

Nutrienti e sistema delle incretine

Gabriella Nosso, Mariella Cotugno, Brunella Capaldo

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università Federico II, Napoli

L'asse entero-insulare è un complesso sistema di segnali di origine neurale e ormonale che mette in comunicazione l'intestino e le cellule insulari. Tra i molteplici ormoni liberati dall'intestino, due svolgono un ruolo preminente: il GLP-1 (peptide-1 simil glucagone) e il GIP (peptide insulinotropo glucosio-dipendente). Questi peptidi, rilasciati dal piccolo intestino in risposta al pasto, stimolano la secrezione di insulina e sono perciò noti con il termine di incretine (1). Nello stato post-prandiale la concentrazione in circolo dei due ormoni aumenta di 5-10 volte rispetto ai valori basali. Tuttavia, la quantità di peptidi circolanti è molto inferiore alla quantità secreta in quanto essi vengono rapidamente (pochi minuti) degradati nella stessa sede di produzione dall'enzima dipeptidil-peptidasi (DPP)-IV, un'aminopeptidasi prodotta dalle cellule intestinali e dalle cellule endoteliali che stacca da ogni peptide i due aminoacidi terminali, generando le forme inattive di GLP-1 e di GIP (1, 2).

Attraverso il legame con recettori specifici, il GLP-1 svolge importanti funzioni di regolazione metabolica: 1) stimolazione glucosio-dipendente della secrezione insulinica; 2) soppressione della secrezione del glucagone che si esplica sia attraverso un effetto diretto sulle α -cellule sia attraverso la stimolazione della secrezione di somatostatina; 3) aumento del senso di sazietà per azione a livello ipotalamico; 4) riduzione della secrezione acida e rallentamento dello svuotamento gastrico; 5) aumento della captazione di glucosio e della glicogenosintesi a livello di muscolo, fegato e tessuto adiposo (3). Anche il GIP è in grado di stimolare la secrezione insulinica e di ridurre la secrezione acida gastrica; tuttavia, a differenza del GLP-1, non sembra influenzare la secrezione delle cellule α -pancreatiche (2). Appare evidente, quindi, come l'integrità dell'asse entero-insulare sia di fondamentale importanza per il mantenimento di numerose funzioni metaboliche. Alterazioni della secrezione e/o dell'azione delle incre-

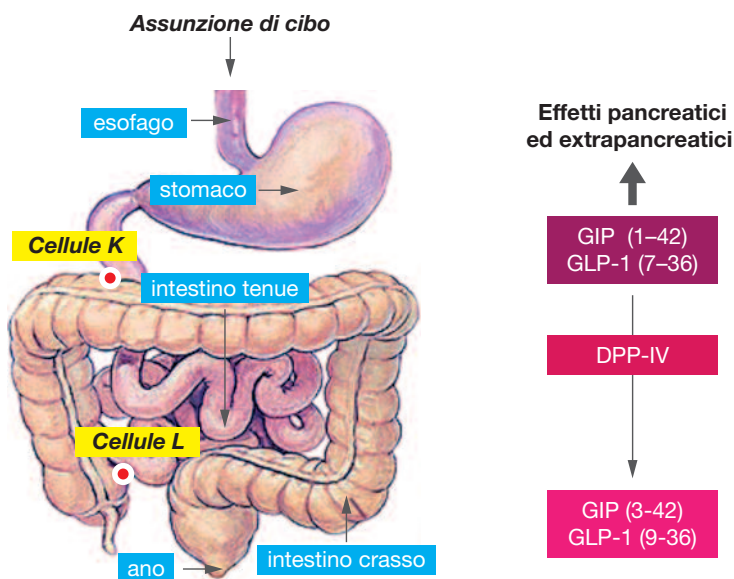
tine sono state documentate in condizioni patologiche, quali il diabete mellito tipo 2 e l'obesità (4, 5).

