kg.

Few intervention studies had been done until 2000 on the effects of fibre on body weight. In fact, the focus was on the use of fibre in enhancing compliance with low-caloric diets designed for weight loss by reducing hunger.⁷⁸ Intervention studies performed in healthy, overweight or obese humans led to conflicting results. Some reported no effect on body weight.^{66,79} In the study of Nicolosi *et al.*,⁷⁹ the subjects had consumed enough energy to maintain their body weight. Some other studies did report an effect of fibre on body weight loss.^{80,81} In these last two studies (with demonstrated effects of fibre on body weight loss), fibre supplementation was associated with reduced energy intake and it was not possible to relate the weight loss solely to fibre intake. In addition, no evidence has been shown of an enhanced effect of fibre supplementation compared with caloric restriction alone. It is also interesting to record that a greater suppression of energy intake and a greater weight loss was observed in overweight or obese subjects versus normal-weight subjects: mean energy intake in all studies was

reduced to 82% by higher fibre intake in overweight/obese people versus 94% in lean people and body weight loss was 2.4 kg versus 0.8 kg, respectively.^{78,82} Fibre supplementation could be considered at the least as a good support for weight loss diets by enhancing satiety. However, more clinical studies are required to determine which kind of fibre and what quantities are suitable for the prevention of weight gain and obesity in different populations.

6.7 β -Glucans in the regulation of satiety and acceptance by consumers

A significant number of studies have demonstrated suppressed hunger and greater satiety with fibres that have the viscous-producing property, whereas satiation and gastric fullness may be more closely related to the bulking effects of fibre.⁷⁸ The relationship of body weight status and fibre effect on energy intake suggests that obese individuals may be more likely to reduce food intake with dietary fibre inclusion.⁷⁸ Dietary fibre plays a role in weight management as a result of its effect on satiety and blood cholesterol.⁸³ Both soluble and insoluble fibres prolong after-meal satiety, but soluble fibre is more effective. A fibre-rich meal is usually lower in fat and added sugars, is less energy dense and is processed more slowly, which promotes earlier satiety.⁸³

The soluble oat β -glucan has been found to have positive effects on health, such as reducing blood cholesterol levels.^{49,51} The consumption of a hypocaloric diet containing oats over 6 weeks resulted in a greater decrease in systolic blood pressure, total cholesterol and LDL cholesterol than did a similar diet without oats.⁸⁴ Oat β -glucans can also be used in controlling weight. Ingesting oat β -glucans can increase the viscosity of gut contents enhancing the feeling of fullness. Oat β -glucans can lower the rate at which nutrients are absorbed from the small intestine, delay gastric emptying and prolong the feeling of satiety.^{65,85,86} The first effect occurs in the stomach, where swelling and water binding by the fibre causes distension that contributes to the feeling of satiety. In the small intestine, fat and protein or amino acids induce release of the gut hormone cholecystokinin, which delays gastric emptying, blunts glycaemic responses and enhances satiety.⁸⁷ The effect is believed to be caused by increased viscosity, which increases the contact time of fat and amino acids with receptors. Other dietary fibres and food consistency have been shown to affect the secretion of cholecystokinin.^{88,89}

The physiological effects of β -glucans appear to be related to their rheological characteristics. An inverse relationship between the viscosity of oat β -glucans-containing beverages and the levels of both blood glucose and blood insulin has been shown with beverages varying in the dose and molecular weight of oat β -glucan.^{63,90} Thus, physiological responses appear

to be affected by the concentration and the molecular weight of β -glucans, probably through effects on gut-content viscosity. Due to its high water-binding capacity β -glucan also affects the structure of food in a similar way to other soluble dietary fibre.⁹¹⁻⁹⁴ This in turn could affect the rate of food digestion, especially the susceptibility of the starch component of the food to amylolysis. Thus it is likely that both the viscosity-increasing and structure-modifying properties of β -glucan are involved in the health-promoting effects of β -glucan-rich foods.

The role of dietary fibre in energy intake regulation and weight control is related to the special physical and chemical properties of fibre that promote the feeling of satiation and enhance or prolong the feeling of satiety.⁷⁸ Satiation is related to the effects of dietary fibre on structure and energy density of food, whereas the viscosity-increasing effect of soluble fibres may enhance satiety through delayed gastric emptying and subsequent delay in fat absorption. Fat in the intestine stimulates the feeling of satiety whereas diets low in fat and energy are associated with feelings of hunger. In women, incorporation of foods rich in viscous fibres into mixed low-fat meals resulted in suppressed sensation of hunger and enhanced post-meal satiety compared with a low-fat, low-fibre meal of equal energy content and palatability.⁷⁸ Plasma cholecystokinin concentrations were elevated and sustained in response to both the low-fat, high-fibre meal and the high-fat, low-fibre meal.⁷⁸ Bourden *et al.*⁶⁵ have shown a similar cholecystokinin response when viscous fibres were included in a low-fat meal. If inclusion of viscous-type fibres in low-fat diets effectively slows fat absorption and imparts a greater sense of satiety, this would be a promising way to improve compliance with low-fat diets.

Oat β -glucan is already added to some products, mostly cereal products. The mouth feel of oat products is determined by the unbranched polysaccharide, β -glucan, which also significantly influences the flavour release. The special feature of β -glucan is that it forms highly viscous water solutions. The viscosity of food is known to modify the perception of tastes even though the composition of the thickener has been suggested to have a greater effect on the perception of flavours than the viscosity.⁹⁵⁻⁹⁸ A negative correlation has been reported between the intensities of flavour attributes and the viscosity of oat β -glucan-enriched soups.⁹⁹

Generally, European consumers seem to know current dietary recommendations rather well. However, the reasons for healthy eating may vary for different people. Healthy food can be chosen for many reasons such as to prevent chronic diseases, to improve general well-being, or for ideological or moral reasons. Preventing disease or getting help for a particular health problem are the most frequently cited reasons for healthy eating.¹⁰⁰⁻¹⁰² The potential benefits of healthy eating only affect behaviour if a person feels it is relevant for him-/herself, is motivated and has sufficient knowledge to change his/her behaviour.¹⁰³ If the person is motivated, e.g. has a need to pay attention to their blood pressure, then the information

concerning the health-benefit effects of a given product may encourage them to try products that promise to affect blood pressure. There are limitations in the use of information when functional foods are marketed to consumers. Health-related claims are not allowed to promise the curing, treating or prevention of diseases. However, the claims can include statements regarding reducing risk of disease and improved state of health.¹⁰⁴ Urala *et al.*¹⁰⁵ found health-related claims to be advantageous for the products used in their study. However, when the strength of the claims was increased by promising stronger and more definite effects for the consumers, it did not automatically increase the perceived benefit of the product.

Factors affecting consumers' willingness to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat β-glucan have been studied in Finland, France and Sweden.¹⁰⁶ The presence of a health claim (concerning either cholesterol or glucose) significantly increased the perceived benefit and willingness of the consumers to use the soups and beverages before tasting the sample. Although, the perceived benefit of the β-glucan sample with the health claim decreased after tasting, it was rated either higher (in the glucose-claim subgroup) or equal (in the cholesterol-claim subgroup) in perceived benefit after tasting than the sample without β-glucan. Respondents in both the cholesterol-claim subgroup and the glucose-claim subgroup rated samples similarly in different countries. In general, health claims (glucose or cholesterol claims) had a small positive impact on willingness to use beverages and soups containing β-glucan, but the taste of the products strongly affected the willingness to use them.¹⁰⁶ β-glucan affected the mouth feel of both the beverages and soups. Although, β-glucan addition altered the sensory characteristics of both the beverages and soups, liking for soups, benefit perceived and willingness to use the soups were not remarkably lower in β-glucan soups than in soups without β-glucan. Thus, in the first instance the taste of the product must be pleasing taste, and then health effects can give added value to the product.

6.8 Use of β-glucans in food products

It is well known that the source (species etc.), processing treatments (milling, temperature, pH effects, etc.) and interactions with other constituents in the source – and then in a composite food matrix – are likely to influence structural features, concentration and dispersibility–solubility of β-glucans and so modulate their physiological action. β-Glucans enrichment in some products, leading to concentrated products, has increasingly been studied because it allows a larger β-glucan intake per serving with a minimum decrease in palatability and an increase in volume ingested.⁶⁶ In most intervention studies, specific concentrated or processed products have been used, whereas commercially available foods are seldom used.⁶¹ Several studies have shown the advantages of enrichment of oat products

in achieving physiological effects. In fact, greater beneficial effects are obtained with these enriched products than with products naturally high in β -glucan.⁶⁶ Moreover, the use of β -glucan concentrates in processed food such as muesli bars, pasta, and cereal does not drastically reduce the efficacy of reducing post-prandial glycaemia.⁶⁶

The sensory properties of β -glucan, especially its high viscosity, influence the sensory quality of the products. Positive health effects of products may not guarantee that the product is chosen repeatedly if its sensory quality is not adequate. Taste pleasantness has been found to be the most important factor affecting food choice of novel foods and food choices overall.^{107–109} Their good viscosity-forming properties make β -glucans potential alternatives as thickening agents in different food applications, e.g. ice creams, sauces and salad dressings.¹¹⁰ Compared with other thickening agents, oat gum was less viscous than xanthan and guar at 0.5%, but slightly more viscous than locust bean gum at the same concentration.¹¹¹ To make the daily consumption of the FDA-recommended four portions of 0.75 g β -glucan feasible, new types of β -glucan-containing foods need to be developed in addition to cereal products where β -glucan is an intrinsic component. One option for these new products is frozen, ready-to-eat foods, as the consumption of these is growing in general.¹¹² Frozen ready-to-eat soups are one possible product category, where β -glucan could be used as a thickening agent.⁹⁹

β -glucan is suitable for a wide range of food products, because, being a neutral and non-ionic polymer, its viscosity is not affected by pH.¹¹¹ As the viscosity of β -glucan reversibly decreases with increased temperature, warm food products would be ideal products for enrichment with β -glucan.^{111,113} In warm foods the concentration of β -glucan could be higher than in cold foods because the product would have decreased sensory thickness during eating or drinking as a result of increased temperature. Technologically, more-processed β -glucan preparations are easier to add into foods in amounts sufficient for achieving a physiologically functional amount of β -glucan in a product. However, the relationship between physiological functionality and molecular weight has to be kept in mind.

