



HAL
open science

Le fractionnement alimentaire : une stratégie pour mieux contrôler son appétit ? : quels impacts sur la balance énergétique ? : approche physiologique et développement d'une méthodologie d'étude expérimentale du comportement alimentaire en situation écologique de restauration

Xavier Alliot

► **To cite this version:**

Xavier Alliot. Le fractionnement alimentaire : une stratégie pour mieux contrôler son appétit ? : quels impacts sur la balance énergétique ? : approche physiologique et développement d'une méthodologie d'étude expérimentale du comportement alimentaire en situation écologique de restauration. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2012. Français. NNT : 2012LYO10242 . tel-01124293

HAL Id: tel-01124293

<https://theses.hal.science/tel-01124293>

Submitted on 6 Mar 2015

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.

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 22 Novembre 2012

par

Xavier ALLIROT

Le fractionnement alimentaire : une stratégie pour mieux contrôler son appétit ? Quels impacts sur la balance énergétique ?

**Approche physiologique et développement d'une méthodologie d'étude expérimentale du
comportement alimentaire en situation écologique de restauration.**

Directeur de thèse : Pr. Martine LAVILLE

JURY :

Dr. Catherine ROUBY	<i>Université de Lyon</i>	Présidente
Pr. Adam DREWNOWSKI	<i>Université de Washington (USA)</i>	Rapporteur
Pr. Jean-Michel LECERF	<i>Institut Pasteur de Lille</i>	Rapporteur
Dr. Agnès MARSSET-BAGLIERI	<i>Agro Paris Tech</i>	Examineur
Dr. Laure SAULAIS	<i>Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse</i>	Co-encadrante
Pr. Martine LAVILLE	<i>Université de Lyon</i>	Directrice de thèse

Résumé

Fractionner son alimentation consiste à augmenter la fréquence de ses prises alimentaires, sans modifier la quantité totale d'énergie ingérée. Dans ce travail de thèse, nous avons étudié les effets du fractionnement alimentaire sur l'appétit et la balance énergétique chez des sujets de poids normal et obèses.

Le premier objectif était d'ordre méthodologique : nous avons proposé et validé un dispositif original d'étude de l'appétit, basé sur la duplication du même protocole dans deux lieux de recherche différents et sur l'utilisation d'un restaurant expérimental, en reproduisant une situation écologique de repas. Ce dispositif permet de répondre à deux enjeux méthodologiques. D'une part, il permet une approche intégrée de l'appétit, grâce à l'association de mesures subjectives (sensations de faim et de satiété), physiologiques (biomarqueurs de l'appétit : ghréline et GLP-1) et comportementales (consommations, choix et rythmes alimentaires). D'autre part, le caractère écologique de la situation de repas proposée assure une bonne validité externe des résultats. Le second objectif était d'étudier, grâce à cette méthodologie, les conséquences à court terme du fractionnement alimentaire sur les sensations de faim, les hormones qui régulent l'appétit, le comportement au cours du repas qui suit le fractionnement, ainsi que sur les orientations métaboliques. Chez des sujets de poids normal, les approches subjectives, physiologiques et comportementales ont toutes montré une diminution de l'appétit en réponse au fractionnement. En revanche, nous n'avons pas obtenu les mêmes bénéfices comportementaux chez les obèses, chez qui le fractionnement n'a pas induit de baisse des apports énergétiques au cours du repas suivant. Sur le plan métabolique, nous avons montré les mêmes effets dans les deux populations, à savoir une insulïnémie maintenue au-dessus de son niveau basal, entraînant une inhibition prolongée de la lipolyse, elle-même caractérisée par une baisse des concentrations plasmatiques en acides gras non estérifiés. Le fractionnement a également entraîné une diminution de la dépense énergétique via la thermogénèse alimentaire.

Ce travail met en évidence les bénéfices possibles du fractionnement alimentaire chez les personnes de poids normal pour mieux contrôler leur appétit. En revanche, cette stratégie ne semble pas adaptée pour des personnes obèses. Les effets sur la dépense énergétique et les orientations métaboliques, potentiellement négatifs, doivent être étudiés sur de plus longues périodes.

Mots clés : *fréquence des repas, contrôle de l'appétit, satiété, prise alimentaire, comportement alimentaire, balance énergétique, ghréline, métabolisme, obésité.*

Abstract

This thesis project consists in studying the effects of eating smaller more frequent meals, with no change in energy intake, on appetite and energy balance in normal weight and obese subjects.

The first objective was methodological: we proposed and validated an original methodology for studying appetite, based on the duplication of the same protocol in two different research centers, and the use of an experimental restaurant, reproducing an ecological meal situation. This methodology enables to answer two methodological issues. Firstly, it allows an integrated approach of appetite, associating subjective (hunger and satiety feelings), physiological (biomarkers of appetite: ghrelin and GLP-1) and behavioral (food intake, choices and eating rhythms) measurements. Secondly, the ecological character of the eating situation we proposed, ensure a good external validity of the results.

The second objective was to assess, thanks to this methodology, the short term consequences of eating smaller more frequent meals on subjective appetite, on hormones that regulates appetite, on eating behaviors during the subsequent meal, and on metabolic orientations. In normal weight subjects, subjective, physiological and behavioral approaches showed a decrease in appetite after eating smaller more frequent meals, while in obese subjects we did not obtain the same beneficial behaviors: obese subjects did not consume less energy during the subsequent meal. Metabolic results showed the same effects in both normal weight and obese subjects: insulin concentrations were maintained above their basal level, leading to an extended inhibition of lipolysis, characterized by a decrease in plasmatic concentrations of non-esterified fatty acids. Eating smaller more frequent meals also decreased energy expenditure via diet induced thermogenesis.

This work highlights the fact that eating smaller more frequent meals may be beneficial in normal weight individuals in order to better control appetite, but it does not seem to be an adequate strategy in obese individuals. The effects on energy expenditure and metabolic orientations, potentially negative, should be studied over a longer period.

Keywords: *eating frequency, appetite control, satiety, food intake, eating behavior, energy balance, ghrelin, metabolism, obesity.*

Laboratoires

- ▶ Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, BP25 69131 Ecully
- ▶ Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, 165 chemin du Grand Revoyet 69310 Pierre Bénite

« C'est toujours par la faim que commence un bon repas. »

Jean Louis Auguste Commerson

Remerciements

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

Je tiens à remercier de tout cœur Martine Laville et Agnès Giboreau pour m'avoir fait confiance et offert l'opportunité de réaliser cette thèse. Merci Martine pour votre accompagnement tout au long de ces trois années, autant sur le plan scientifique que personnel. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler sous votre supervision ; mon expérience à vos côtés me sera, j'en suis sûr, hautement profitable pour toute la suite de ma carrière. Merci Agnès pour ces trois riches années passées à l'Institut à tes côtés. Quand je me remémore les moments où je t'ai écrit ce premier courrier en février 2009 et que nous nous sommes rencontrés quelques semaines plus tard, j'étais loin d'imaginer, à l'époque, à quel point ces événements allaient modifier ma vie. Encore merci à vous deux pour votre enthousiasme communicatif.

Merci à la Fondation Nestlé France, à tous ses membres et en particulier au comité d'experts, d'avoir œuvré au financement de mon projet de thèse. Je tiens tout particulièrement à remercier Jean-Pierre Poulain qui préside ce comité et avec qui j'apprécie toujours d'échanger au détour de chacune de nos rencontres. Je remercie également Pierre Combris, Claude Fischler, Alexandre Voirin et Patrick Serog, autres membres du comité d'experts, pour nos rencontres et discussions toujours très agréables.

Merci aux Thermes de Brides-les-Bains pour avoir participé au financement de ce projet. Je remercie en particulier Jean-Michel Lecerf pour son enthousiasme face à mon projet et pour son accueil à Brides-les-Bains.

Merci à Hubert Vidal, pour son accueil au sein du laboratoire CarMeN, ainsi qu'à Brigitte Roux pour son aide et sa gentillesse.

Merci Laure pour tout ce que tu m'as apporté pendant ces trois ans. Etre à ton contact m'a été d'un très grand bénéfice sur le plan scientifique. Les longues heures passées à travailler ensemble sur les articles m'ont énormément apporté. J'ai par ailleurs toujours eu plaisir à échanger avec toi et travailler à tes côtés, merci pour tout cela.

Merci Catherine d'avoir accepté de présider mon jury de thèse, ainsi que pour la justesse de tes conseils à chacune de nos rencontres au cours de ces trois ans.

Merci Julie-Anne et Emmanuel. Vous êtes à l'origine de ce projet de recherche ; c'est donc aussi grâce à vous si cette aventure a commencé pour moi, et pour cela je tenais à vous exprimer ma reconnaissance.

Ce projet de thèse ne serait pas ce qu'il est devenu aujourd'hui sans l'aide de Camille C., Julia et Kevin qui ont tous les trois, chacun à leur tour, travaillé sur le projet SAFRAN dans le cadre de leur stage. Merci Camille pour l'aide et le soutien que tu m'as apportés lors des premières expés dans la cuisine et le restaurant du Centre de Recherche. Merci Julia pour ton aide sans faille pendant une année entière, tant au CRNH qu'à l'Institut. Enfin, merci infiniment à toi Kevin pour ton énorme investissement dans ce projet et pour tes compétences hors-pair. Je te souhaite toute la réussite que tu mérites pour ta thèse et la suite de ta carrière de chercheur.