Il rilascio delle incretine è regolato principalmente dai nutrienti i quali, attraverso meccanismi diretti o indiretti, stimolano le cellule intestinali deputate alla sintesi di questi ormoni. L'impatto sulla secrezione entero-insulare è differente per i diversi macronutrienti: i carboidrati e i grassi stimolano il rilascio delle incretine in misura maggiore rispetto alle proteine (6). Anche le fibre e gli oligosaccaridi sono in grado di stimolare la secrezione delle incretine e, conseguentemente, la risposta insulinica; su questa base, pertanto, è stata avanzata l'ipotesi che la riduzione dell'iperglicemia post-prandiale indotta dalle fibre sia in parte dovuta alla loro capacità di stimolare il sistema incretinico (1). Queste osservazioni aprono nuove prospettive nella valutazione dei nutrienti e dei loro effetti sulla salute. La scelta di nutrienti in grado di stimolare maggiormente la produzione delle incretine, con i conseguenti benefici effetti sull'omeostasi glicemica, potrebbe avere ricadute positive sia sullo stato di salute di soggetti sani sia per la prevenzione/trattamento dell'obesità e del diabete. Di seguito saranno esaminati gli effetti dei diversi macronutrienti sulla secrezione degli entero-ormoni, privilegiando le evidenze disponibili nell'uomo e, laddove carenti, quelle nell'animale.

GLP-1

Il GLP-1 è un peptide di 37 aminoacidi sintetizzato e secreto dalle cellule L dell'ileo e del colon (Figura 1). Tali cellule esprimono sulla loro superficie numerosi recettori tra cui quelli per l'insulina, il peptide stimolante il rilascio di gastrina (GRP), la leptina, la somatostatina, la galanina, e la motilina, nonché recettori gustativi come la gustducina (7). Numerose sostanze, quali l'acetilcolina (attraverso i recettori muscarinici), il GIP,

Figura 1 **Asso enteroinsulare**

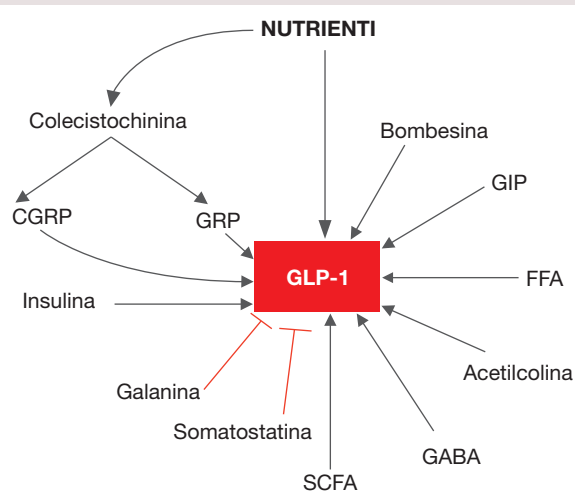


L'assunzione di un pasto stimola il rilascio di GIP a livello delle cellule K del duodeno, digiuno e ileo e di GLP-1 a livello delle cellule L dell'intestino tenue distale e del colon. I due peptidi hanno una emivita molto breve perché vengono rapidamente degradati dal DPP-IV, enzima presente in vari tessuti quali intestino ed endotelio capillare. Dall'azione del DPP-IV originano le forme inattive di GLP-1 e di GIP

l'insulina, la bombesina, l'acido γ -aminobutirrico (GABA), il GRP e gli acidi grassi liberi (FFA) stimolano la secrezione del GLP-1, mentre la somatostatina e la galanina la inibiscono (Figura 2). Tuttavia, il principa-

le stimolo alla secrezione di GLP-1 è rappresentato dal pasto. Il pattern di secrezione del GLP-1 in risposta all'assunzione dei nutrienti è tipicamente bifasico: a una fase di secrezione precoce entro 10-15 minuti dall'assunzione di cibo segue una fase tardiva evidenziabile dopo 60-90 minuti, con il ritorno ai valori basali dopo circa 180 minuti (8). Mentre la dinamica della secrezione tardiva del GLP-1 è facilmente riconducibile al contatto dei nutrienti con la superficie apicale delle cellule L, non è del tutto chiaro il meccanismo che sottende la secrezione precoce. Un'ipotesi molto accreditata è quella del *duodenal-ileal loop*, secondo la quale il passaggio del chimo nel duodeno stimola il rilascio da parte delle cellule K del GIP il quale, a sua volta, stimolerebbe la liberazione del GLP-1 mediante segnali neurali (9). È molto probabile che la trasmissione neurale sia mediata dal vago in quanto la vagotomia sottodiaframmatica abolisce la stimolazione del GLP-1 indotta dal GIP (10). Inoltre, in aggiunta al GIP, la presenza di chimo nel duodeno favorisce il rilascio di colecistochinina e di altre sostanze entero-endocrine, come il GRP e il peptide correlato al gene della calcitonina (CGRP), anch'essi capaci di stimolare la liberazione del GLP-1 (Figura 2) (11). Infine, è probabile che cellule GLP-1