The effects of different β -glucan preparations on the sensory texture and instrumental viscosity of beverage prototypes and soups have been evaluated.^{99,114} The results showed that both the type and concentration of β -glucan are important in determining the characteristics of foods. Different β -glucan preparations gave different viscosities (both sensory and instrumental) in beverages and soups containing the same amount of β -glucan. The effect was dependent on the molecular weight of the soluble fibre. Currently, the focus of the food-related industries is on developing new foods with sufficient β -glucans content, maintained viscosity and good palatability, in order to facilitate long-term intake and effectiveness. The appearance of new products combining health potential and high acceptability is very important and depends, in the case of cereals, on the devel-

opment of new processing technologies and improved knowledge of fibre distribution in the matrix.¹¹⁵ In an EU project entitled ‘Design of foods with improved functionality and superior health effects using cereal β-glucans (QLK1-2000-00535)’, different foods that normally do not contain cereals were enriched with β-glucans and the health effects were documented.

6.9 Future trends

β-Glucan has been intensively studied because of its ability to regulate glucose and insulin levels as well as cholesterol and body weight. Cereals rich in β-glucans may thus be useful nutritional tools to better control different metabolic disorders. One problem, however, is that the acceptability of these products – and hence compliance – is too low for many consumers. This could be improved by offering a wider range of foods enriched in β-glucans. Extended work is still needed from research groups to determine the precise molecular pathways of the action of β-glucans on carbohydrate metabolism and to understand the potential interactions with the other components of the food matrix and their consequences. Rather than relying solely on the effects of β-glucan on body composition a wider approach is needed: the combination of increased consumption of dietary fibre with incorporation of low-GI foods, physical activity and a balanced diet, could help in weight control, and obesity and type 2 diabetes management. In parallel, food industries have to integrate all this information in the development of new products with health potential and high palatability.

6.10 Acknowledgements

This chapter was written by a consortium involved in the EU project ‘Design of foods with improved functionality and superior health effects using cereal β-glucans (QLK1-2000-00535).’

6.11 References

- 1 AACC (American Association of Cereal Chemists) (2001), The definition of dietary fibre, *Cereal Foods World*, **46** (3), 112–126.
- 2 DELMER D P (1987), Cellulose biosynthesis, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **38**, 258–290.
- 3 SHIBUYA N and MISAKI A (1978), Polysaccharides and glycoproteins in the rice endosperm cell wall, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 2267–2274.
- 4 GENÇ H, ÖZDEMİR M and DEMİRBAS A (2001), Analysis of mixed-linked (1 → 3, 1 → 4)-β-glucans in cereal grains from Turkey, *Food Chem.*, **73**, 221–224.

- 5 AUTIO K (2001), Light microscopic investigation on dietary fibre, in *Advanced Dietary Fibre Technology*, Eds McCleary B and Prosky L, Blackwell Publishing Ltd, Ames, Iowa, pp. 25–29.
- 6 HELLWEG J H, MCKEEHEN J D and DIETSCH M (2005), Methods for preparing oat bran enriched in beta-glucan and oat products prepared therefrom, Patent Application.
- 7 MALKKI Y, MYLLYMAKI O, TEINILA K and KOPONEN S (2003), Method for preparing an oat product and a foodstuff enriched in the content of beta-glucan, US Patent 6,797,307.
- 8 FOEHSE K B (1991), Method of dry milling and preparing high soluble fibre barley fraction, US Patent 5,063,078.
- 9 KIRYLUK J, KAWKA A, GASIOROWSKI H, CHALCARZ A and ANIOLA J (2000), Milling of barley to obtain β -glucan enriched products, *Nahrung*, **44** (4), 238–241.
- 10 KIANIAN S F, PHILLIPS R L, RINES H W, FULCHER R G, WEBSTER F H and STUTHMAN D D (2000), Quantitative trait loci influencing β -glucan content in oat (*Avena sativa*, $2n = 6x = 42$), *Theor. Appl. Genet.*, **101**, 1039–1048.
- 11 WELCH R W, BROWN J C and LEGGETT J M (2000), Interspecific and intraspecific variation in grain and groat characteristics of wild oat (*Avena*) species: very high groat (1 \rightarrow 93, 1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in an *Avena atlantica* genotype, *J. Cereal Sci.*, **31**, 273–279.
- 12 FDA (Food and Drug Administration) (2006), Food labeling: Health claims; soluble fibre from certain foods and risk for coronary heart disease, Final rule, *Fed. Regist.*, May 22, **71** (98), 29248–29250.
- 13 JASKARI J, KONTULA P, SITONEN A, JOUSIMIES-SOMER M, MATTILA-SANDHOLM T and POUTANEN K (1998), Oat β -glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for Bifidobacterium and Lactobacillus strains, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**, 175–181.
- 14 SHIBUYA N and MINAMI E (2001), Oligosaccharide signalling for defense responses in plant, *Physiol. Molecul. Plant Pathol.*, **59**, 223–233.
- 15 MÅRTENSSON O, BIÖRKLUND M, LAMBO A, DUENAS-CHASCO M, IRASTORZA A, HOLST O, NORIN E, WELLING G, ÖSTE R and ÖNNING G (2005), Fermented, ropy, oat-based products reduce cholesterol levels and stimulate the bifidobacteria flora in humans, *Nutr. Res.*, **25**, 429–442.
- 16 MANZI P and PIZZOFERRATO L (2000), Beta-glucans in edible mushrooms, *Food Chemistry*, **68**, 315–318.
- 17 SELBMANN L, STINGELE F and PETRUCCIOLI M (2003), Exopolysaccharide production by filamentous fungi: the example of *Botryosphaeria rhodina*, *Ant. Van Leeuwenh.*, **84**, 135–145.
- 18 BABINEAU T J, HACKFORD A, KENLER A, BISTRIAN B, FORSE R A, FAIRCHILD P G, HEARD S, KEROACK M, CAUSHAJ P and BENOTTI P (1994), A phase II multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of three dosages of an immunomodulator (PGG-glucan) in high-risk surgical patients, *Arch. Surg.*, **129**, 1204–1210.
- 19 WOODWARD J R, FINCHER G B and STONE B A (1983), Water-soluble (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure, *Carbohydr. Polym.*, **3**, 207–225.
- 20 DAIS P and PERLIN A S (1982), High-field, ^{13}C -N.M.R. spectroscopy of β -D-glucans, amylopectin, and glycogen, *Carbohydr. Res.*, **100**, 103–116.
- 21 IZYDORCZYK M S, MACRI L J and MACGREGOR A W (1998), Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides – II. Alkali-extractable β -glucans and arabinoxylans, *Carbohydr. Polym.*, **35**, 259–269.