Merci à toutes les autres personnes qui m'ont aidé tout au long du projet, à l'Institut Paul Bocuse. Merci Rémy d'avoir toujours été là quand j'avais besoin de tes services. Ton aide a vraiment été très précieuse. Tu trouves la solution à tous nos problèmes techniques et réalise toujours un travail impeccable ; merci pour tout ça. Merci au Chef Ogheard pour m'avoir appris à (presque) devenir un chef cuisinier, vous avez grandement contribué au bon déroulement de toutes mes expérimentations à l'Institut. Merci à Yves et Christophe pour m'avoir toujours approvisionné en temps et en heure, et dans la bonne humeur ! Merci Alain pour ta patience et ton aide dans la mise en place du restaurant.

Merci également à toutes les actrices du parfait fonctionnement des expérimentations SAFRAN au CRNH. Merci Stéphanie pour ton aide sans faille dans le marathon que représente l'obtention des autorisations de recherche. Merci Jocelyne, Christine et Naura d'avoir aussi bien géré l'ensemble des protocoles SAFRAN au CRNH et à l'Institut ; je suis impressionné par l'application et la rigueur dont vous faites preuve dans tous les protocoles d'étude. Merci Christine pour tes Excel-ents conseils informatiques. Merci à Monique, Sylvie, Zohra et Nathalie, vous avez été parfaites dans tout ce que vous avez fait pour moi. En particulier, je te remercie Sylvie, pour tes relectures impitoyables !

Un grand merci à toi Hubert, pour ton aide statistique de chaque instant, pour le temps que tu as pris à te déplacer, téléphoner, débattre, expliquer, faire, refaire, corriger et réexpliquer ! J'ai beaucoup

appris à ton contact. Merci aussi à Julien et Romain pour les coups de main et les explications statistiques complémentaires.

Etre doctorant à l'Institut Paul Bocuse ne serait pas aussi riche sans les autres doctorants de l'open-space : Giada, Pauline, Clémentine, Philomène, David, Stéphane et plus récemment Virginie, Carole, Nathalie et Laura. J'associe également Estelle, Caroline, Olivier et Camille S. à ces remerciements. Cela a vraiment été une chance pour moi d'être à vos côtés pendant ces trois années. L'ambiance au travail compte pour moi tout autant que le contenu même de ma mission, et vous avez toutes et tous contribué à faire de cette expérience professionnelle, une très belle expérience humaine. Merci à vous.

Les moments passés au CRNH ou en congrès avec Emilie, Cécile, Maud, Nadir, Elodie, Cyrielle resteront aussi tous gravés comme d'excellents souvenirs. Merci pour ces riches échanges, et merci à chacune et chacun d'entre vous pour votre humour qui a grandement contribué au fait que je me sois toujours senti très bien au CRNH.

Merci à Anne Charrié, Joëlle Goudable et Jocelyne Draï pour l'excellente collaboration scientifique que nous avons eu au cours de ces trois ans de thèse.

Un grand merci à Jeff Brunstrom pour son accueil dans la 'Nutrition and Behaviour Unit' à Bristol. Ces trois mois en Angleterre ont grandement enrichi mes cultures scientifique et personnelle. Merci aussi aux autres membres de l'équipe de Bristol et en particulier à Greg pour tous les bons moments passés ensemble, au labo, en congrès ou à vélo.

Merci à Socorro Villanueva Rodriguez, Patrick Boittin, Patrick Pasquet et François Favier pour les belles expériences professionnelles que j'ai eu avec vous et qui m'ont conduit à faire cette thèse.

Merci à tous mes amis... pour leur amitié !

Merci à mes parents, ma sœur Delphine et toute ma famille.

Merci Ana, Maïa et Félicie pour votre joie de vivre et pour avoir réussi à me faire oublier ma thèse (presque) tous les soirs en rentrant à la maison.

Merci Julie de savoir transformer les utopies en réalité.

Avant-propos

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit a été réalisé dans le cadre d'une collaboration entre le Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse et le Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes (CRNH), en lien avec le laboratoire CarMeN (Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition); l'ensemble de ces structures étant regroupées au sein du Centre Européen pour la Nutrition et la Santé (CENS) situé à Lyon.



École de Management
Hôtellerie
Restauration
& Arts Culinaires

CENTRE
DE
RECHERCHE



Ce projet a été réalisé entre septembre 2009 et août 2012 grâce aux soutiens financiers :

- de la **Fondation Nestlé France** ; nous avons en effet bénéficié de deux financements, en 2009 et 2011, dans le cadre des appels à soutien de projets de recherche de la Fondation Nestlé France,
- des **Thermes de Brides-les-Bains**, par l'obtention du prix de projets de recherche 2011 des Thermes de Brides-Les-Bains,
- des **Hospices Civils de Lyon**, par le financement des dosages biologiques réalisés au cours du projet.



Au cours de ma thèse, j'ai par ailleurs été soutenu par la subvention CMIRA Explora'doc 2011 de la Région Rhône-Alpes, **Rhône-Alpes** ce qui m'a permis d'effectuer un séjour d'une durée de trois mois à l'Université de Bristol (School of Experimental Psychology, Nutrition and Behaviour Unit, University of Bristol, UK).

Valorisation du travail de thèse

➡ Communications écrites dans des revues à comité de lecture (parues, soumises et en préparation)

Allirot X, Seyssel K, Saulais L, Roth H, Charrié A, Draï J, Goudable J, Blond E, Disse E, Laville M. Eating smaller and frequent meals do not reduce energy intake in obese men. *En préparation*.

Allirot X, Saulais L, Seyssel K, Graeppi-Dulac J, Roth H, Charrié A, Draï J, Goudable J, Blond E, Disse E, Laville M. Increasing eating frequency contributes to a better control of appetite in lean men. *Physiology & Behavior*, (en révision).

Allirot X, Saulais L, Disse E, Roth H, Cazal C, Laville M. Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant. *Appetite*, 2012; 58:889-897.

Allirot X, Saulais L, Disse E, Nazare JA, Cazal C, Laville M. Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety. *Food Quality and Preference*, 2011, doi:10.1016/j.foodqual.2011.05.005.

➡ Communications orales

Allirot X, Graeppi-Dulac J, Saulais L, Disse E, Roth H, Seyssel K, Laville M. Increasing eating frequency: effects on appetite control and metabolism. *19th European Congress on Obesity*, Lyon (France), 9-12 mai 2012.

Allirot X, Laville M. Effects of increasing eating frequency on appetite control: behavioural and physiological aspects. *36th meeting of the British Feeding and Drinking Group*, Brighton (Angleterre), 29-30 mars 2012.

Allirot X, Graeppi-Dulac J, Saulais L, Disse E, Roth H, Laville M. Fractionnement alimentaire, satiété et métabolisme. *9^{èmes} Journées Francophones de Nutrition*, Reims (France), 7-9 décembre 2011.

Allirot X, Validation d'un buffet test en restaurant expérimental. *16^{ème} journée scientifique de l'EDISS*, Lyon (France), 24 mars 2011.

Allirot X. The multiplication of eating occasions: a balance between pleasure and weight control? *1st PhD Workshop of Institut Paul Bocuse Research Center*, Ecully (France), 7-9 juillet 2010.

Allirot X. Behavioral and metabolic measures: a combined approach to study eating patterns. *3rd International Research Symposium of Institut Paul Bocuse Research Center*, Ecully (France), 4 juin 2010.

➡ [Conférences invitées](#)

Allirot X, Laville M. Effect of increasing eating frequency on appetite control and metabolism in normal-weight and obese subjects. *Symposium scientifique Nestlé - 19th European Congress on Obesity*, Lyon (France), 10 mai 2012.

Allirot X. Should we eat smaller and more frequent meals for better appetite control and weight management? *Séminaire du Centre de Recherche Nestlé*, Lausanne (Suisse), 13 avril 2012.

Allirot X, Methodological improvement in satiety research: behavioral validation and use of a buffet-test meal in an experimental restaurant. *Séminaire du Centre de Recherche Nestlé*, Lausanne (Suisse), 20 juillet 2011.

Allirot X, Laville M, Satiété, fréquence des repas et aspects nutritionnels. *Journée de lancement de l'appel à projet de recherche 2011-2012 de la Fondation Nestlé France*, Paris (France), 3 février 2011.

➡ [Communications affichées](#)

Allirot X, Graeppi-Dulac J, Saulais L, Disse E, Roth H, Laville M. Impact de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur le contrôle de l'appétit et les paramètres métaboliques. *Congrès de la Société Francophone du Diabète*, Nice (France), 20-23 mars 2012 (cf. Annexe 5).

Allirot X, Saulais L, Disse E, Roth H, Casal C, Laville M. Towards more realism in the assessment of food intake: validation of a natural buffet test meal. *18th European Congress on Obesity*, Istanbul (Turquie), 25-28 Mai 2011 (cf. Annexe 4).