Figura 2 **Fattori stimolanti e inibenti la secrezione del GLP-1**



CGRP = peptide correlato al gene della calcitonina; SCFA = acidi grassi a corta catena

secretrici siano presenti anche a livello duodenale o comunque nel primo tratto dell'intestino prossimale, come suggerito da Theodorakis et al. i quali hanno dimostrato la co-espressione di entrambe le incretine in campioni biotici di mucosa duodenale umana (12).

GIP

Il GIP è un peptide di 42 aminoacidi la cui isoforma attiva è generata a partire da un precursore di 153 aminoacidi. Il gene del GIP è espresso nelle cellule gastriche e nelle cellule K intestinali e, nei ratti, anche a livello delle ghiandole salivari sottomandibolari (13). Le cellule K sono prevalentemente localizzate nel duodeno, nel primo tratto del digiuno (Figura 1) e in piccola misura sono disseminate lungo tutto l'intestino tenue (14). Analogamente al GLP-1, anche il GIP è secreto in maniera bifasica in risposta all'ingestione di nutrienti, principalmente del glucosio.

Effetto dei nutrienti sulla secrezione delle incretine

I diversi nutrienti hanno un effetto differenziale sulla secrezione del GLP-1 e del GIP: gli zuccheri semplici, rapidamente assorbibili, attivano preferenzialmente la secrezione di GIP, mentre i carboidrati complessi - che necessitano di un più lungo processo digestivo - e i grassi stimolano prevalentemente la secrezione di GLP-1 (Tabella 1) (15). Anche le caratteristiche caloriche (4) e fisiche (16) del pasto influenzano la secrezione degli

ormoni entero-insulari, nel senso che pasti più ricchi in calorie inducono risposte significativamente maggiori dei due ormoni a causa della maggiore esposizione delle cellule L e K ai nutrienti (4). Inoltre, a parità di composizione chimica e potere nutritivo, pasti liquidi inducono risposte ormonali post-prandiali significativamente maggiori (70-80%) rispetto ai pasti solidi, probabilmente a causa di una maggiore distribuzione del pasto liquido e del suo più rapido assorbimento (16). Essendo il GLP-1 secreto in risposta all'*intake* energetico e regolando esso stesso l'introito calorico, è possibile che tale ormone possa contribuire a determinare differenze nel senso di sazietà tra i diversi macronutrienti.

Carboidrati semplici e incretine

La somministrazione di glucosio per via orale, ma non per via endovenosa, stimola la secrezione del GLP-1 (17) e questo spiega perché la risposta insulinica al carico orale di glucosio è maggiore rispetto a quella ottenuta mediante infusione di glucosio endovena a parità di incremento della glicemia (18). Tale differenza, nota con il termine di *effetto incretinico*, è ascrivibile alla stimolazione della secrezione insulinica indotta dall'aumentato rilascio del GLP-1 che consegue alla somministrazione del glucosio *per os*. Il contributo delle incretine alla secrezione insulinica indotta dal carico orale di glucosio è quantitativamente rilevante e ammonta al 60-70% della risposta insulinica totale (19). La risposta secretoria delle cellule L appare tanto maggiore quanto più cospicuo è il carico di glucosio (a un carico progressivamente maggiore di glucosio intra-duodenale fa seguito una incrementata secrezione dell'ormone) (20). Il meccanismo di secrezione del GLP-1 indotto dal glucosio presenta notevoli analogie con quello della secrezione insulinica: il glucosio penetra nella cellula L grazie all'intervento di un co-trasportatore glucosio-sodio e, attraverso la chiusura dei canali del potassio ATP-sensibili, induce una variazione del potenziale di membrana cui consegue il rilascio dell'incretina. Il glucosio risulta essere un secretagogo per il GLP-1 meno potente dei carboidrati complessi per via del suo rapido assorbimento nell'intestino prossimale (21). È interessante rilevare come l'acarbiosio, che ritarda l'assorbimento intestinale del glucosio, aumenta il rilascio di GLP-1 ed è molto probabile che questo meccanismo contribuisca alla riduzione dell'iperglicemia post-prandiale riscontrata con questo farmaco (22).