- 22 VARUM K M and SMIDSRÖD O (1988), Partial chemical and physical characterization of (1 → 3),(1 → 4)-β-D-glucans from oat (*Avena sativa* L.) aleurone., *Carbohydr. Polym.*, **9**, 103–117.
- 23 WOOD P J, WEISZ J, and BLACKWELL B A (1991), Molecular characterization of cereal β-D-glucans. Structural analysis of oat β-D-glucan and rapid structural evaluation of β-D-glucans from different sources by high-performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase, *Cereal Chem.*, **68**, 31–39.
- 24 WOOD P J, WEISZ J, and BLACKWELL B A (1994), Structural studies of (1 → 3)(1 → 4)-β-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase, *Cereal Chem.*, **71**, 301–307.
- 25 WOODWARD J R, PHILLIPS D R and FINCHER G B (1988), Water-soluble (1 → 3, 1 → 4)-β-D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. IV. Comparison of 40°C and 65°C soluble fractions, *Carbohydr. Polym.*, **8**, 85–97.
- 26 BULIGA G S, BRANT D A and FINCHER G B (1986), The sequence statistics and solution conformation of a barley (1 → 3, 1 → 4)-β-D-glucan, *Carbohydr. Res.*, **157**, 139–156.
- 27 IZYDORCZYK M S, MACRI L J and MACGREGOR A W (1998), Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides – I. Water-extractable β-glucans and arabinoxylans, *Carbohydr. Polym.*, **35**, 249–258.
- 28 IZYDORCZYK M S, JACOBS M and DEXTER J E (2003), Distribution and structural variation of nonstarch polysaccharides in milling fractions of hull-less barley with variable amylose content, *Cereal Chem.*, **80**, 645–653.
- 29 CUI W, WOOD P J, BLACKWELL B and NIKIFORUK J (2000), Physicochemical properties and structural characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of wheat β-D-glucan – comparison with other cereal β-D-glucans, *Carbohydr. Polym.*, **41**, 249–258.
- 30 IZYDORCZYK M S, BILIADERIS C G, MACRI L J and MACGREGOR A W (1998), Fractionation of oat (1 → 3), (1 → 4)-β-D-glucans and characterization of the fractions, *J. Cereal Sci.*, **27**, 321–325.
- 31 STORSLEY J M, IZYDORCZYK M S, YOU S, BILIADERIS C G and ROSSNAGEL B (2003), Structure and physicochemical properties of β-glucans and arabinoxylans isolated from hull-less barley, *Food Hydrocoll.*, **17**, 831–844.
- 32 BOHM N and KULICKE W M (1999), Rheological studies of barley (1 → 3)(1 → 4)-β-D-glucan in concentrated solution: investigation of the viscoelastic flow behaviour in the sol-state, *Carbohydr. Res.*, **315**, 293–301.
- 33 GOMEZ C, NAVARRO A, GARNIER C, HORTA A and CARBONELL J V (1997), Physical and structural properties of barley (1 → 3), (1 → 4)-β-D-glucan. Part III. Formation of aggregates analysed through its viscoelastic and flow behavior, *Carbohydr. Polym.*, **34**, 141–148.
- 34 LAZARIDOU A, BILIADERIS C G and IZYDORCZYK M S (2003), Molecular size effects on rheological properties of oat β-glucans in solutions and gels, *Food Hydrocoll.*, **17**, 693–712.
- 35 LAZARIDOU A, BILIADERIS C G, MICHA-SCRETAS M and STEELE B R (2004), A comparative study on structure–function relations of mixed linkage (1 → 3), (1 → 4) linear β-D-glucans, *Food Hydrocoll.*, **18**, 837–855.
- 36 TOSH S M, WOOD P J and WANG Q (2003), Gelation characteristics of acid-hydrolyzed oat beta-glucan solutions solubilized at a range of temperatures, *Food Hydrocoll.*, **17**, 523–527.

- 37 VAIKOUSI H, BILIADERIS C G and IZYDORCZYK M S (2004), Solution flow behavior and gelling properties of water-soluble barley (1 → 3, 1 → 4)-β-glucans varying in molecular size, *J. Cereal Sci.*, **39**, 119–137.
- 38 SKENDI A, BILIADERIS C G, LAZARIDOU A and IZYDORCZYK M S (2003), Structure and rheological properties of water soluble β-glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*, *J. Cereal Sci.*, **38**, 15–31.
- 39 BOHM N and KULICKE W M (1999), Rheological studies of barley (1 → 3)(1 → 4)-β-D-glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation, *Carbohydr. Res.*, **315**, 302–311.
- 40 CUI W and WOOD P J (2000), Relationships between structural features, molecular weight and rheological properties of cereal β-D-glucan, in *Hydrocolloids – Part 1 Physical Chemistry and Industrial Applications of Gels, Polysaccharides and Proteins*, Ed. Nishinari K, Elsevier Science B.V, Amsterdam, pp. 159–168.
- 41 IRAKLI M, BILIADERIS C G, IZYDORCZYK M S and PAPADOYANNIS I N (2004), Isolation, structural features and rheological properties of water-extractable β-glucans from different Greek barley cultivars, *J. Sci. Food Agric.*, **84**, 1170–1178.
- 42 LAZARIDOU A and BILIADERIS C G (2004), Cryogelation of cereal β-glucans: structure and molecular size effects, *Food Hydrocoll.*, **18**, 933–947.
- 43 PAPAGEORGIOU M, LAKHDARAB N, LAZARIDOU A, BILIADERIS C G and IZYDORCZYK M S (2005), Water extractable (1 → 3, 1 → 4)-β-D-glucans from barley and oats: An intervarietal study on their structural features and rheological behaviour, *J. Cereal Sci.*, **42**, 213–224.
- 44 TOSH S M, BRUMMER Y, WOOD P J, WANG Q and WEISZ J (2004), Evaluation of structure in the formation of gels by structurally diverse (1 → 3)(1 → 4)-β-D-glucans from four cereal and one lichen species, *Carbohydr. Polym.*, **57**, 249–259.
- 45 VAIKOUSI H and BILIADERIS C G (2005), Processing and formulation effects on rheological behavior of barley β-glucan aqueous dispersions, *Food Chem.*, **91**, 505–516.
- 46 DOUBLIER J L and WOOD P J (1995), Rheological properties of aqueous solutions of (1-3)(1-4)-β-D-glucan from oats (*Avena sativa* L.). *Cereal Chem.*, **72**, 335–340.
- 47 TOSH S M, WOOD P J, WANG Q and WEISZ J (2004), Structural characteristics and rheological properties of partially hydrolyzed oat β-glucan: the effects of molecular weight and hydrolysis method, *Carbohydr. Polym.*, **55**, 425–436.
- 48 WOLKA, MANSON J E, STAMPFER M J, COLDITZ G A, HU F B, SPEIZER F E, HENNEKENS C H and WILLETT W C (1999), Long-term intake of dietary fibre and decreased risk of coronary heart disease among women, *JAMA*, **281** (21), 1998–2004.
- 49 RIMM E B, ASCHERIO A, GIOVANNUCCI E, SPIEGELMAN D, STAMPFER M J and WILLETT W C (1996), Vegetable, fruit, and cereal fibre intake and risk of coronary heart disease among men, *JAMA*, **275** (6), 447–451.
- 50 LIU S, BURING J E, SESSO H D, RIMM E B, WILLETT W C and MANSON J E (2002), A prospective study of dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease among women, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **39** (1), 49–56.
- 51 RIPSIN C M, KEENAN J M, JACOBS D R, JR, ELMER P J, WELCH R R, VAN HORN L, LIU K, TURNBULL W H, THYE F W, KESTIN M *et al.* (1992), Oat products and lipid lowering. A meta-analysis, *JAMA*, **267** (24), 3317–3325.

- 52 MÄLKKI Y (2001), Oat Fibres: production, composition, physico-chemical properties, physiological effects, safety and food applications, in *Handbook of Dietary Fibre*, Eds Cho S S and Dreher M, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 497–517.
- 53 FDA (Food and Drug Administration) (1996), Food labeling: Health claims; oats and coronary heart disease, *Fed. Regis.*, **61**, 296.
- 54 KERCKHOFFS D A, HORNSTRA G and MENSINK R P (2003), Cholesterol-lowering effect of beta-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when beta-glucan is incorporated into bread and cookies, *Am. J. Clin. Nutr.*, **78** (2), 221–227.
- 55 ÖNNING G, WALLMARK A, PERSSON M, AKESSON B, ELMSTAHL S and ÖSTE R (1999), Consumption of oat milk for 5 weeks lowers serum cholesterol and LDL cholesterol in free-living men with moderate hypercholesterolemia, *Ann. Nutr. Metab.*, **43** (5), 301–309.
- 56 ÖNNING G (2004), Cereal beta-glucans as a functional ingredient to control diabetes and cardiovascular disease, in *Functional Foods, Diet, Cardiovascular Disease and Diabetes*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK.
- 57 LIA AMUNDSEN Å, HAUGUM B and ANDERSSON H (2003), Changes in serum cholesterol and sterol metabolites after intake of products enriched with an oat bran concentrate within a controlled diet, *Scand. J. Nutr.*, **47**, 68–74.
- 58 LIA A, HALLMANS G, SANDBERG A S, SUNDBERG B, AMAN P and ANDERSSON H (1995), Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fibre-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects, *Am. J. Clin. Nutr.*, **62** (6), 1245–1251.
- 59 NAUMANN E, VAN REES A B, ÖNNING G, ÖSTE R, WYDRA M and MENSINK R P (2006), β-Glucan incorporated into a fruit drink reduces serum concentrations of total and LDL cholesterol at least in part by reducing cholesterol absorption, *Am. J. Clin. Nutr.*, **83** (3), 601–605.
- 60 FERNANDEZ M L (2001), Soluble fibre and nondigestible carbohydrate effects on plasma lipids and cardiovascular risk, *Curr. Opin. Lipidol.*, **12** (1), 35–40.
- 61 BIORKLUND M (2005), Health effects of foods enriched with beta-glucans from cereals, PhD thesis, Lund University, Lund.
- 62 BATTILANA P, ORNSTEIN K, MINEHIRA K, SCHWARZ J M, ACHESON K, SCHNEITER P, BURRI J, JEQUIER E and TAPPY L (2001), Mechanisms of action of beta-glucan in postprandial glucose metabolism in healthy men, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **55** (5), 327–333.
- 63 WOOD P J, BRAATEN J T, SCOTT F W, RIEDEL K D, WOLYNETZ M S and COLLINS M W (1994), Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load, *Br. J. Nutr.*, **72** (5), 731–743.
- 64 TAPPY L, GUGOLZ E and WURSCH P (1996), Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibres on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects, *Diabetes Care*, **19** (8), 831–834.
- 65 BOURDON I, YOKOYAMA W, DAVIS P, HUDSON C, BACKUS R, RICHTER D, KNUCKLES B and SCHNEEMAN B O (1999), Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan, *Am. J. Clin. Nutr.*, **69** (1), 55–63.
- 66 JENKINS A L, JENKINS D J, ZDRAVKOVIC U, WURSCH P and VUKSAN V (2002), Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fibre in two functional foods tested in type 2 diabetes, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **56** (7), 622–628.