Liste des abréviations

Abréviation	Signification	Traduction anglaise (si nécessaire)	Abréviation équivalente (dans les articles en Anglais)
%MG	pourcentage de masse grasse		
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (désormais ANSES)		
AGNE	acides gras non estérifiés	non esterified fatty acid	NEFA
AgRP	agouti related protein		
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ex-AFSSA)		
ASC	aire sous la courbe	area under the curve	AUC
BFDG	British Feeding and Drinking Group		
CART	cocaïne and amphetamine regulated transcript		
CCK	cholécystokinine		
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique		
CR	coefficient de répétabilité	coefficient of repeatability	
CRNH	Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes		
CV	coefficient de variation	coefficient of variation	
DEBQ	Dutch eating behavior questionnaire		
DER	besoins journaliers recommandés	daily energy requirement	
DIT	thermogénèse alimentaire	diet induced thermogenesis	
ECM	contenu énergétique du repas	energy content of the meal	
ED	densité énergétique	energy density	
EDTA	acide éthylène diamine tétraacétique		
EE	dépense énergétique	energy expenditure	
ELISA	enzyme linked immuno sorbent assay		
EVA	échelle visuelle analogique	visual analogue scale	VAS
GLP-1	glucagon like peptide - 1		
HDL	high density lipoprotein		
HED	haute densité énergétique	high energy density	
IAUC	aire sous la courbe incrémentale	incremental area under the curve	
ICC	coefficient de corrélation intraclasse	intraclass correlation coefficient	
IMC	indice de masse corporelle	body mass index	BMI
IPB	Institut Paul Bocuse		
LDL	low density lipoprotein		
LED	faible densité énergétique	low energy density	
MG	matière grasse		
MSH	melanocyte stimulating hormone		
NPY	neuropeptide Y		
POMC	pro-opio-mélanocortine		
PPMR	dépense énergétique post-prandiale	post prandial metabolic rate	

Liste des abréviations

PYY	peptide YY		
QR	quotient respiratoire	respiratory quotient	RQ
QRNP	quotient respiratoire non protéique	non protein respiratory quotient	NPRQ
RMR	métabolisme de repos	resting metabolic rate	
SAFRAN	SATIété FRéquence des repas et Aspects Nutritionnels		
SD	déviatiion standard	standard deviation	
SEM	erreur standard à la moyenne	standard error of the mean	
TFEQ	Three-factor eating questionnaire		
TG	triglycéride		
TH	tour de hanche		
TT	tour de taille		
UEM	universal eating monitor		
VCO ₂	Volume de dioxyde de carbone (produit)		
VO ₂	Volume d'oxygène (consommé)		

Table des matières

Remerciements	4
Avant-propos	7
Valorisation du travail de thèse	8
Liste des abréviations	10
Table des matières	12

Introduction générale	15
------------------------------------	----

PARTIE A - Synthèse bibliographique et problématique	23
---	----

Chapitre 1 : L'appétit, comment le définir ? Comment est-il régulé et modulé ?	23
---	----

1.1 Appétit, faim, satiété, rassasiement : évolution et définition des concepts	24
---	----

1.2 Pourquoi s'intéresse-t-on à l'appétit ? Son rôle dans la balance énergétique.....	27
---	----

1.2.1 La dépense énergétique : ses différentes composantes.....	27
---	----

1.2.2 Les apports énergétiques : rôles de la satiété et du rassasiement	28
---	----

1.3 Comment l'appétit est-il physiologiquement régulé ?	29
---	----

1.3.1 La distension gastrique : un premier phénomène mécanique qui régule le rassasiement	31
---	----

1.3.2 Rôle des hormones et peptides entéro-digestifs dans l'inhibition à court terme de la prise alimentaire	31
--	----

1.3.3 La ghréline, une hormone à part dans la régulation de l'appétit	33
---	----

1.3.4 Insuline et leptine, des hormones impliquées dans la régulation à long terme	35
--	----

1.3.5 Intégration de tous ces signaux au niveau du cerveau	37
--	----

1.4 Quels facteurs sont susceptibles de moduler la régulation physiologique de l'appétit ?	38
--	----

1.4.1 Les facteurs intrinsèques aux aliments	39
--	----

1.4.2 Les facteurs liés à l'individu	41
--	----

1.4.3 Les facteurs liés à l'environnement	45
---	----

1.5 Bilan et implications méthodologiques : dans quel contexte doit-on étudier l'appétit ?	51
--	----

Chapitre 2 : Fréquence des prises alimentaires, quels effets sur l'appétit et la balance énergétique ?	56
---	----

2.1 Repas, snacking, grignotage,... de quoi parle-t-on ?	57
--	----

2.1.1 Repas et déstructuration des repas	57
--	----

2.1.2	Snacking et grignotage ; quelles définitions ?.....	58
2.2	Les études chez l'animal	59
2.3	Que nous apprend l'approche épidémiologique ?	61
2.3.1	Une relation inverse entre fréquence des prises alimentaires et IMC ?	62
2.3.2	Biais méthodologiques des études épidémiologiques transversales	65
2.4	Les études d'intervention	66
2.4.1	Quels effets sur le poids, la composition corporelle, la dépense énergétique et les autres paramètres physiologiques ?	67
2.4.2	Etudes d'intervention et appétit.....	69
2.4.3	Limites des études d'intervention	71
2.5	L'étude expérimentale de la fréquence des prises alimentaires.....	72
2.5.1	Paramètres métaboliques.....	73
2.5.2	Paramètres liés à l'appétit	76
2.6	Bilan : un besoin d'études contrôlées sur les liens entre fréquence des prises alimentaires et santé.....	82
Chapitre 3 : Problématique et objectifs		84
 PARTIE B - Propositions et validations méthodologiques		88
 Chapitre 4 : Proposition d'une méthodologie originale d'étude de l'appétit		88
4.1	Introduction	89
4.2	ARTICLE 1 : Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety ..	90
4.3	Bilan et nécessité de validation	100
Chapitre 5 : Validation de l'étude comportementale de l'appétit en restaurant expérimental .		101
5.1	Introduction	102
5.2	ARTICLE 2 : Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant.....	102
5.3	Bilan de l'étude de validation	112
Chapitre 6 : Application de cette méthodologie à l'étude du fractionnement alimentaire : le projet SAFRAN.		113
6.1	Schéma de l'étude	114
6.2	Population.....	115
6.2.1	Procédures de recrutement et d'inclusion des sujets	115
6.2.2	Calcul du nombre de sujets nécessaires	117
6.3	Petits déjeuners	117
6.4	Les journées d'explorations	118

6.4.1	Explorations comportementales.....	119
6.4.2	Explorations métaboliques	120
6.5	Méthodes et calculs	123
6.5.1	Enquêtes alimentaires	124
6.5.2	La calorimétrie indirecte.....	124
PARTIE C - Résultats.....		126
Chapitre 7 : Effets du fractionnement alimentaire chez des sujets de poids normal		126
7.1	Introduction	127
7.2	ARTICLE 3 : Increasing eating frequency contributes to a better control of appetite in lean men	127
7.3	Discussion des résultats chez les sujets de poids normal.....	153
Chapitre 8 : Effets du fractionnement alimentaire chez des sujets obèses.....		159
8.1	Introduction	160
8.2	ARTICLE 4 : Eating smaller and frequent meals do not reduce energy intake in obese men....	160
8.3	Discussion des résultats chez les sujets obèses.....	183
PARTIE D - Discussion générale.....		189
Chapitre 9 : Bilan et perspectives méthodologiques.....		189
9.1	Vers une approche intégrée de l'appétit.....	190
9.2	Vers une meilleure validité externe.....	193
Chapitre 10 : Bilan et perspectives en termes de santé publique		197
10.1	Fractionnement alimentaire et appétit : des points communs entre sujets de poids normal et obèses,... mais une différence fondamentale	198
10.2	Fractionnement alimentaire et métabolisme : un effet délétère à long terme ?	200
10.3	Bilan général, implications et perspectives	203
Table des illustrations.....		208
Références bibliographiques.....		210
Annexes.....		233

Introduction générale

Les besoins en énergie de tout organisme vivant sont continus, alors que la prise alimentaire est un processus discontinu. Le **caractère périodique de la consommation d'aliments** est depuis longtemps considéré comme l'une de ses caractéristiques essentielles (Adolph, 1947). Chez le rat de laboratoire, qui est un modèle animal parmi les plus utilisés pour la recherche en biologie ou en sciences du comportement, le nombre de prises alimentaires et leurs tailles sont prévisibles et servent la régulation énergétique de l'animal (Le Magnen, 1992). La figure 1 met en évidence chez cet animal de nombreuses prises alimentaires nocturnes et une faible consommation diurne qui constitue la phase d'inactivité de l'animal. L'alternance jour/nuit est primordiale pour permettre l'ajustement des apports énergétiques par rapport aux dépenses (Bellisle, 2005).

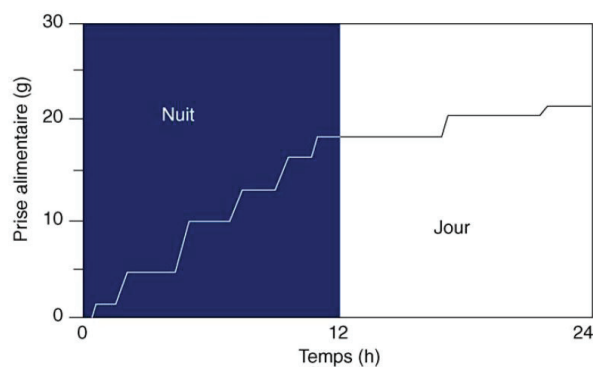


Figure 1 : Distribution circadienne de la prise alimentaire chez le rat de laboratoire (tiré de (Bellisle, 2005), d'après (Le Magnen, 1992))

Chez l'Homme qui dispose de nourriture à volonté, la modalité commune de prises d'aliments est de **trois ou quatre repas par jour, à heures fixes** et aucune consommation nocturne (Le Magnen, 1992). Quelques études réalisées chez le nouveau-né suggèrent que ce cycle s'établirait spontanément et qu'à huit semaines, le nourrisson adopte un rythme de quatre repas diurnes (Hellbruegge *et al.*, 1964). Des adultes laissés libres de leur éclairage et de leurs activités pendant 3 à 10 semaines d'isolement en laboratoire montrent un rythme veille-sommeil de 25 heures et une moyenne de 3,7 repas effectués pendant la période de veille (Bernstein *et al.*, 1981).