La risposta del GIP all'ingestione di glucosio è anch'essa di tipo bifasico ma più precoce rispetto a

Tabella 1 **Effetto dei diversi nutrienti sulla secrezione delle incretine**

Nutrienti	GLP-1	GIP
Carboidrati semplici	↑↑	↑↑↑
Carboidrati complessi	↑↑↑	↑↑
Fibre solubili fermentabili	↑↑↑	↓?
Fibre solubili non fermentabili	↔	↑?
Oligofruzzani	↑↑↑	?
Grassi monoinsaturi	↑↑	↑↑
Grassi saturi	↔	↔↓
Proteine	↑	↑↑

quella del GLP-1 (picco precoce dopo 5 minuti e successiva fase di secrezione dopo circa 45 minuti) per via della localizzazione anatomica più prossimale delle cellule K GIP-secerenti (8).

Fibre e incretine

Il ruolo delle fibre nella modulazione del GLP-1 è oggetto di un grande interesse sperimentale. Studi nei roditori hanno dimostrato che l'aggiunta a un carico orale di glucosio di fibre solubili e fermentabili dotate di maggiore viscosità, quali gomma, pectina, glucomannano e guar, stimola la risposta del GLP-1 in misura maggiore rispetto all'aggiunta di fibre insolubili, poco viscosi e non fermentabili, quali cellulosa, lignina e pentosani (23-25). Inoltre, l'assunzione delle fibre solubili per 2-5 settimane si associa a un aumentato livello dell'RNAm del proglucagone, a una maggiore proliferazione delle cellule della mucosa intestinale, a un incremento dei fattori di differenziazione delle cellule L e a un'aumentata produzione intestinale di acidi grassi a corta catena (SCFA), quali butirrato e propionato (25). Nell'uomo i dati relativi all'effetto acuto delle fibre sui livelli di GLP-1 non sono univoci. Confrontando le risposte post-prandiali del GLP-1 dopo pasti arricchiti con diversi tipi di fibre, Juntunen et al. (26) hanno osservato che l'aggiunta di fibre solubili e fermentabili (β -glucano) era in grado di aumentare significativamente il picco massimo dell'incrètina rispetto al pasto di controllo, mentre le fibre insolubili (segale) innalzavano scarsamente i livelli di GLP-1. Al contrario, Frost et al. non hanno rilevato alcuna sostanziale variazione delle concentrazioni post-prandiali di GLP-1 quando al pasto venivano aggiunte fibre solubili (*psyllium*) (27). Da notare, tuttavia, che in questo studio la quantità di fibra aggiunta al pasto era piuttosto modesta e probabilmente non sufficiente a stimolare adeguatamente il GLP-1 (27). Ancora più scarse sono le informazioni relative all'impatto del consumo di fibre per periodi più prolungati. In soggetti con reflusso gastroesofageo l'assunzione per 7 giorni di una dieta arricchita di oligofruttani si associava a un significativo aumento dei livelli post-prandiali di GLP-1 (28), a supporto delle osservazioni in acuto della capacità delle fibre solubili di stimolare il sistema delle incretine. Un effetto stimolante la secrezione di GLP-1 è stato dimostrato per altri prebiotici (lattulosio, lattilolo, inulina) in studi condotti su animali (29). Il meccanismo attraverso il quale fibre e prebiotici stimolano la liberazione delle incretine sembra risiedere nell'aumen-

tata produzione intestinale degli SCFA (il propionato, l'acetato e il butirrato). È importante qui ricordare che sulle cellule L sono stati identificati sia i recettori per gli SCFA sia quelli per gli oligofruttani (30) e che tali recettori sono associati al sistema delle *G-proteins* (31). Inoltre, è stato osservato nel ratto che la somministrazione enterale di butirrato induce un'aumentata espressione del gene del proglucagone in maniera dose-dipendente (32) e un incremento delle concentrazioni plasmatiche di GLP-1 (30, 32). Non si può escludere, infine, che dalla fermentazione batterica delle fibre originino sostanze non ancora identificate in grado di inibire l'attività dell'enzima DPP-IV, deputato alla degradazione del GLP-1.