150 Novel food ingredients for weight control

- 67 HOWARTH N C, SALTZMAN E, MCCRORY M A, GREENBERG A S, DWYER J, AUSMAN L, KRAMER D G and ROBERTS S B (2003), Fermentable and nonfermentable fibre supplements did not alter hunger, satiety or body weight in a pilot study of men and women consuming self-selected diets, *J. Nutr.*, **133** (10), 3141–3144.
- 68 MA Y, OLENDZKI B, CHIRIBOGAD, HEBERT J R, LI Y, LI W, CAMPBELL M, GENDREAU K and OCKENE I S (2005), Association between dietary carbohydrates and body weight, *Am. J. Epidemiol.*, **161** (4), 359–367.
- 69 TROUT D L, BEHALL K M and OSILESI O (1993), Prediction of glycemic index for starchy foods, *Am. J. Clin. Nutr.*, **58** (6), 873–878.
- 70 WURSCH P and PI-SUNYER F X (1997), The role of viscous soluble fibre in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan, *Diabetes Care*, **20** (11), 1774–1780.
- 71 JUNTUNEN K S, NISKANEN L K, LIUKKONEN K H, POUTANEN K S, HOLST J J and MYKKANEN H M (2002), Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects, *Am. J. Clin. Nutr.*, **75** (2), 254–262.
- 72 SALMERON J, ASCHERIO A, RIMM E B, COLDITZ G A, SPIEGELMAN D, JENKINS D J, STAMPFER M J, WING A L and WILLETT W C (1997), Dietary fibre, glycemic load, and risk of NIDDM in men, *Diabetes Care*, **20** (4), 545–550.
- 73 BRAATEN J T, SCOTT F W, WOOD P J, RIEDEL K D, WOLYNETZ M S, BRULE D and COLLINS M W (1994), High beta-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin in subjects with and without type 2 diabetes, *Diabet. Med.*, **11** (3), 312–318.
- 74 REYNA N Y, CANO C, BERMUDEZ V J, MEDINA M T, SOUKI A J, AMBARD M, NUNEZ M, FERRER M A and INGLET G E (2003), Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometric variables in well controlled type 2 diabetic patients, *Am. J. Ther.*, **10** (6), 438–443.
- 75 SLAVIN J L (2005), Dietary fibre and body weight, *Nutrition*, **21** (3), 411–418.
- 76 LUDWIG D S, PEREIRA M A, KROENKE C H, HILNER J E, VAN HORN L, SLATTERY M L and JACOBS D R, JR. (1999), Dietary fibre, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults, *JAMA*, **282** (16), 1539–1546.
- 77 KOH-BANERJEE P, FRANZ M, SAMPSON L, LIU S, JACOBS D R, JR, SPIEGELMAN D, WILLETT W and RIMM E (2004), Changes in whole-grain, bran, and cereal fibre consumption in relation to 8-y weight gain among men, *Am. J. Clin. Nutr.*, **80** (5), 1237–1245.
- 78 BURTON-FREEMAN B (2000), Dietary fibre and energy regulation, *J. Nutr.*, **130** (2S Suppl.), 272S–275S.
- 79 NICOLOSI R, BELL S J, BISTRIAN B R, GREENBERG I, FORSE R A and BLACKBURN G L (1999), Plasma lipid changes after supplementation with beta-glucan fibre from yeast, *Am. J. Clin. Nutr.*, **70** (2), 208–212.
- 80 THOMPSON W G, ROSTAD HOLDMAN N, JANZOW D J, SLEZAK J M, MORRIS K L and ZEMEL M B (2005), Effect of energy-reduced diets high in dairy products and fibre on weight loss in obese adults, *Obes. Res.*, **13** (8), 1344–1353.
- 81 BIRKETVEDT G S, AASETH J, FLORHOLMEN J R and RYTTIG K (2000), Long-term effect of fibre supplement and reduced energy intake on body weight and blood lipids in overweight subjects, *Acta Medica (Hradec Kralove)*, **43** (4), 129–132.

- 82 HOWARTH N C, SALTZMAN E and ROBERTS S B (2001), Dietary fibre and weight regulation, *Nutr. Rev.*, **59** (5), 129–139.
- 83 MARLETT J A, MCBURNEY M I and SLAVIN J L (2002), Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fibre, *J. Am. Diet. Assoc.*, **102** (7), 993–1000.
- 84 SALTZMAN E, DAS S K, LICHTENSTEIN A H, DALLAL G E, CORRALES A, SCHAEFER E J, GREENBERG A S and ROBERTS S B (2001), An oat-containing hypocaloric diet reduces systolic blood pressure and improves lipid profile beyond effects of weight loss in men and women, *J. Nutr.*, **131** (5), 1465–1470.
- 85 EDWARDS C A, JOHNSON I T and READ N W (1988), Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection?, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **42** (4), 307–312.
- 86 LUND E K, GEE J M, BROWN J C, WOOD P J and JOHNSON I T (1989), Effect of oat gum on the physical properties of the gastrointestinal contents and on the uptake of D-galactose and cholesterol by rat small intestine in vitro, *Br. J. Nutr.*, **62** (1), 91–101.
- 87 HOLT S, BRAND J, SOVENY C and HANSKY J (1992), Relationship of satiety to postprandial glycaemic, insulin and cholecystokinin responses, *Appetite*, **18** (2), 129–141.
- 88 BOURDON I, OLSON B, BACKUS R, RICHTER B D, DAVIS P A and SCHNEEMAN B O (2001), Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 response to test meals in men, *J. Nutr.*, **131** (5), 1485–1490.
- 89 SANTANGELO A, PERACCHI M, CONTE D, FRAQUELLI M and PORRINI M (1998), Physical state of meal affects gastric emptying, cholecystokinin release and satiety, *Br. J. Nutr.*, **80** (6), 521–527.
- 90 WOOD P J, BEER M U and BUTLER G (2000), Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat beta-glucan in determining effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load, *Br. J. Nutr.*, **84** (1), 19–23.
- 91 BRENNAN C S, and CLEARY L J (2005), The potential use of cereal (1 → 3, 1 → 4)-β-D-glucans as functional food ingredients, *J. Cereal Chem.*, **42**, 1–13.
- 92 BRENNAN C S, BLAKE D E, ELLIS P R and SCHOFIELD J D (1996), Effects of guar galactomannan on wheat bread microstructure and on the in vitro and in vivo digestibility of starch in bread, *J. Cereal Sci.*, **24**, 151–160.
- 93 SALMENKALLIO-MARTTILA M, ROININEN K, AUTIO K and LÄHTEENMÄKI L (2004), Effects of gluten and transglutaminase on microstructure, sensory characteristics and instrumental texture of oat bread, *Agric. Food Sci.*, **13**, 138–150.
- 94 SYMONS L J and BRENNAN C S (2004), The Influence of (1 → 3) (1 → 4)-β-D-glucan-rich fractions from barley on the physicochemical properties and in vitro reducing sugar release of white wheat breads, *J. Food Sci.*, **69**, C463–467.
- 95 GODSHALL M A (1988), The role of carbohydrates in flavour development, *Food Technol.*, **11**, 71–78.
- 96 PAULUS K and HAAS E M (1980), The influence of solvent viscosity on the threshold values of primary tastes, *Chem. Senses*, **5** (Suppl. 1), 23–32.
- 97 MÄLKKI Y, HEINIÖ R-L and AUTIO K (1993), Influence of oat gum, guar gum and carboxymethyl cellulose on the perception of sweetness and flavour, *Food Hydrocoll.*, **6**, 525–532.
- 98 PANGBORN R M, TRABUE I and SZCZESNIAK A (1973), Effect of hydrocolloid on oral viscosity and basic taste intensities, *J. Text. Stud.*, **4**, 224–241.