Ces données sur les rythmes alimentaires, recueillies en laboratoire, ont été observées en situations expérimentales parfaitement contrôlées. En situation de vie réelle, de nombreux paramètres vont moduler le nombre de prises alimentaires quotidiennes de l'être humain. Ainsi, même si la génétique et d'autres facteurs individuels comme l'âge, jouent un rôle dans le nombre des repas pris par jour (de Castro, 1999b), une grande partie des différences observées entre individus est déterminée par la culture (Chiva, 1997), le contexte social (de Castro, 1997), ou encore des paramètres économiques (Rowland, 2011). Une approche historique montre également des évolutions dans la structure des rythmes alimentaires de génération en génération (Flandrin, 1993; Lehmann, 2002).

Depuis quelques dizaines d'années, de nombreux travaux de recherche, dans les domaines de la sociologie (Fischler, 1979; Poulain, 2002b; Warde *et al.*, 2007) et de l'épidémiologie (Summerbell *et al.*, 1995; Zizza *et al.*, 2001; Bellisle *et al.*, 2003; Matthys *et al.*, 2003; Ovaskainen *et al.*, 2006) mettent en avant une déstructuration de la façon de s'alimenter, que ce soit en Amérique du Nord ou en Europe. On observe en particulier **une modification des rythmes alimentaires** avec le passage de trois repas quotidiens structurés à un nombre plus important de prises alimentaires, non structurées. D'autres études cependant vont à l'encontre de cette thèse de la dispersion accrue des repas (Grignon, 1993; de Saint Pol, 2005). Le travail réalisé par de Saint Pol (2005) démontre en France une persistance du schéma à trois repas par jour sans mettre en avant d'augmentation du nombre des prises alimentaires quotidiennes. Mais, ce type d'études s'appuyant sur des données déclaratives de consommation est soumis à des biais méthodologiques importants, en particulier les individus interrogés ont tendance à se rapprocher dans leurs déclarations de la norme de trois repas par jour, même s'ils en ont effectué plus (Fischler, 1990; de Saint Pol, 2005), ce qui explique que ces mutations alimentaires peuvent échapper aux enquêtes utilisant uniquement des méthodes déclaratives (Poulain, 2002a). Une étude réalisée aux Etats-Unis par Popkin *et al.* (2010) à partir d'enquêtes représentatives de la population entre 1977 et 2006 montre bien l'augmentation du nombre de prises alimentaires quotidiennes sur cette période, à la fois chez les enfants et chez les adultes (cf. Fig. 2).

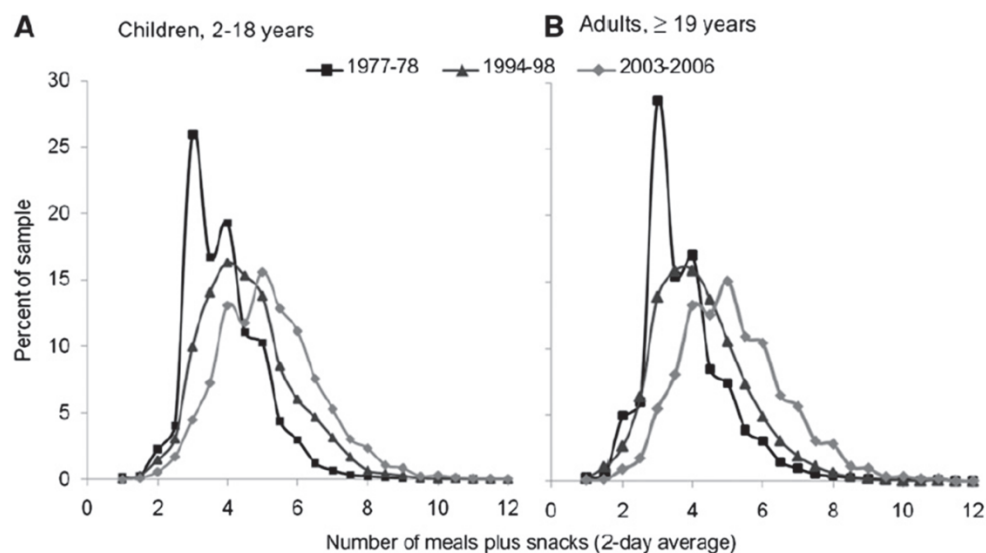


Figure 2 : Fréquence moyenne quotidienne des prises alimentaires chez les enfants (A) et adultes (B) aux Etats-Unis entre 1977-78 et 2003-06 (tiré de (Popkin *et al.*, 2010))

Plusieurs termes sont utilisés dans la littérature pour nommer ces « nouvelles » prises alimentaires en dehors des trois repas principaux. On parle ainsi de grignotage en Français (Louis-Sylvestre, 2000), de ‘grazing’ ou de ‘nibbling’ en Anglais (Southgate, 1990), mais c’est le terme de ‘snacking’ qui revient le plus souvent dans les deux langues. Cependant, il n’existe aucune définition consensuelle de ce que constitue un repas, un grignotage ou un snack, ce qui rend particulièrement difficile l’étude de l’évolution ou de l’impact du snacking dans l’alimentation et la comparaison entre études (Johnson *et al.*, 2010; Gregori *et al.*, 2011). Dans ce manuscrit, dans un souci de précision et d’homogénéité, nous n’emploierons pas les termes de snacking et de grignotage ; nous utiliserons l’expression ‘fréquence des prises alimentaires’, une prise alimentaire étant considérée comme une ingestion de calories solides ou liquides.

L’augmentation rapide et mondiale de la prévalence d’obésité (Low *et al.*, 2009), qui est définie par l’Organisation Mondiale de la Santé comme « une accumulation de masse grasse ayant des conséquences néfastes pour la santé », et qui est le plus souvent « mesurée » chez l’adulte au moyen de l’indice de masse corporelle (IMC = poids (kg)/taille² (m), (cf. tableau 1), a conduit de très nombreux chercheurs à étudier les liens entre l’alimentation et la santé. L’effet délétère d’un régime riche en lipides (Warwick *et al.*, 1992; Lissner *et al.*, 1995; Seidell, 1998) ou en glucides à absorption rapide (Ludwig *et al.*, 1999) est aujourd’hui bien démontré. **La fréquence des prises alimentaires quotidiennes, en mutation depuis quelques dizaines d’années, serait, elle aussi, suspectée d’avoir un rôle sur le poids corporel, mais la littérature est très contradictoire au regard de cette question.** Certaines études incriminent l’augmentation de la fréquence des prises alimentaires dans la prise de poids (Basdevant *et al.*, 1993), quand d’autres ne trouvent pas de relation (Edelstein *et al.*, 1992; Summerbell *et al.*, 1996), ou une relation inverse entre fréquence des repas et poids corporel (Drummond *et al.*, 1998).

Tableau 1 : Classification internationale de la maigreur, du poids normal, du surpoids et de l’obésité selon l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS), par le biais de l’indice de masse corporelle (IMC) exprimé en kg/m².

Classification	IMC
Maigreur	< 18,5
Normal	18,5 – 24,9
Surpoids	25,0 – 29,9
Obésité modérée	30,0 – 34,9
Obésité sévère	35,0 – 39,9
Obésité massive	≥ 40,0

L'augmentation de la fréquence des prises alimentaires est d'une part susceptible d'avoir des conséquences sur l'organisme via la quantité totale d'énergie ingérée, qui peut être modifiée par des choix d'aliments particuliers. En effet, ces choix alimentaires, en dehors des périodes de repas, sont souvent tournés vers des aliments de haute densité énergétique favorisant une consommation excessive d'énergie (Bellisle, 1995). D'autre part, **indépendamment de l'énergie ingérée**, le fait de manger plus souvent dans la journée (comparativement à un schéma alimentaire à trois repas par jours : en début de matinée, à midi et en fin de journée) induit une perturbation de la période de jeûne normalement observée entre les repas (jeûne inter-prandial). L'étude des conséquences de cette perturbation, voire de la perte du jeûne inter-prandial, se fait le plus souvent en demandant à des individus de consommer une ration alimentaire selon deux modalités temporelles différentes. Par exemple, Jenkins *et al.* (1989) ont proposé à des sujets de consommer la même ration alimentaire, soit en 3 repas, soit en 17 petites prises dans la journée. On dit que ces deux conditions expérimentales sont isocaloriques, c'est-à-dire que la même quantité de calories est apportée dans les deux conditions. Dans ce manuscrit, nous appellerons fractionnement alimentaire ou fractionnement, cette augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires sur une période déterminée.