L'effetto delle fibre alimentari sui livelli di GIP è stato molto poco esplorato. Alcuni studi degli anni '70 hanno dimostrato che l'aggiunta al pasto di fibre solubili (guar) ridurrebbe la risposta post-prandiale di GIP in soggetti sani (33) mentre le fibre insolubili potenzerebbero la secrezione precoce dell'ormone (34). Tuttavia, lo scarso numero di soggetti studiati e l'ampia variabilità dei metodi di dosaggio delle incretine non consentono di trarre conclusioni certe.

Grassi e incretine

La somministrazione di pasti grassi stimola la secrezione di GLP-1 in modo piuttosto rapido (entro 30 minuti circa) suggerendo, analogamente a quanto ipotizzato per il glucosio, l'intervento di meccanismi neurali attivati ancor prima che i nutrienti entrino in contatto con la mucosa intestinale. Gli acidi grassi monoinsaturi, ma non quelli saturi, stimolano la secrezione del GLP-1, come evidenziato da uno studio in volontari sani in cui l'aggiunta al pasto di olio d'oliva aumentava la secrezione di GLP-1 in misura maggiore rispetto all'aggiunta di burro (35). Questo effetto differenziale dei grassi è stato confermato anche in studi su roditori con insulino-resistenza in cui la somministrazione di acidi grassi monoinsaturi con catena > 14 atomi di carbonio (es. acido oleico) si associava a un'aumentata secrezione dell'incrètina e al miglioramento del compenso glicemico (36). Inoltre, gli acidi grassi insaturi sono in grado di potenziare la secrezione di GLP-1 indotta da altri nutrienti, particolarmente quando la loro assunzione precede quella dei carboidrati a causa del ritardato svuotamento gastrico indotto dalla somministrazione anticipata dei grassi (37). La ragione per la quale i diversi tipi di grassi hanno un differente impatto sul sistema incretinico non è chiara. È noto che gli acidi

grassi penetrano nelle cellule L attraverso uno specifico trasportatore e stimolano la secrezione dell'incrina mediante l'attivazione di una isoforma atipica di protein-chinasi C (PKC)- ζ (36). L'ipotesi è che questa isoforma di PKC sia attivata preferenzialmente dagli acidi monoinsaturi rispetto ai saturi (36); un'altra possibilità è che gli acidi grassi monoinsaturi (segnatamente l'acido oleico) aumentino la sensibilità delle cellule L all'azione stimolante del GIP attraverso l'incremento di una specifica proteina di membrana (*intestinal fatty acid binding protein*, I-FABP) (36).

Per quanto riguarda il GIP, recenti studi nel ratto hanno dimostrato che una dieta ricca in grassi saturi aumenta l'apoptosi degli enterociti duodenali riducendo le concentrazioni dell'ormone; tale condizione era associata a ipoinsulinemia e iperglicemia (38). I dati nell'uomo sono molto scarsi e non sembrano confermare per il GIP l'effetto differenziale dei grassi saturi e insaturi osservato per il GLP-1 (35).

Proteine e incretine

L'effetto delle proteine della dieta sulla secrezione incretinica è stato molto poco indagato. Certamente l'azione stimolante delle proteine sul GLP-1 è inferiore a quella degli altri nutrienti, il picco di secrezione è più tardivo così come più lento è il ritorno ai valori basali (8). Più marcata, invece, è la secrezione di GIP dopo pasti proteici (39, 40). L'ipotesi è che i peptoni derivanti dalla digestione delle proteine inibirebbero l'attività dell'enzima DPP-IV nell'intestino prossimale, sito predominante di sintesi del GIP, in misura maggiore che nell'intestino distale, sito di secrezione del GLP-1. Tale effetto selettivo degli aminoacidi/peptoni nell'intestino prossimale ridurrebbe, quindi, esclusivamente la degradazione del GIP, con conseguente aumento dei livelli circolanti (40, 41). Non è stata riscontrata nessuna differenza tra proteine di origine animale e vegetale (6).