152 Novel food ingredients for weight control

- 99 LYLÄ M, SALMENKALLIO-MARTTILA M, SUORTTI T, AUTIO K, POUTANEN K and LÄHTEENMÄKI L (2004), The sensory characteristics and rheological properties of soups containing oat and barley beta-glucan before and after freezing, *Lebensmittel Wiss. Technol.*, **37**, 749–761.
- 100 RAPPAPORT L, PETERS G, HUFF-CORZINE L and DOWNEY R (1992), Reasons for eating: an exploratory cognitive analysis, *Ecol. Food Nutr.*, **28**, 171–189.
- 101 GOODE J, BEARDSWORTH A, HASLAM C, KEIL T and SHERRATT E (1995), Dietary dilemmas: nutritional concerns of the 1990s, *Br. Food J.*, **97**, 3–12.
- 102 ZUNFT H J, FRIEBE D, SEPPELT B, DE GRAAF C, MARGETTS B, SCHMITT A and GIBNEY M J (1997), Perceived benefits of healthy eating among a nationally-representative sample of adults in the European Union, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **51** (Suppl. 2), 41–46.
- 103 MOORMAN C and MATULICH E, A model of consumers' preventive health behaviors: the role of health motivation and health ability, *J. Consumer Res.*, **20**, 208–228.
- 104 DIPLOCK A T, AGGET P J, ASHWELL M, BORNET F, FERN E B and ROBERFROID M B (1999), Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document, *Br. J. Nutr.*, **81**, 1–27.
- 105 URALA N, ARVOLA A and LÄHTEENMÄKI L (2003), Strength of health-related claims and their perceived advantage, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **38**, 815–826.
- 106 LYLÄ M, ROININEN K, HONKAPÄÄ K, POUTANEN K and LÄHTEENMÄKI L (2005), Factors influencing consumers' willingness to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat beta-glucan in Finland, France and Sweden, *Food Qual. Preference*, In press.
- 107 ARVOLA A, LÄHTEENMÄKI L and TUORILA H (1999), Predicting the intent to purchase unfamiliar and familiar cheeses: the effects of attitudes, expected liking and food neophobia, *Appetite*, **32**, 113–126.
- 108 STEPTOE A, POLLARD T M and WARDLE J (1995), Development of a measure of the motives underlying the selection of food: the food choice questionnaire, *Appetite*, **25**, 267–284.
- 109 MARTINS Y and PLINER P (1998), The development of the Food Motivation Scale, *Appetite*, **30** (1), 94.
- 110 WOOD P J (1986), Oat β -glucan: structure, location and properties, in *Oats: Chemistry and Technology*, Ed. Webster F H, American Association of Cereal Chemists, Inc, Saint Paul, MN, USA, pp. 121–152.
- 111 DAWKINS N L and NNANNA I A (1995), Studies on oat gum [(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)-beta-D-glucan]: composition, molecular weight estimation and rheological properties, *Food Hydrocoll.*, **9**, 1–7.
- 112 DWYER S (1999), Now they're cookin'!, *Prepared Foods*, **168**, 15–16, 18, 22–24, 26.
- 113 AUTIO K, MYLLYMÄKI O and MÄLKKI Y (1987), Flow properties of solutions of oat β -glucans, *J. Food Sci.*, **52**, 1364–1366.
- 114 LYLÄ M, SALMENKALLIO-MARTTILA M, SUORTTI T, AUTIO K, POUTANEN K and LÄHTEENMÄKI L (2003), Influence of oat β -glucan preparations on the perception of mouthfeel and on rheological properties in beverage prototypes, *Cereal Chem.*, **80**, 536–541.
- 115 CHARALAMPOPOULOS D, WANG R, PANDIELLA S S and WEBB C (2002), Application of cereals and cereal components in functional foods: a review, *Int. J. Food Microbiol.*, **79** (1–2), 131–141.

Q

A controlled study of consumption of β -glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects

Christine Cugnet-Anceau^{1,2,3,4,5,6,8†}, Julie-Anne Nazare^{1,2,3,4,5,6†}, Maria Björklund⁷, Elodie Le Coquil⁸, Agnès Sassolas⁹, Monique Sothier^{1,2,3,4,5,6}, Jorgen Holm¹⁰, Mona Landin-Olsson¹¹, Gunilla Önnings⁷, Martine Laville^{1,2,3,4,5,6} and Philippe Moulin^{1,2,3,4,5,6,8*}

¹Centre de Recherche en Nutrition Humaine de Rhône-Alpes, F-69495 Pierre-Bénite, France

²Université de Lyon (Univ Lyon), F-69622 Lyon, France

³INSA de Lyon, RMND, F-69621 Villeurbanne, France

⁴IMBL ou INSERM U870, Faculté Lyon-Sud, F-69921 Oullins, France

⁵INRA U1235, Faculté Lyon-Sud, F-69921 Oullins, France

⁶Hospices Civils de Lyon, Endocrinologie, diabète et nutrition/hôpital Edouard Herriot, F-69437 Lyon, France

⁷Biomedical Nutrition, Center for Chemistry and Chemical Engineering, Lund University, SE-22100 Lund, Sweden

⁸Fédération d'endocrinologie, maladies métaboliques, diabète et nutrition, Hôpital cardiovasculaire et pneumologique Louis Pradel, F-69677 Bron Cedex, France

⁹Laboratoire de Biochimie, Centre de Biologie Est, 69677 Bron, France

¹⁰Findus AB, 26781 Bjuv, Sweden

¹¹Department of Endocrinology and Diabetology, University Hospital, S-221 85 Lund, Sweden

(Received 9 March 2009 – Revised 3 July 2009 – Accepted 7 August 2009)

Type 2 diabetes is associated with a higher cardiovascular risk and there has been a growing interest in using dietary intervention to improve lipid profile and glucose control. The present work aims at analysing the effects of the enrichment of a normal diet with β -glucan (3.5 g/d) in free-living type 2 diabetic subjects for 2 months, using a palatable soup. This trial was a parallel, placebo-controlled, double-blinded randomised study performed in fifty-three type 2 diabetic subjects. During a 3-week run-in period, subjects daily consumed a ready meal control soup (without β -glucan). For the following 8 weeks, subjects were randomly assigned to consume daily either a control soup or a β -glucan soup. Changes in lipid profile (total cholesterol (TC), HDL- and LDL-cholesterol (HDLc and LDLc), apo B and TAG) and in glucose control (HbA1c and fasting glucose) were measured. There was no significant alteration in lipid profile in the two groups (TC, HDLc, LDLc and apo B). TAG decreased significantly in the β -glucan group compared with the control group (-0.12 (SD 0.38) v. 0.12 (SD 0.44) mmol/l, $P=0.03$). HbA1c and fasting glucose were not reduced in any group. A single daily ingestion of 3.5 g β -glucan, as required by official dietary recommendations, for 8 weeks did not change the lipid profile and HbA1c in type 2 diabetic subjects. To improve the metabolic profile of type 2 diabetic subjects in the long term, the quantity, the food vectors and the tolerability of β -glucan products may be re-evaluated.

β -Glucan: Lipid profile: HbA1c: Type 2 diabetes: Long-term intervention

Type 2 diabetes is associated with a high risk of CVD; consequently, the improvement of lipid profile or blood glucose control is a major challenge. Epidemiological and short-term intervention studies have highlighted that high dietary fibre intake is related to an improvement in fasting and post-prandial glycaemic control and lipid profile, associated with a lower cardiovascular risk^(1–3). In this context, soluble dietary fibre supplementation has been considered as a therapeutic tool to improve these parameters.

β -Glucan, a non-starch viscous polysaccharide derived from oat, has been shown to reduce total cholesterol (TC)

and LDLc levels, and post-prandial glucose and insulin response^(4–7). Several mechanisms are proposed as to explain the cholesterol-lowering effect of β -glucan: reduced cholesterol absorption due to an increased meal bolus viscosity, reduced cholesterol synthesis due to an increased conversion of cholesterol to faecal bile acids and/or an inhibition of hepatic fatty acid synthesis by products of fermentation^(8–10). Concerning glucose metabolism, the beneficial metabolic effects of oat β -glucan are tightly linked to the β -glucan-induced increased viscosity of the meal bolus, which delays and/or reduces carbohydrates absorption^(11,12).

Abbreviations: LDLc, LDL cholesterol; TC, total cholesterol.

†C. C.-A. and J.-A. N. are both first authors of the present paper.

* **Corresponding author:** Professor Philippe Moulin, fax +33 4 72 68 13 07, email philippe.moulin@chu-lyon.fr

However, the increase in intestinal viscosity is dependant of β -glucan molecular weight and solubility, food processing, β -glucan concentration and associated food matrix. β -Glucan enrichment of food products has been largely studied, because it permits a higher intake per serving with a minimum decrease in palatability⁽¹³⁾. So, to reach the 3 g/d intake recommended by Food and Drug Administration, consumers must be offered a range of palatable and sufficiently enriched products. Up to now, few studies have specifically focused on the effect of β -glucan as an adjunct therapeutic aid for metabolic control in type 2 diabetic subjects in the mid-term range⁽¹⁴⁾. In parallel to the numerous epidemiological and short-term intervention studies concerning dietary fibre and diabetes, evidence-based studies investigating long-term efficiency of β -glucan enrichment in type 2 diabetic subjects are missing.

The present work aims at analysing the effects of the enrichment of a normal diet with reasonable amount of β -glucan (3.5 g/d) on glucose control (HbA1c level) and on lipid profile (TC, HDL cholesterol, LDLc and apo B) for 2 months in a representative group of free-living type 2 diabetic subjects, with different treatments (anti-diabetic, lipid-lowering, diet) and characteristics (time from diagnosis, sex and age). Using a palatable ready-to-eat frozen soup seemed to be a good alternative to maintain both physiological effects and good sensory properties and to implement an everyday dietary intervention over a long-term period.

Subjects and methods

Study design

The present study was a parallel, placebo-controlled, blinded randomised trial. For a run-in period of 3 weeks, the subjects consumed one control soup a day (without β -glucan). For the following 8-week intervention period, one group continued to consume the control soup (control group), while the other group consumed the soup containing 3.5 g β -glucan (β -glucan group).

At the beginning of the run-in period (week (W) 0), of the dietary intervention (W3) and at the end (W11), body weight was measured and fasting blood samples were collected. The subjects completed a 5-d dietary questionnaire on W0 and W11.

Study population

The type 2 diabetes patients were recruited in Lund and Lyon, and a medical examination and screening visit were performed

prior involvement, received written and oral information about the protocol and signed an informed consent form. The study was approved by the Scientific Ethics Committees in Lyon (CCPPRB Lyon A) and Lund and accorded with both the French 'Huriet-Serusclet' law and the Second Declaration of Helsinki. The inclusion criteria were men or women aged 30–75 years old, BMI 20–35 kg/m², stable body weight, with an HbA1c < 11%. The exclusion criteria were pregnancy, breastfeeding, severe renal complications, secondary dyslipidaemia, TAG > 4 mmol/l, anaemia, treatment by orlistat, pancreatic disease and malignancy > 1 year ago.