Le fractionnement alimentaire est suspecté d'avoir des effets sur la physiologie de l'organisme et en particulier sur la balance énergétique (équilibre entre les apports et les dépenses d'énergie). Certaines études ont mis en évidence des effets du fractionnement sur la sensation de faim, sur la consommation alimentaire au cours du repas qui suit la période de fractionnement (Speechly *et al.*, 1999b; 1999a) ou encore sur les concentrations en hormones ayant un rôle dans la régulation de l'appétit (Leidy *et al.*, 2010b; Lemmens *et al.*, 2011). D'autres ont montré que le fractionnement pouvait affecter les concentrations plasmatiques de glucose, d'insuline (Jenkins *et al.*, 1989; 1995), l'utilisation des substrats énergétiques (Danone Vitapole, 2004) ou la dépense énergétique (Tai *et al.*, 1991). Aussi, appétit et métabolisme (terme utilisé dans ce manuscrit sous son utilisation courante pour désigner la dégradation des aliments et leur transformation en énergie) sont susceptibles d'être modifiés par le fractionnement alimentaire. Certains des résultats de ces études vont dans le sens d'un effet bénéfique du fractionnement alimentaire sur le contrôle de l'appétit et les paramètres métaboliques, mais **des résultats contradictoires** et le peu d'études sur la question ne permettent pas à la communauté scientifique de conclure quant à l'effet bénéfique ou délétère du fractionnement alimentaire sur la balance d'énergie (Bellisle *et al.*, 1997; Danone Vitapole, 2004; La Bounty *et al.*, 2011; McCrory *et al.*, 2011).

Malgré le manque de preuves scientifiques, les médias, des guides pratiques (American Dietetic Association, 2012) ainsi que de très nombreux sites Internet **conseillent de modifier sa fréquence**

quotidienne de prises alimentaires dans une optique de perte de poids (Palmer *et al.*, 2009). Le fractionnement alimentaire est ainsi conseillé pour « mieux contrôler son appétit », « mieux brûler ses graisses » et globalement « perdre du poids » (Palmer *et al.*, 2011). A titre d'exemple, afin de comprendre l'importance de cette question auprès du grand public, une recherche Google sur Internet (mai 2012) avec les expressions exactes suivantes : "*petits repas fréquents*" AND "*perte de poids*" donne environ 11 800 résultats, alors que la recherche en Anglais pour "*eating smaller more frequent meals*" AND "*weight loss*" donne 47 700 réponses. La figure 3 est une simple illustration par quelques exemples, des messages qui sont diffusés au grand public via Internet concernant les effets potentiels du fractionnement alimentaire.

Ces messages peuvent être contradictoires, certains sites proposant à l'inverse de fractionner ses prises alimentaires dans l'objectif de prendre du poids.

Cette dernière hypothèse a été émise par quelques chercheurs (Layne, 1990; Taylor *et al.*, 2006; Dunne *et al.*, 2007) dans une population spécifique de personnes âgées souffrant de dénutrition. Mais peu d'études ont testé cette hypothèse et elles n'ont pas permis d'aboutir à des résultats concluants (Taylor *et al.*, 2006).

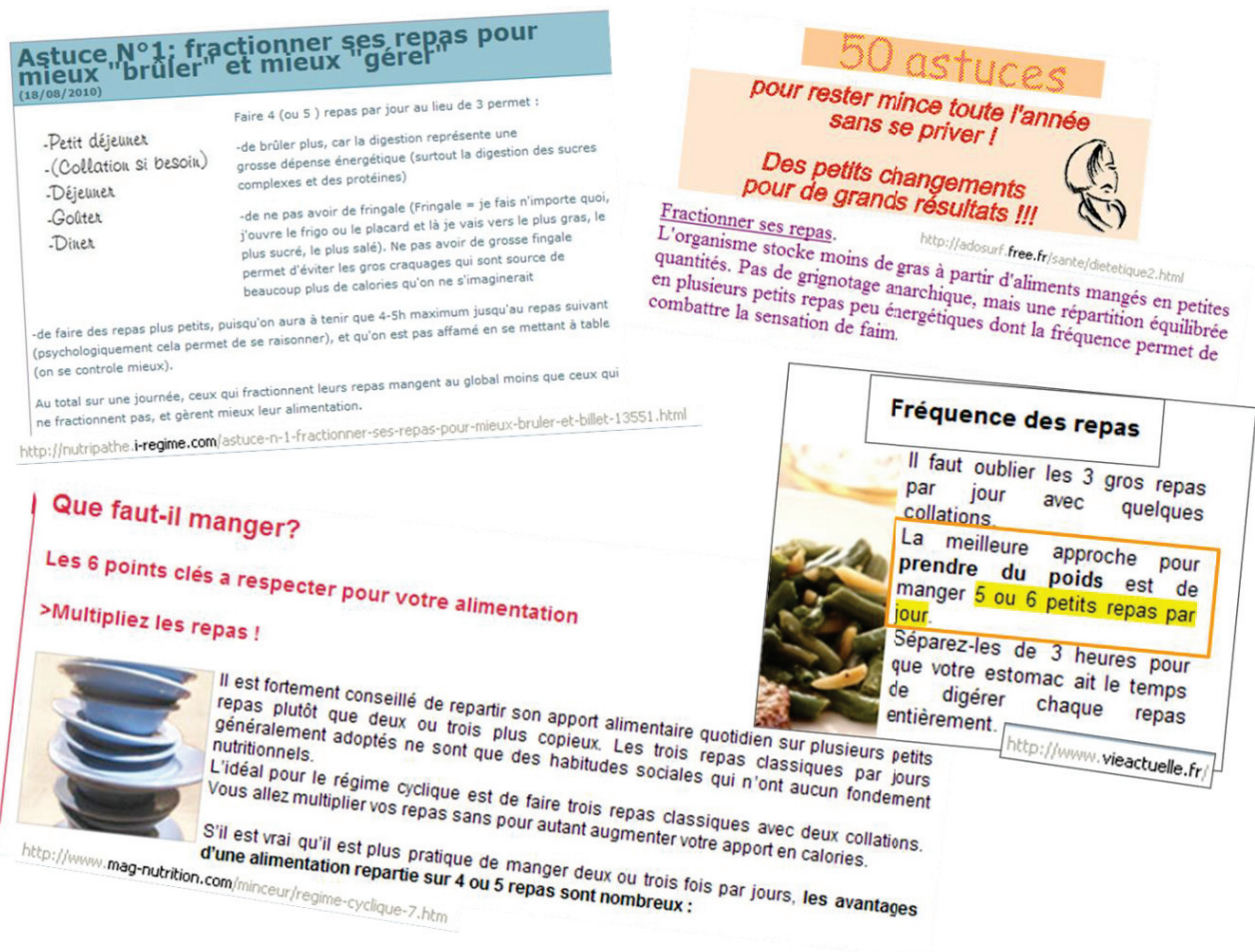


Figure 3 : Quelques exemples des effets potentiels du fractionnement alimentaire diffusés via Internet.

A la vue des **modifications observées dans les comportements alimentaires**, de **l'augmentation de l'obésité**, des **résultats contradictoires de la littérature sur l'effet de la fréquence des prises alimentaires** et de **l'intérêt pour le grand public de mieux gérer son poids**, en particulier par un meilleur contrôle de l'appétit, de nombreux auteurs (Bellisle *et al.*, 1997; Mattson, 2005; Palmer *et al.*, 2009; Leidy *et al.*, 2011; McCrory *et al.*, 2011) ont mis en avant **le besoin de travaux de recherche sur l'étude des liens entre la fréquence des prises alimentaires et la santé.**

Le travail de thèse, présenté dans ce document, s'inscrit dans cet objectif de mieux comprendre les effets de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur la santé humaine. Nous avons plus spécifiquement dans ce projet focalisé notre attention sur l'effet du fractionnement alimentaire sur l'appétit et plus globalement sur la balance énergétique ; l'effet sur le métabolisme ayant également été considéré.

Ce manuscrit débute par une synthèse bibliographique et la formulation de la problématique (PARTIE A). Dans le **chapitre 1**, nous présenterons l'état des connaissances scientifiques sur l'appétit et les différents concepts qui lui sont associés : la faim, la satiété, le rassasiement. Plus précisément, après la définition de ces concepts, nous expliciterons comment l'appétit est physiologiquement régulé, quels sont les paramètres qui peuvent influencer sur cette régulation et quelles sont les implications méthodologiques qui en découlent. Dans le **chapitre 2**, nous dresserons un état de l'art sur les liens entre la fréquence des prises alimentaires et l'appétit et plus globalement l'équilibre de la balance énergétique. Nous préciserons nos objectifs de recherche dans le **chapitre 3**.

Dans la PARTIE B, nous présenterons et justifierons la méthodologie originale développée au cours de ce projet nous permettant de considérer à la fois des données physiologiques nécessaires à la compréhension des mécanismes de régulation de l'appétit et du métabolisme, et des données d'ordre comportemental observées en contexte écologique (c'est-à-dire ressemblant à une situation de vie réelle (Le Gall *et al.*, 2001)), utiles pour la bonne compréhension du concept très complexe qu'est l'appétit (**chapitre 4**). Cette phase méthodologique a nécessité la validation d'un nouvel outil et de procédures d'analyse originales pour étudier l'appétit, qui sera présentée dans le **chapitre 5**. Le **chapitre 6** présentera comment nous avons intégré cet outil dans un protocole d'étude des effets du fractionnement alimentaire : le projet *SAFRAN* (*S*Atiété, *FR*équence des repas et *A*spects Nutritionnels).

La PARTIE C est dédiée à la présentation des résultats des deux autres phases expérimentales de ce projet, à savoir l'étude des conséquences du fractionnement alimentaire sur la balance énergétique, via l'appétit et le métabolisme, chez des sujets normo-pondéraux dans un premier temps (**chapitre 7**), puis chez des sujets obèses, présentant potentiellement une dérégulation physiologique et/ou comportementale de l'appétit et des dysfonctionnements métaboliques (**chapitre 8**).