Conclusioni

I dati fin qui disponibili indicano che i grassi e i carboidrati stimolano la produzione delle incretine in misura maggiore rispetto alle proteine. Meno chiaro è l'impatto che i diversi tipi di fibre e i differenti tipi di grassi alimentari esercitano sul sistema delle incretine.

Le fibre solubili e nell'ambito dei grassi quelli monoinsaturi risultano essere i principali attivatori della liberazione del GLP-1. Tuttavia, la maggior parte

degli studi condotti nell'uomo ha valutato l'effetto acuto dei diversi nutrienti sull'asse entero-insulare, mentre molto limitate sono le informazioni sull'effetto di modulazione "in cronico". È questa un'area di ricerca di grande importanza anche per le potenziali implicazioni cliniche. La conoscenza approfondita degli effetti e dei meccanismi attraverso cui i diversi nutrienti stimolano il sistema delle incretine è la premessa per poter sviluppare la ricerca nel campo delle tecnologie alimentari con l'obiettivo di disporre di sostanze (nutraceutici, alimenti funzionali) capaci di potenziare la secrezione degli entero-ormoni con ricadute favorevoli sull'omeostasi glicemica post-prandiale sia dei soggetti sani sia dei soggetti con malattie metaboliche.

Bibliografia

1. Burcelin R. The incretins: A link between nutrients and well-being. *Br J Nutr* 93 (Suppl. 1): S147-156, 2005.
2. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132: 2131-2157, 2007.
3. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 87: 1409-1439, 2007.
4. Vilsboll T, Krarup T, Sonne J, et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2706-2713, 2003.
5. Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF, et al. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagons-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 50: 609-613, 2001.
6. Bowen J, Noakes M, Clifton PM. Appetite regulatory hormone responses to various dietary proteins differ by body mass index status despite similar reductions in ad libitum energy intake. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 2913-2919, 2006.
7. Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagons-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 15069-15074, 2007.
8. Hermann C, Goke R, Richter G, et al. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrient. *Digestion* 56: 117-126, 1995.
9. Roberge JN, Brubaker PL. Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop. *Endocrinology* 133: 233-240, 1993.
10. Rocca AS, Brubaker PL. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagons-like peptide-1 secretion. *Endocrinology* 140: 1687-1694, 1999.
11. Hansen L, Holst JJ. The effects of duodenal peptides on glucagon-like peptide-1 secretion from the ileum. A duodeno-ileal loop? *Regul Pept* 110: 39-45, 2002.
12. Theodorakis MJ, Carlson O, Michopoulos S, et al. Human duodenal enteroendocrine cells: Source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E550-E559, 2006.