Experimental products and dietary regimen

The experimental products were frozen ready-to-eat soups (Findus R&D, Bjuv, Sweden) with three different flavours: lentil and ham; shrimps and dill; mushroom (composition in Table 1). A soluble oat concentrate of β -glucan (3.5 g) was added to the enriched soups (Ceba Foods, Lund, Sweden). Attempts were made to increase further the concentration of β -glucan, but this negatively affected the palatability. The soups composition has been adjusted to obtain levels with respect to carbohydrates and lipids, by adding rapeseed oil to control soup and maltodextrin to β -glucan soup. β -Glucan in the soup has a molecular weight of 80 kDa, and preparation, freezing and storage did not alter the molecular weight (analysis by VTT Biotechnology, Espoo, Finland).

The subjects were instructed to consume daily one soup as the main component of a lunch or dinner meal and if desired add drink and/or other food products. Subjects and investigators were blinded for the type of soup ingested.

As a measure of compliance, packages that were left over must be returned and were counted.

Subjects were also asked not to change their usual food habit, physical activity and to record any signs of illness, medication used or deviation to the protocol.

Food habits were assessed once before the run-in period and once at the end of the intervention by a 5-d food intake questionnaire and analysed by a trained registered dietitian (in Lyon, using a *SU*plémentation en *VI*tamines et *MI*néraux *Antio*Xydants© dietary photographic support and in Lund, a food database from the Swedish National Food Administration (PC-Kost 1_99, SLV, Uppsala, Sweden).

Testing and analytical procedures

Subjects came to the research centre at the start of the study (W0), at the end of the run-in period (W3), at the middle of

Table 1. Nutrient composition of the soups (per 100 g)*

Nutrients	Lentil soup		Shrimps and dill soup		Mushroom soup	
	β -Glucan soup	Control soup	β -Glucan soup	Control soup	β -Glucan soup	Control soup
Energy (kJ)	351.9	331.0	213.7	196.9	301.7	280.7
Protein (g)	3.8	2.6	3.7	2.6	3.1	2.0
Fat (g)	4.8	4.8	2.0	2.0	3.0	3.0
Carbohydrate (g)	6.4	6.4	4.6	4.6	8.1	8.1
Total fibre (g)	2.3	1.1	1.9	0.7	2.5	1.4
β -Glucan (g)	0.88	0	0.88	0	0.88	0

* One portion serving is 400 g.

the study (W7) and at the end of the study (W11). Body weight was measured using a calibrated scale. Blood samples were drawn following an overnight fast, collected in tubes maintained at 4°C and immediately centrifuged at 4500 rpm for 10 min at 4°C. Plasma was then stored at -20°C until assay.

Fasting glucose concentrations, HDL cholesterol, TC and TAG were analysed with respective enzymatic kits from Roche Diagnostics using an autoanalyzer (Roche Diagnostics Hitachi 917; Hitachi, Tokyo). LDLc was calculated by the Friedewald formula⁽¹⁵⁾. Plasma concentrations of apo B were determined by immunonephelometry using an Immage Beckman instrument (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). HbA1c levels were determined by HPLC (Biorad, Marnes la Coquette, France).

Statistical analysis

Results are given as means and standard deviations except TC, LDLc, HbA1c and fasting glucose when plotting in graphs (standard error of the mean). Changes in parameters according to group assignment were calculated as the change and the percentage of change between values at the end of the run-in period (W3) and at the end of the intervention period (W11).

Equality of variance and distribution normality have been checked prior further analysis. Differences between groups at baseline and change and percentage of change between W3 and W11 were assessed using an unpaired *t* test. In case of non-normal distribution, a non-parametric Mann and Whitney test was done. The present study including thirty subjects in each group has the power to detect a significant decrease in HbA1c lower or equal to 0.5% with a standard deviation = 0.7% (β-risk of 20% and α-risk of 5%; P Moulin, unpublished clinical). Statistical significance was inferred at *P* < 0.05. All statistical analyses were performed using Statview version 5.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) software.

Results

Subjects

Sixty-seven diabetic volunteers were screened in Lyon and Lund and were randomly assigned to either the control group or the β-glucan group. There was no centre effect for any studied parameter. Only fifty-three subjects (twenty-four subjects in the control group and twenty-nine subjects in the β-glucan group) were included in the analysis due to lipid profile anomaly (two subjects: TAG > 4 mmol/l at W0) or withdrawal (twelve subjects). The population was composed of twenty-one women and thirty-two men with mild obesity. About 50% of the subjects were under lipid-lowering treatment (twelve in the control group and fifteen in the β-glucan group). As for anti-diabetic treatment, subjects were either under insulin or medication treatment (twelve in the control group and nine in the β-glucan group), either under diet and/or medication treatment (twelve in the control group and twenty in the β-glucan group). Importantly, the treatments were kept constant throughout the study. The subjects' characteristics are given in Table 2.

Table 2. Baseline characteristics of the study subjects according to group
(Mean values and standard deviations)

	Control group (n 24)		β-Glucan group (n 29)	
	Mean	SD	Mean	SD
Age (years)	61.8	7.5	61.9	9.1
Body weight (kg)	86.41	29.02	87.32	17.23
BMI (kg/m ²)	29.02	4.05	30.48	4.08
HbA1c (%)	7.47	1.29	7.31	0.92
Fasting glucose (mmol/l)	8.36	2.28	8.84	2.11
TC (mmol/l)	4.70	0.81	4.93	1.08
HDLc (mmol/l)	1.18	0.37	1.17	0.34
LDLc (mmol/l)	2.87	0.70	2.87	0.90
TAG (mmol/l)	1.29	0.46	1.77*	0.81
apo B (mmol/l)	0.95	0.16	0.99	0.25
CRP (mg/l)	3.32	3.25	3.15	3.45

TC, total cholesterol; HDLc, HDL cholesterol; LDLc, LDL cholesterol; CRP, C-reactive protein.

*Mean values were significantly different between β-glucan and control groups (Mann-Whitney test; *P* = 0.02).

They were normocholesterolaemic with a mild hypertriglyceridaemia and a fair blood glucose control. Due to randomisation, both groups were comparable, except for a higher concentration of plasma TAG in the β-glucan group.

Side effects and compliance

All the participants followed the experimental protocol without difficulty. The compliance was good (based on soup packages count). The soup portion was mostly ingested at dinner in the two groups.

There were no significant differences between the groups in the safety parameters: number of results leucocytes, erythrocytes and platelets; or serum concentration of CRP, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ-glutamyltransferase and creatinine (data not shown). There was no record of side effects as headache, stomach complaints, nausea, flatulence, diarrhoea, bloated feeling, eruption/rashes, fatigue and dizziness. The twelve withdrawals, with a similar distribution in both groups, were not due to diet intolerance or side effects, but to personal reasons.

Run-in period

During the 3-week run-in period, none of the measured metabolic parameters was modified in the two groups (data not shown).

Anthropometric parameters and diet

The mean baseline BMI in both groups (Table 2) remained constant throughout the study and did not significantly differ between groups: +0.18 (SD 1.33) kg/m² in the β-glucan group *v.* +0.36 (SD 1.37) kg/m² in the control group during intervention period (*P* = 0.63; data not shown).

The mean daily dietary intakes before the run-in period (W0) were measured: 6.9 (SD 1.6) MJ of total energy; 34.3 (SD 6.2)% of total energy as fat; 19.0 (SD 2.4)% of

total energy as protein; 44.1 (SD 5.4)% of total energy as carbohydrates; 19.7 (SD 5.3) g of dietary fibres for the β -glucan group v. 8.2 (SD 3.0) MJ of total energy; 35.2 (SD 5.5)% of total energy as fat; 17.9 (SD 2.7)% of total energy as protein; 43.7 (SD 7.4)% of total energy as carbohydrates; 22.3 (SD 12.0) g of dietary fibres for the control group. The registered energy and nutrient intake remained stable throughout the study, and there were no significant differences in either group at the end of the intervention period (W11). However, a trend toward a mild decrease (NS) in fibre consumption during the intervention period was noticed in the two groups.

Serum lipids

The blood lipid profile was unchanged during the β -glucan dietary intervention (Table 3). TC and LDLc decreased in the β -glucan group, but this decrease was NS compared with the control group (Fig. 1(a) and (b)). The apo B concentration remained also stable in both groups. HDL cholesterol

increased significantly between W0 and W11: +5.37 (SD 10.47)% ($P=0.01$) in the β -glucan group. No significant difference was found in HDL cholesterol/LDLc ratio between W3 and W11 in the two groups (data not shown). The serum TAG decreased by -3.75 (SD 22.2)% in the β -glucan group and increased by +11.24 (SD 32.40)% in the control group. This difference between the two groups was significant, even after adjustment for TAG concentration at W0 or W3 as covariant ($P=0.03$). Additionally, the lipid profile's changes were not altered by the presence or absence of a lipid-lowering drug treatment.

Glycaemic control

The primary glycaemic end point, HbA1c, was not reduced during intervention period in the β -glucan group (Table 3; Fig. 1(c)). The W11-W3 HbA1c change was not different between the two groups. The mild increase in fasting glucose over the duration of the study was NS and similar in both groups (Table 3; Fig. 1(d)).