Dans la PARTIE D, nous synthétiserons et critiquerons les apports de ce travail d'un point de vue méthodologique pour l'étude de l'appétit (**chapitre 9**), ainsi que dans la compréhension des effets de la modification de la fréquence des prises alimentaires sur la santé humaine (**chapitre 10**).

PARTIE A - Synthèse bibliographique et problématique

Chapitre 1 : L'appétit, comment le définir ? Comment est-il régulé et modulé ?

L'objectif de ce premier chapitre bibliographique est de faire un point sur l'état des connaissances concernant l'appétit. Nous allons apporter des éléments pour répondre aux questions suivantes : Comment pouvons-nous définir l'appétit et les concepts qui lui sont associés : la faim, la satiété, le rassasiement ? Pourquoi est-on intéressé par l'étude de l'appétit ? Comment l'appétit est-il régulé physiologiquement et comment cette régulation est-elle modulée par de nombreux paramètres ? Quelles sont les implications méthodologiques qui en découlent ?

1.1 Appétit, faim, satiété, rassasiement : évolution et définition des concepts

Le terme appétit est issu du latin *apetitus* signifiant désir. Gallouin et Le Magnen (1987), dans un article qui retrace l'évolution historique des concepts de faim, satiété et appétit, mettent en avant que ce sens étymologique de désir se retrouve dans la plupart des définitions courantes du terme appétit. En 1974, le dictionnaire du CNRS (1974) définit l'appétit par le désir de manger. Treize ans plus tard, Gallouin et Le Magnen (1987) proposent une définition scientifique de l'appétit qui est « *l'attraction et la stimulation à manger que suscitent les aliments en général, ou, à des degrés divers, des aliments particuliers, dans l'état de faim. Des aliments sont, par leurs caractéristiques sensorielles propres, des stimuli conditionnés des appétits* ». Dans une revue de littérature récente, Blundell *et al.* (2010) mettent en avant le fait que le terme appétit a aujourd'hui deux définitions en circulation dans la communauté scientifique. L'une réfère spécifiquement aux aspects qualitatifs de l'acte de manger, aux aspects sensoriels ou à la sensibilité aux stimulations environnementales et se rapproche donc de la définition précédente, reprise par Bellisle (2005) : « *désir de manger un aliment particulier, ou les aliments particuliers proposés au repas* ». La seconde définition selon Blundell *et al.* (2010) couvre tout le champ de la prise alimentaire, la sélection d'aliments, la motivation à manger et les préférences alimentaires. Dans ce manuscrit, nous emploierons le terme appétit dans le sens de cette dernière définition, à savoir un terme global qui regroupe l'ensemble des concepts cités ci-dessus.

Alors que la définition du terme faim (du latin *fames*) était à la fin du XIV^{ème} siècle limitée à la perception sensorielle : « *la faim est une sensation que fait éprouver le besoin ou l'envie de manger* » (Littré, 1876), elle s'est affinée au cours du XX^{ème} siècle en incluant, au fur et à mesure des travaux expérimentaux chez l'animal de laboratoire et chez l'humain, des notions de physiologie. Gallouin et Le Magnen (1987) proposent la définition scientifique suivante : « *la faim est un état d'éveil spécifique ou de « motivation » du système nerveux central, provoqué par des signaux internes*

résultant du déficit énergétique de l'organisme requérant l'apport d'aliments, et/ou par des stimulations sensorielles externes issues des aliments. Cet état est associé à une perception identifiée chez l'Homme, dite de sensation de faim. Il conduit l'animal, comme l'Homme, à rechercher, accepter et ingérer des matériaux qu'il connaît être des aliments ». Des définitions plus récentes (Bellisle, 2005; Blundell *et al.*, 2010), mettent en avant que « *ce besoin physiologique s'accompagne en aigu de sensations désagréables impliquant surtout l'aire gastrique* » (Bellisle, 2005). Dans une des rares études qualitatives s'intéressant à cette question (Murray *et al.*, 2009), la faim est associée, d'un point de vue des « mangeurs », à la fois à un état physique (sensation de vide, maux d'estomac, « bruits » d'estomac) et à état mental (difficulté à se concentrer sur une tâche, envie de manger, pensées dirigées vers la nourriture, désir de mâcher quelque chose) particuliers.

Le terme satiété (en Anglais : satiety) vient du latin *satis* signifiant 'assez'. Le terme est utilisé dans un sens général pour désigner la satisfaction, et par conséquent la disparition d'un besoin par un acte consommatoire (Gallouin *et al.*, 1987). Dans le contexte alimentaire, la satiété désigne l'absence de faim, l'absence de désir de manger qui suit un repas (Le Magnen, 1992). La satiété est également définie par Bellisle (2005) comme un état psychophysologique complexe qui évolue après un repas selon la « cascade de la satiété » proposée originellement par Blundell *et al.* (1987) (cf. Fig. 4). La satiété est associée à un état de plénitude (en Anglais *fullness*), décrit d'un point de vue qualitatif (Murray *et al.*, 2009), comme la sensation d'avoir de la nourriture dans l'estomac, d'avoir l'estomac tendu, associée à un état de confort, de satisfaction, de contentement, ainsi qu'à une capacité à se concentrer sur des tâches.

Alors que la satiété concerne les événements qui se produisent depuis la fin d'un repas, jusqu'au début du suivant, le rassasiement (en Anglais : satiation), qui est une notion proposée par le Magnen (1971), concerne le développement, en cours de repas, d'une inhibition progressive de l'appétit par la consommation d'aliments (Bellisle, 2005). Il s'agit donc du processus qui aboutit à la fin de la prise alimentaire au cours d'un repas (Blundell *et al.*, 2010). On parle parfois en Anglais de « *intra-meal satiety* ».

Le rassasiement sensoriel spécifique correspond à une diminution de l'appréciation d'un aliment dès le début de son ingestion par voie orale, par rapport aux aliments qui n'ont pas été consommés. Ce phénomène a été mis en évidence par Rolls *et al.* (1981b) ; il est spécifique de la saveur consommée. Il ne s'exerce qu'à l'égard de ce seul aliment ou des aliments de saveur très voisine.

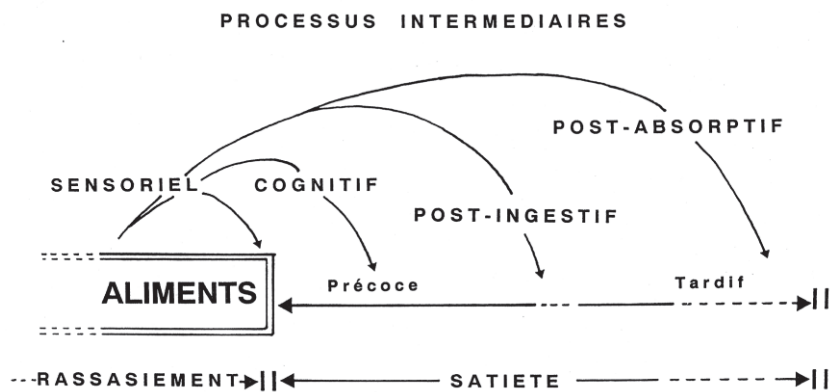


Figure 4 : La cascade de la satiété, proposée par Blundell *et al.* (1987).

La cascade de la satiété (cf. Fig. 4) met en avant la différence temporelle existant entre rassasiement (au cours du repas) et satiété (entre les repas). La figure 4 indique que le rassasiement et la satiété sont influencés dans un premier temps par des facteurs sensoriels, tels que le goût, la texture ou l'odeur des aliments, ainsi que des facteurs cognitifs, comprenant les attentes liées aux aliments consommés ou toute association liée à une expérience précédente avec ces aliments. Une fois que les aliments atteignent l'estomac, des facteurs post-ingestifs vont venir influencer sur la satiété, puis après que les nutriments (glucides, lipides, protéines) aient été absorbés, des facteurs post-absorptifs vont intervenir dans cette cascade de la satiété (Blundell *et al.*, 1987).

Nous allons dans la suite de ce manuscrit (paragraphe 1.3) présenter de quelle manière l'organisme va répondre à ces différents signaux, en d'autres termes, comment se fait la régulation physiologique de l'appétit et de la prise alimentaire. Mais avant de clore ce paragraphe qui avait pour objectif de présenter et définir les concepts, il nous semble nécessaire de préciser que, derrière l'apparente simplicité qui pourrait se dégager des définitions que nous venons de fournir, se cache une réelle complexité. Par exemple, on pourrait croire à la vue de ces définitions que faim et satiété sont de simples opposés. Or, dans sa grande complexité, l'être humain peut décrire de façon concomitante une sensation de faim (mental) et un sentiment de plénitude (physique) (Murray *et al.*, 2009). Ce chevauchement de différents concepts apparemment opposés rend l'étude du comportement alimentaire humain extrêmement difficile, car il n'est pas rare d'observer des personnes qui mangent sans avoir faim ou d'autres qui ne mangent pas alors qu'elles ont faim et que de la nourriture est disponible (Mattes *et al.*, 2005). Nous présenterons dans la suite de ce chapitre les facteurs susceptibles de venir moduler, voire prendre le dessus sur la régulation physiologique de l'appétit

(paragraphe 1.4), puis les implications méthodologiques de cette complexité (paragraphe 1.5). Avant cela, nous allons présenter les raisons pour lesquelles l'appétit est aujourd'hui le centre d'intérêt de nombreux chercheurs globalement impliqués dans l'étude de la gestion du poids, du surpoids ou de l'obésité.