13. Tseng CC, Boylan MO, Jarboe LA, et al. Glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) gene expression in the rat salivary gland. *Mol Cell Endocrinol* 115: 13–19, 1995.
14. Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ, Orskov C. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. *Regul Pept* 114: 189–196, 2003.
15. Vilsbøll T, Holst JJ. Incretins, insulin secretion and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 47: 357–366, 2004.
16. Brynes AE, Frost GS, Edwards CM, et al. Plasma glucagon-like peptide-1 (7-36) amide (GLP-1) response to liquid phase, solid phase, and meals of differing lipid composition. *Nutrition* 14: 433–436, 1998.
17. Unger RH, Ohneda A, Valverde I, et al. Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. *J Clin Invest* 47: 48–65, 1968.
18. Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, et al. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab* 63: 492–498, 1986.
19. Holst JJ, Gromada J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E199–E206, 2004.
20. Pilichiewicz AN, Chaikomin R, Brennan IM, et al. Load-dependent effects of duodenal glucose on glycemia, gastrointestinal hormones, antropyloroduodenal motility, and energy intake in healthy men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E743–E753, 2007.
21. Lim GE, Brubaker PL. Glucagon-like peptide 1 secretion by the L-cell. *Diabetes* 55 (Suppl. 2): S70–S77, 2006.
22. Qualmann C, Nauck MA, Holst JJ, et al. Glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) secretion in response to luminal sucrose from the upper and lower gut. A study using alpha-glucosidase inhibition (acarbose). *Scand J Gastroenterol* 30: 892–896, 1995.
23. Delmée E, Cani PD, Gual G, et al. Relation between colonic proglucagon expression and metabolic response to oligofructose in high fat diet-fed mice. *Life Sci* 79: 1007–1013, 2006.
24. Cani PD, Hoste S, Guiot Y, Delzenne NM. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *Br J Nutr* 98: 32–37, 2007.
25. Delzenne NM, Cani PD, Neyrinck AM. Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: Experimental data. *J Nutr* 137 (Suppl. 11): 2547S–2551S, 2007.
26. Juntunen KS, Niskanen LK, Liukkonen KH, et al. Postprandial glucose, insulin, and incretin responses to grain products in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 75: 254–262, 2002.
27. Frost GS, Brynes AE, Dhillon WS, et al. The effects of fiber enrichment of pasta and fat content on gastric emptying, GLP-1, glucose, and insulin responses to a meal. *Eur J Clin Nutr* 57: 293–298, 2003.
28. Piche T, des Varannes SB, Sacher-Huvelin S, et al. Colonic fermentation influences lower esophageal sphincter function in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 124: 894–902, 2003.
29. Gee JM, Lee-Finglas W, Wortley GW, Johnson IT. Fermentable carbohydrates elevate plasma enteroglucagon but high viscosity is also necessary to stimulate small bowel mucosal cell proliferation in rats. *J Nutr* 126: 373–379, 1996.
30. Karaki S, Mitsui R, Hayashi H, et al. Short-chain fatty acid receptor, GPR43, is expressed by enteroendocrine cells and mucosal mast cells in rat intestine. *Cell Tissue Res* 324: 353–360, 2006.
31. Karaki S, Tazoe H, Hayashi H, et al. Expression of the short-chain fatty acid receptor, GPR43, in the human colon. *J Mol Histol* 39: 135–142, 2008.
32. Keenan MJ, Zhou J, McCutcheon KL, et al. Effects of resistant starch, a non-digestible fermentable fiber, on reducing body fat. *Obesity (Silver Spring)* 14:1523–1534, 2006.
33. Morgan LM, Goulder TJ, Tsiolakis D, et al. The effect of unabsorbable carbohydrate on gut hormones. Modification of postprandial GIP secretion by guar. *Diabetologia* 17: 85–89, 1979.
34. Weickert MO, Mohlig M, Koebnick C, et al. Impact of cereal fibre on glucose-regulating factors. *Diabetologia* 48: 2343–2353, 2005.
35. Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 69: 1135–1143, 1999.
36. Rocca AS, LaGreca J, Kalitsky J, Brubaker PL. Monounsaturated fatty acid diets improve glycemic tolerance through increased secretion of glucagon-like peptide-1. *Endocrinology* 142: 1148–1155, 2001.
37. Gentilcore D, Chaikomin R, Jones KL, et al. Effects of fat on gastric emptying of and the glycemic, insulin, and incretin responses to a carbohydrate meal in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 2062–2067, 2006.
38. Gniuli D, Dalla Libera L, Caristo ME, et al. High saturated-fat diet induces apoptosis in rat enterocytes and blunts GIP and insulin-secretive response to oral glucose load. *Int J Obes (Lond)* 32: 871–874, 2008.
39. Frid AH, Nilsson M, Holst JJ, Björck IM. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. *Am J Clin Nutr* 82: 69–75, 2005.
40. Karamanlis A, Chaikomin R, Doran S, et al. Effects of protein on glycemic and incretin responses and gastric emptying after oral glucose in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 86: 1364–1368, 2007.
41. Gunnarsson PT, Winzell MS, Deacon CF, et al. Glucose-induced incretin hormone release and inactivation are differently modulated by oral fat and protein in mice. *Endocrinology* 147: 3171–3172, 2006.