Table 3. Change in total cholesterol (TC), LDL- (LDLc), HDL-cholesterol (HDLc), TAG, apo B, HbA1c and fasting glucose* (Mean values and standard deviations)

	Control group		β -Glucan group		P
	Mean	SD	Mean	SD	
TC (mmol/l)					
End of run-in (W3)	4.80	0.84	4.88	1.09	
End of intervention period (W11)	4.79	0.81	4.81	1.03	
Change	0.01	0.52	-0.06	0.52	0.59
Change (%)	1.07	11.10	-0.49	12.64	0.63
LDLc (mmol/l)					
End of run-in (W3)	2.93	0.74	2.85	0.90	
End of intervention period (W11)	2.80	0.62	2.79	0.88	
Change	-0.10	0.51	-0.05	0.38	0.72
Change (%)	-1.06	18.86	-0.78	17.50	0.95
HDLc (mmol/l)					
End of run-in (W3)	1.19	0.31	1.14	0.3	
End of intervention period (W11)	1.24	0.36	1.20	0.29	
Change	0.03	0.14	0.05	0.10	0.67
Change (%)	3.38	11.78	5.37	10.47	0.51
TAG (mmol/l)					
End of run-in (W3)	1.35	0.53	1.75	0.68	
End of intervention period (W11)	1.47	0.65	1.63	0.55	
Change	0.12	0.44	-0.12	0.38	0.03†
Change (%)	11.24	32.40	-3.75	22.2	0.05†
apo B (mmol/l)					
End of run-in (W3)	0.93	0.18	0.98	0.24	
End of intervention period (W11)	0.95	0.17	0.95	0.24	
Change	0.01	0.12	-0.02	0.10	0.15
Change (%)	3.12	13.56	-2.42	11.00	0.10
HbA1c (%)					
End of run-in (W3)	7.16	1.20	7.18	0.92	
End of intervention period (W11)	7.33	1.55	7.17	0.86	
Change	0.17	0.84	0.00	0.58	0.38
Change (%)	2.20	11.17	0.26	7.43	0.45
Fasting glucose (mmol/l)					
End of run-in (W3)	8.28	2.32	8.98	1.83	
End of intervention period (W11)	9.08	3.50	9.09	1.86	
Change	0.80	2.24	0.11	1.43	0.45
Change (%)	9.58	25.85	2.27	16.44	0.39

Change (%), percentage change.

*When the run-in period values were used as covariates, the significance level (P) and interpretation of the results did not change.

† Mean values were significantly different between β -glucan and control groups ($P < 0.05$; Mann-Whitney test or unpaired t test).

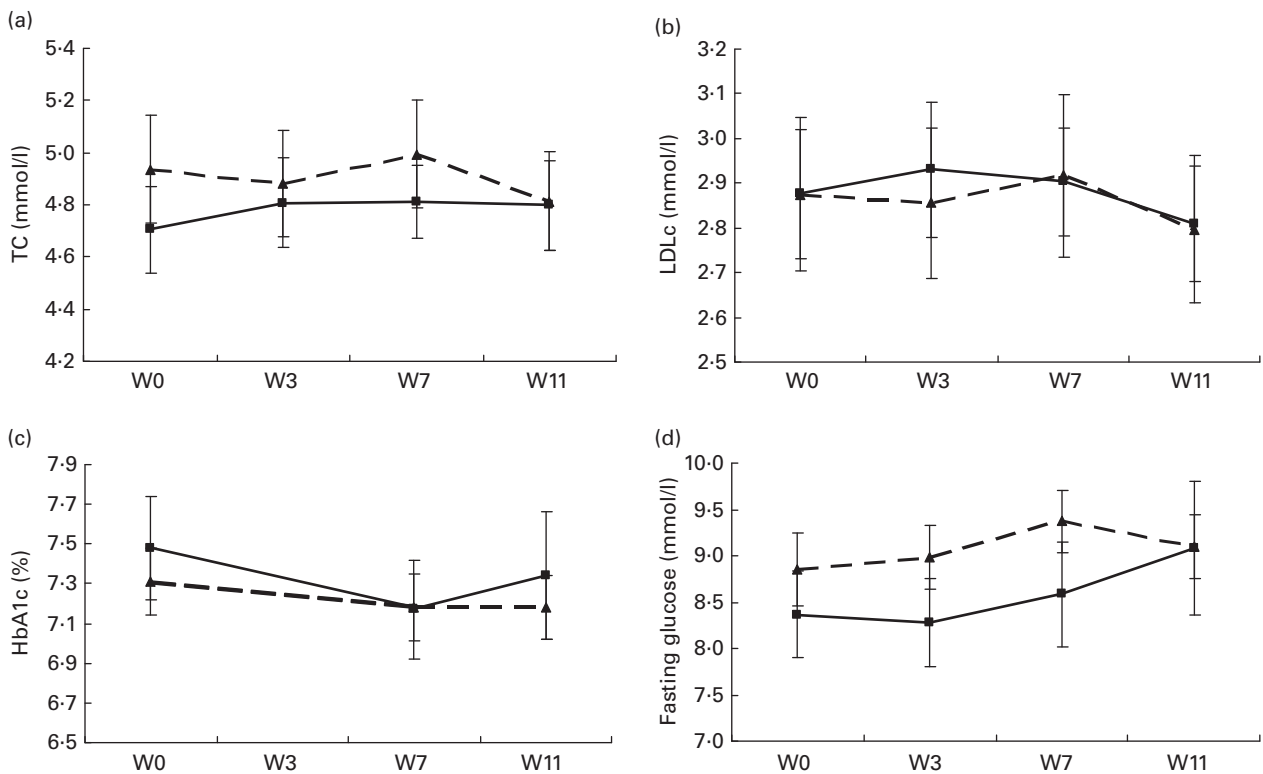


Fig. 1. Mean concentrations with their standard errors of mean during the run-in period (week (W0–W3) and the intervention period (W3–W11) for β-glucan group (▲, dotted line; n 29) and for control group (■, plain line; n 24). (a) Total cholesterol (TC; mmol/l); (b) LDL cholesterol (LDLc; mmol/l); (c) HbA1c (%); (d) fasting glycaemia (mmol/l). No significant difference was observed between the two groups.

Discussion

The present study shows that the long-term consumption of a β-glucan-enriched soup once daily as the main part of the meal had no detectable effect on the metabolic profile in free-living type 2 diabetic subjects. The incorporation of 3.5 g of β-glucan in soups, ingested for 8 weeks, did not alter plasma LDLc and HbA1c. The targeted population consisted of a representative group of free-living type 2 diabetes patients. Indeed, the fifty-three subjects (44–75 years old) had a time from diabetes diagnosis ranging between 1 and 25 years. They were under different anti-diabetic treatment (diet, sulphonylurea, metformin, repaglinide and α-glycosidase inhibitor) and/or lipid-lowering treatment (fibrates and statins).

The present study was unable to provide evidence of a significant improvement in lipid profile. It has been shown that 3 g soluble fibre could decrease TC and LDLc⁽⁶⁾. According to the meta-analysis of Brown *et al.*⁽⁶⁾, a reduction of –0.04 mmol/l per g of fibre for LDLc would have been expected, so for 3.5 g of oat β-glucan –0.12 mmol/l. In contrast, β-glucan-enriched beverages (fruit drink and oat milk) did improve the lipid profile in the expected magnitude predicted from this meta-analysis^(10,16). However, several other studies failed to demonstrate an effect of β-glucan incorporation into a solid matrix on the lipid profile in hypercholesterolaemic subjects^(17–19). Thus, 5.9 g β-glucan incorporated into cookies and bread during 4 weeks did not significantly change TC and LDLc⁽¹⁸⁾. The meta-analysis of Ripsin *et al.*⁽²⁰⁾ suggested that a larger reduction of TC and

LDLc were seen in subjects with higher cholesterol levels, particularly when a dose of 3 g or more of oat fibre was used. However, Biorklund *et al.*⁽¹⁹⁾ recently has not shown any effect with 4 g β-glucan incorporated into a soup in forty-three hyperlipidaemic subjects. Considering the low LDLc encountered in type 2 diabetes subjects, well controlled for lipid profile, the decrease in LDLc was expected to be weaker. Moreover, half of our subjects were treated with a lipid-lowering treatment, which could have blunted the fibre effect, but results were not modified in the subgroup without lipid-lowering treatment (data not shown). Surprisingly, the present results showed for the first time a significant diminution of TAG concentration in the β-glucan group. It is likely that it is the consequence of the regression toward the mean phenomenon, since the β-glucan group had a higher level of plasma TAG at baseline.

Few studies have assessed the efficacy of fibres on the lipid profile in type 2 diabetes. In a small group of type 2 diabetic subjects, fed a high amount of soluble fibre (7 g guar gum three times a day for 3 months), a significant reduction in LDLc (from 5.19 mmol/l (SEM 0.34) to 4.30 (SEM 0.40) mmol/l) was found⁽²¹⁾. Also, another crossover study in eight type 2 diabetic men has shown a decrease in LDLc from 3.36 (SEM 0.12) to 2.59 (SEM 0.12) mmol/l with 9 g oat bran fibre incorporated into bread, buns or muffins during 12 weeks⁽²²⁾. The higher beneficial effect was observed with ingestion of 8–13 g konjac-mannan-enriched biscuits associated to a low-fat diet during 3 weeks (LDLc from 3.89 (SEM 0.25) to 3.04 (SEM 0.24) mmol/l)⁽²³⁾.