1.2 Pourquoi s'intéresse-t-on à l'appétit ? Son rôle dans la balance énergétique

C'est principalement l'augmentation des prévalences de surpoids et d'obésité à travers le monde qui explique l'intérêt croissant pour les études sur l'appétit, plus principalement sur la compréhension des processus de rassasiement et de satiété.

Le surpoids et l'obésité sont la conséquence d'un déséquilibre de la balance énergétique, c'est-à-dire un déséquilibre entre les dépenses et les apports d'énergie (Mokdad *et al.*, 2003). L'équilibre de la balance énergétique dépend donc à la fois des entrées dans l'organisme (c'est-à-dire des apports énergétiques), et des sorties (la dépense énergétique totale). Lorsque cette balance est à l'équilibre, le poids est stable. L'homéostasie énergétique est cet état d'équilibre dynamique entre les dépenses et les apports d'énergie, permettant la stabilité du milieu interne de l'organisme (Campbell, 1995). Lorsque la balance énergétique est positive, liée à un excès d'apport comparativement aux dépenses, l'énergie excédentaire est stockée et la masse corporelle augmente.

Avant de présenter l'importance d'étudier l'appétit, de par son rôle dans les apports énergétiques, il est nécessaire dans un premier temps de présenter les différentes composantes de la dépense énergétique.

1.2.1 La dépense énergétique : ses différentes composantes

La dépense énergétique totale est l'énergie totale, exprimée en Joules, dépensée en 24 heures par un individu. La figure 5 présente les trois composantes parfaitement définies de la dépense énergétique totale : le métabolisme de base, la dépense énergétique liée à l'alimentation et enfin, celle liée à l'activité physique (Laville *et al.*, 2001).

Le métabolisme de repos (ou de base) constitue la part la plus importante de la dépense énergétique. Il représente entre 60 et 75 % de l'énergie totale dépensée par jour. Il s'agit de la consommation d'énergie nécessaire pour assurer les fonctions vitales de l'organisme. On le mesure chez un individu à jeun, couché, éveillé et en thermoneutralité (Laville, 2006).

La dépense énergétique liée à l'alimentation, appelée également thermogénèse alimentaire ou thermogénèse induite par l'alimentation (nous utiliserons dans ce manuscrit l'abréviation du terme anglais « diet induced thermogenesis » : DIT). Elle n'est observée qu'après une prise alimentaire et représente l'énergie dépensée par les processus de digestion, de transport et de stockage des nutriments. Cette thermogénèse alimentaire diffère en fonction de la quantité et la qualité des aliments ingérés. Elle représente en moyenne 10 % de la dépense énergétique totale.

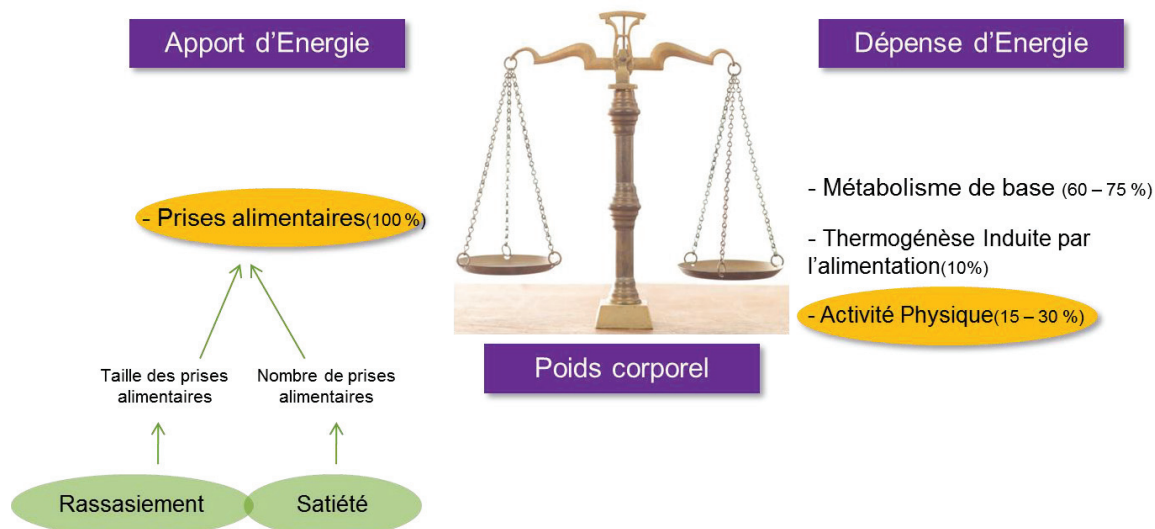


Figure 5 : Les différentes composantes de la balance énergétique. En orange, apparaissent les parts de la balance énergétique qui sont directement modulables par une modification du comportement.

La dépense énergétique liée à l'activité physique est la dernière composante de la dépense énergétique. Elle représente en moyenne entre 15 et 30 % de la dépense énergétique totale. C'est la part de la dépense énergétique que l'on peut modifier, par des changements du comportement. Pour un même individu, un comportement actif peut facilement entraîner un doublement de cette part de la dépense énergétique, comparativement à un comportement sédentaire. Ceci explique que les campagnes de lutte contre la prise de poids et l'obésité promeuvent le développement des activités physiques structurées (de type sport) et spontanées (monter les escaliers, marcher,...) (Castetbon *et al.*, 2009).

1.2.2 Les apports énergétiques : rôles de la satiété et du rassasiement

Les apports énergétiques représentent tous les apports caloriques (aliments et boissons) ingérés au cours d'une journée. Les besoins énergétiques sont différents entre les individus et dépendent

principalement du sexe, de l'âge et de l'activité physique pratiquée. En moyenne, un homme adulte nécessite un apport alimentaire moyen de 2700 kcal afin de couvrir ses besoins journaliers ; une femme adulte nécessite en moyenne seulement 2000 kcal. Alors que 15 à 30 % de la dépense énergétique totale d'un individu dépendent de son comportement, 100 % des apports énergétiques sont directement liés à l'ingestion alimentaire, donc à un processus comportemental. Dans une optique de santé publique, l'autre moyen de lutter contre la prise de poids et l'obésité, en plus de promouvoir l'activité physique, sera de promouvoir des comportements alimentaires visant à contrôler ou diminuer les apports d'énergie.

Dans cette optique, il est fondamental d'étudier les comportements alimentaires et en particulier de mieux comprendre les mécanismes qui conduisent les individus à commencer à manger et à s'arrêter de manger. Le processus de rassasiement qui conduit à la fin d'un acte alimentaire est important dans le contrôle de la quantité consommée à chaque prise alimentaire. La durée de la satiété va, quant à elle, être importante pour la durée de l'intervalle entre deux prises alimentaires, et va donc influencer le nombre de prises alimentaires quotidiennes.

L'énergie totale ingérée est fonction à la fois du nombre de prises alimentaires par jour et de leurs tailles. Aussi, à la fois le rassasiement et la satiété vont jouer un rôle dans l'énergie totale ingérée.

La compréhension de comment est régulé et modulé l'appétit est donc fondamentale dans une optique de lutte contre la prise de poids, ce qui explique le fort intérêt pour cette thématique chez les chercheurs impliqués dans la santé publique en lien avec l'alimentation.

1.3 Comment l'appétit est-il physiologiquement régulé ?

Des travaux expérimentaux anciens étudiant les mécanismes de rassasiement et de satiété chez l'animal ont permis d'observer les effets de l'altération de certaines zones du cerveau sur le comportement alimentaire. De cette façon, ces zones, en particulier au niveau de l'hypothalamus ont été identifiées comme étant importantes dans le contrôle de l'appétit (Morgane *et al.*, 1969). Depuis, la façon dont l'organisme communique au cerveau la quantité d'aliments ingérés et celle de nutriments circulants ou stockés, ainsi que l'intégration de ces signaux au niveau du cerveau ont été étudiés et sont aujourd'hui mieux compris. Avant de rentrer dans le détail des différentes voies impliquées, la figure 6 nous en donne une représentation schématique : quand de la nourriture est consommée, plusieurs signaux mécaniques comme la distension gastrique, ou hormonaux provenant de l'estomac ou des intestins, sont communiqués au cerveau via la voie nerveuse ou humorale. Ces signaux sont intégrés au niveau du cerveau pour réguler la prise alimentaire.