Concerning glucose control, the anti-diabetic effects of β -glucans have been suspected in regards to their actions on energy and glucose metabolism and to their lowering effect on post-prandial glycaemic and insulinaemic responses in healthy and fewer in type 2 diabetic subjects^(7,11,14,24–26). Up to now, only one study investigated the effect of a diet enriched in β -glucan on HbA1c in type 2 diabetes, in addition to the recommended American Diabetes Association diet⁽¹⁴⁾. Eight diabetic patients (mean HbA1c of 8.5%) followed a 4-week low-energy diet, enriched with 8% of β -glucan. Fasting glycaemia did not change, but a weak decrease in HbA1c was observed in the β -glucan group. But β -glucan enrichment was associated to the replacement of sugars by sweeteners. In our diabetic group, the lower baseline HbA1c (7.38 (SD 1.10)%) may explain the lack of significant effect of soups used as the exclusive intervention. Another fibre, konjac-mannan, significantly decreased fructosamine in diabetic subjects⁽²³⁾. In the present study, fructosamine analysis was performed between W0 and W11 (data not shown), and no change was observed.

Concerning fasting glycaemia, we did not find any significant effect of β -glucan. There was a trend for a decrease in fasting glycaemia in subgroup without insulin injection (NS). Aro *et al.*⁽²¹⁾ showed a significant decrease in fasting and post-prandial hyperglycaemia in type 2 diabetic subjects following a 3-month supplementation (three times 7 g guar gum daily).

Considering study design using dietary supplementation in free-living subjects, discrepancies between results can thus partly be explained by differences in food matrix, amount of β -glucan ingested, ingestion frequency, HbA1c level and lipid status at baseline, intervention duration and population size. It is well known that the fibre type, the interactions with other constituents in the composite food matrix or the mode of administration are likely to influence structural features, concentration and solubility of β -glucans and consequently modulate their physiological action. The efficiency of β -glucan to alter metabolic parameters such as cholesterol level is higher when β -glucan is part of a liquid food matrix compared to a solid one^(10,16,18,27). Moreover, one study has been done in order to verify the willingness of consumers to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat β -glucan⁽²⁸⁾. Although β -glucan addition altered the sensory characteristics of both the beverages and soups, willingness to use soups was not remarkably lowered. Whereas soups seemed to be a good vector of administration, well tolerated, palatable and convenient, the acceptable amount of β -glucan (3.5 g/serving) may not be sufficient to induce a physiological effect on lipid or glucose profile. More than 3.5 g per serving, we encountered high decrease in palatability, which could have compromised the good compliance to the study and a possible future extension in the longer-term. Finally, the frequency of ingestion may have negatively influenced the present results since the β -glucan soup was ingested only once a day compared to other studies^(16,23). Besides, β -glucan soups were ingested as main part of a meal and may have replaced other fibre-rich food as vegetables or fruits in the dietary pattern.

In conclusion, this 2-month intervention trial in a large group of type 2 diabetic subjects shows that a single daily ingestion of a soup enriched with 3.5 g β -glucan (according

to official recommendations) does not improve the lipid profile and HbA1c level in free-living conditions. Long-term benefits from β -glucan-enriched foods in the diabetic population might occur with higher doses and/or increased frequency of intake, but such consideration raises the question of the supplementation acceptability.

Acknowledgements

The present work was a part of the European project QLKI-2000-00 535 'Design of food with improved functionality and superior health effects using cereal β -glucans' supported by the European Commission. It does not necessarily reflect its views and in no way anticipates the Commission's future policy in this area. Additional support was obtained from the Pålsson Foundation and the Swedish Governmental Agency for Innovation Systems (to G. O.). J. H. is employee of Findus.

We thank all the staff of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes and of the Unit for diabetic studies (Lund University) for their excellent technical assistance in subject recruitment, sample collection and analysis, and dietary surveys, Dr T. Suortti, Dr M. Salmenkallio-Marttila from VTT Biotechnology for analysis of the study products, Findus R&D for the frozen soups production, Picard Surgelés (France) for the frozen soups supply and all the subjects for taking part in this trial.

C. C.-A. and J.-A. N. were responsible for data collection and analysis, statistical analysis, writing and evaluation of the paper. M. B. and E. L. C. were responsible for study coordination, data collection and analysis. A. S. was responsible for biochemical assays. M. S. was responsible for dietary surveys and analysis. J. H. worked at Findus and provided expertise and knowledge in test products. M. L.-O. was responsible for subject involvement and coordination of subject management. M. L., G. O. and P. M. were responsible for study coordination, study design and supervised the writing of the paper.

References

1. Salmeron J, Ascherio A, Rimm EB, *et al.* (1997) Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care* **20**, 545–550.
2. Wolk A, Manson JE, Stampfer MJ, *et al.* (1999) Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *JAMA* **281**, 1998–2004.
3. Liu S, Buring JE, Sesso HD, *et al.* (2002) A prospective study of dietary fiber intake and risk of cardiovascular disease among women. *J Am Coll Cardiol* **39**, 49–56.
4. Braaten JT, Wood PJ, Scott FW, *et al.* (1991) Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load. *Am J Clin Nutr* **53**, 1425–1430.
5. Wursch P & Pi-Sunyer FX (1997) The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. *Diabetes Care* **20**, 1774–1780.
6. Brown L, Rosner B, Willett WW, *et al.* (1999) Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **69**, 30–42.
7. Tappy L, Gugolz E & Wursch P (1996) Effects of breakfast cereals containing various amounts of beta-glucan fibers on

- plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. *Diabetes Care* **19**, 831–834.
8. Lia A, Hallmans G, Sandberg AS, *et al.* (1995) Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *Am J Clin Nutr* **62**, 1245–1251.
 9. Keogh GF, Cooper GJ, Mulvey TB, *et al.* (2003) Randomized controlled crossover study of the effect of a highly beta-glucan-enriched barley on cardiovascular disease risk factors in mildly hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* **78**, 711–718.
 10. Naumann E, van Rees AB, Onning G, *et al.* (2006) Beta-glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *Am J Clin Nutr* **83**, 601–605.
 11. Battilana P, Ornstein K, Minehira K, *et al.* (2001) Mechanisms of action of beta-glucan in postprandial glucose metabolism in healthy men. *Eur J Clin Nutr* **55**, 327–333.
 12. Wood PJ, Braaten JT, Scott FW, *et al.* (1994) Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Br J Nutr* **72**, 731–743.
 13. Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V, *et al.* (2002) Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr* **75**, 834–839.
 14. Reyna NY, Cano C, Bermudez VJ, *et al.* (2003) Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients. *Am J Ther* **10**, 438–443.
 15. Friedewald WT, Levy RI & Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **18**, 499–502.
 16. Onning G, Wallmark A, Persson M, *et al.* (1999) Consumption of oat milk for 5 weeks lowers serum cholesterol and LDL cholesterol in free-living men with moderate hypercholesterolemia. *Ann Nutr Metab* **43**, 301–309.
 17. Torronen R, Kansanen L, Uusitupa M, *et al.* (1992) Effects of an oat bran concentrate on serum lipids in free-living men with mild to moderate hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Nutr* **46**, 621–627.
 18. Kerckhoffs DA, Hornstra G & Mensink RP (2003) Cholesterol-lowering effect of beta-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when beta-glucan is incorporated into bread and cookies. *Am J Clin Nutr* **78**, 221–227.
 19. Björklund M, Holm J & Onning G (2008) Serum lipids and postprandial glucose and insulin levels in hyperlipidemic subjects after consumption of an oat beta-glucan-containing ready meal. *Ann Nutr Metab* **52**, 83–90.
 20. Ripsin CM, Keenan JM, Jacobs DR Jr, *et al.* (1992) Oat products and lipid lowering. A meta-analysis. *JAMA* **267**, 3317–3325.
 21. Aro A, Uusitupa M, Voutilainen E, *et al.* (1981) Improved diabetic control and hypocholesterolaemic effect induced by long-term dietary supplementation with guar gum in type 2 (insulin-independent) diabetes. *Diabetologia* **21**, 29–33.
 22. Pick ME, Hawrysh ZJ, Gee MI, *et al.* (1996) Oat bran concentrate bread products improve long-term control of diabetes: a pilot study. *J Am Diet Assoc* **96**, 1254–1261.
 23. Vuksan V, Jenkins DJ, Spadafora P, *et al.* (1999) Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. A randomized controlled metabolic trial. *Diabetes Care* **22**, 913–919.
 24. Braaten JT, Scott FW, Wood PJ, *et al.* (1994) High beta-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin in subjects with and without type 2 diabetes. *Diabet Med* **11**, 312–318.
 25. Brennan CS (2005) Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Mol Nutr Food Res* **49**, 560–570.
 26. Nazare JA, Normand S, Oste Triantafyllou A, *et al.* (2008) Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects: effects on glucose and insulin kinetics. *Mol Nutr Food Res* **53**, 361–369.
 27. Anderson JW, Davidson MH, Blonde L, *et al.* (2000) Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* **71**, 1433–1438.
 28. Lyly M, Honkapää K, Poutanen K, *et al.* (2007) Factors influencing consumers' willingness to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat beta-glucan in Finland. *Food Qual Prefer* **18**, 242–255.