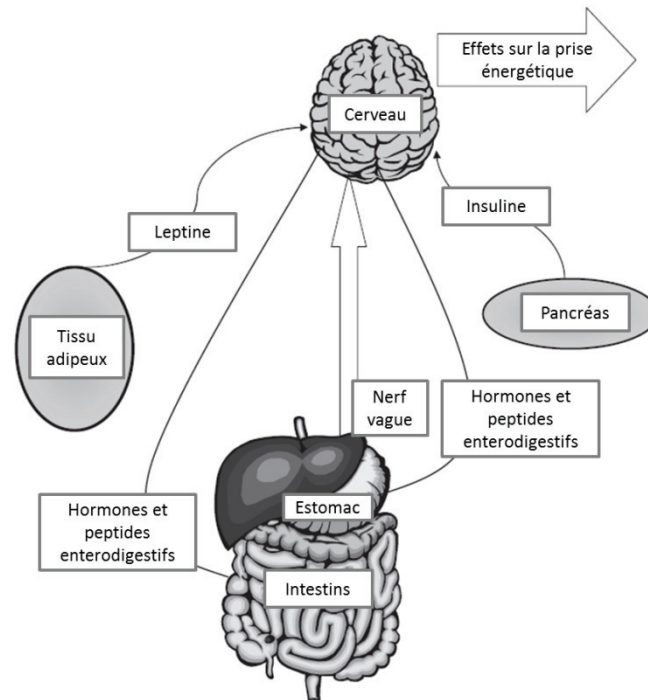


Figure 6 : Représentation schématique des voies impliquées dans la régulation physiologique de l'appétit (adapté de Benelam (2009)).

Dans le cadre de la régulation de l'appétit, le cerveau reçoit un ensemble de signaux interagissant entre eux que l'on peut séparer en deux catégories (Daddoun *et al.*, 2004) :

- Les signaux de régulation à court terme qui sont directement liés à la prise alimentaire. Ils incluent des informations nerveuses et humorales élaborées pendant la prise alimentaire, la digestion et la métabolisation des nutriments. Ces signaux interviennent sur le volume et la durée de la prise alimentaire qui les génère, ainsi que sur la durée de la période de satiété qui fait suite à cette prise alimentaire.
- Les signaux de régulation à long terme qui sont générés proportionnellement à la masse adipeuse des individus. Ils sont de nature principalement hormonale et leur action est retardée par rapport à la prise alimentaire. Ils agissent à la fois en modulant l'impact des signaux à court terme, ainsi qu'en exerçant des effets directs sur les voies contrôlant l'équilibre énergétique au niveau du cerveau.

1.3.1 La distension gastrique : un premier phénomène mécanique qui régule le rassasiement

Lorsque des aliments arrivent dans l'estomac, on observe une stimulation des mécanorécepteurs de la paroi gastrique et le nerf vague (appelé aussi nerf pneumogastrique) communique au cerveau une augmentation du volume gastrique (Ritter, 2004). Rolls et Roe (2002) ont démontré chez des femmes normo-pondérales et des femmes obèses que l'augmentation du volume gastrique, sans modification du contenu énergétique de l'estomac induit une diminution de la sensation de faim et de la prise alimentaire. Une étude récente suggère que ce signal serait inopérant chez les sujets obèses (Tomasi *et al.*, 2009). La distension gastrique a été proposée comme biomarqueur potentiel du rassasiement (de Graaf *et al.*, 2004) mais, même s'il existe des méthodes de mesure indirectes de la distension gastrique, celles-ci sont relativement lourdes à mettre en place et le besoin de développer des méthodes directes de mesure a été mis en avant afin de pouvoir utiliser ce biomarqueur dans les recherches sur la régulation de l'appétit (de Graaf *et al.*, 2004).

1.3.2 Rôle des hormones et peptides entéro-digestifs dans l'inhibition à court terme de la prise alimentaire

L'effet de la distension gastrique est toutefois transitoire et la terminaison effective du repas ainsi que la régulation de la satiété impliquent une cascade de libérations d'hormones et de peptides entéro-digestifs (sécrétés tout au long du tube digestif). Aussi, l'arrivée du bol alimentaire dans l'intestin entraîne la sécrétion d'hormones ou de peptides qui inhibent la prise alimentaire.

1.3.2.1 La cholécystokinine

La cholécystokinine (CCK) est un peptide sécrété dans le sang par des cellules du duodénum (début de l'intestin). La CCK est rapidement libérée dans la circulation sanguine en réponse à la présence de nutriments dans l'intestin, en particulier en présence de protéines et de lipides (Wren *et al.*, 2007). La présence d'acides gras à longue chaîne entraîne une libération plus importante de CCK, comparativement à des acides gras à chaîne courte (Matzinger *et al.*, 2000). Au-delà de ses fonctions digestives (par exemple : stimulation de la sécrétion d'enzymes par le pancréas et de la production de bile), la CCK aurait un rôle dans la mise en place du rassasiement. Plusieurs études, dont la première a été réalisée par Kissileff *et al.* (1981), ont montré que l'administration de CCK exogène entraîne une diminution de la prise alimentaire. Deux études ont mis en évidence un effet-dose : en fonction de la dose de CCK administrée, ces études ont montré une diminution de la prise

alimentaire comprise entre 0 % (MacIntosh *et al.*, 2001) et 63 % (Schick *et al.*, 1991) par rapport à une situation témoin. L'effet endogène de la CCK sur l'appétit a également été mis en évidence, même si cet effet n'est pas clair dans toutes les études (de Graaf *et al.*, 2004). Beglinger *et al.* (2001) ont montré que l'injection d'un antagoniste de la CCK entraîne une augmentation de la prise alimentaire, ce qui va dans le sens d'un effet de la CCK endogène sur l'appétit. Par ailleurs, il a été démontré que l'effet satiétogène de la CCK est observé uniquement en présence d'une distension gastrique. Aussi, le mécanisme par lequel la CCK agit sur l'appétit serait en retardant la vidange de l'estomac (Melton *et al.*, 1992).

L'effet de la CCK sur l'appétit est bloqué après une vagotomie (section du nerf vague), ce qui suggère que le signal satiétogène de la CCK est relayé, via le nerf vague, jusqu'au système nerveux central (Murphy *et al.*, 2004).

L'ensemble de ces résultats font de la CCK un potentiel biomarqueur du rassasiement, même si le dosage de sa concentration sanguine demeure une difficulté technique (de Graaf *et al.*, 2004). En effet, la nécessité de développer des méthodes de dosage plus sensibles et spécifiques a déjà été mise en avant dans la littérature (Liddle, 1998).

1.3.2.2 Le peptide YY

Le peptide YY (PYY) est un peptide sécrété pendant la période post-prandiale (après un repas) par les cellules endocrines tapissant l'intestin grêle et le côlon. La concentration plasmatique en PYY₃₋₃₆ (forme biologiquement active du PYY) est corrélée à la quantité de calories ingérées et se maintient élevée plusieurs heures après la fin du repas (Luquet *et al.*, 2009). En plus des nutriments, il a été démontré que la CCK stimule la sécrétion de PYY (Greeley *et al.*, 1989). La diminution de la concentration plasmatique en PYY₃₋₃₆ pré-prandiale et l'augmentation post-prandiale a suggéré l'implication du PYY dans la régulation de la satiété (Adrian *et al.*, 1985). Chez l'animal, une diminution, dose-dépendante, de la prise alimentaire a été observée à la suite d'une administration périphérique de PYY₃₋₃₆ (Challis *et al.*, 2003; Halatchev *et al.*, 2004) ; une administration chronique de PYY₃₋₃₆ induit une perte pondérale suite à la réduction de la prise alimentaire (Sileno *et al.*, 2006). Chez l'humain, deux études de Batterham *et al.* (2002; 2003) viennent également confirmer l'hypothèse initiale en montrant que l'administration exogène de PYY₃₋₃₆ réduit significativement la prise alimentaire, ainsi que la sensation de faim sur une durée de 24 heures. Cet effet a été observé à la fois chez des sujets sains normaux-pondéraux, et chez des sujets obèses (Batterham *et al.*, 2003). A la vue de ces différents résultats, le PYY semble jouer un rôle causal dans la cascade de la satiété. Néanmoins, les données sur la relation entre PYY et appétit sont encore limitées et plus de travaux

sont nécessaires pour montrer que le PYY peut jouer le rôle de biomarqueur de la satiété (de Graaf *et al.*, 2004).

1.3.2.3 Le glucagon like peptide - 1

Le glucagon like peptide - 1 (GLP-1) est une hormone sécrétée par les cellules endocrines de l'iléon et du côlon. Les concentrations plasmatiques de GLP-1 sont extrêmement faibles à jeun et augmentent rapidement lors de la prise alimentaire (Orskov, 1992). Le GLP-1 actif est dégradé peu après sa sécrétion par une enzyme appelée dipeptidyl peptidase 4 (DPP-IV), générant un peptide inactif. Le GLP-1 est une hormone incrétine ce qui signifie qu'en réponse au glucose oral, elle stimule la sécrétion d'insuline par le pancréas (Little *et al.*, 2006). D'autre part, le GLP-1 est suspecté de jouer un rôle important dans le « frein iléal » qui correspond à un mécanisme d'inhibition de la motilité et des sécrétions gastro-intestinales proximales, suite à l'arrivée de nutriments non digérés dans l'iléon (Maljaars *et al.*, 2008). En effet, le GLP-1 possède un effet inhibiteur de la motilité intestinale et en particulier de la vidange gastrique (Zander *et al.*, 2002). C'est probablement par ce mécanisme que le GLP-1 exerce son effet sur l'appétit (Zander *et al.*, 2002). Les premiers travaux suggérant un effet du GLP-1 sur l'appétit ont été réalisés par Flint *et al.* (1998) qui ont montré chez des sujets normaux-pondéraux une diminution de la sensation de faim et une baisse de 12 % de la prise alimentaire *ad libitum* (c'est-à-dire à volonté) suite à l'administration exogène de GLP-1. Une méta-analyse impliquant 115 sujets (Verdich *et al.*, 2001) a confirmé cet effet, à la fois chez des sujets normaux-pondéraux et chez des sujets obèses. Une étude de Gutzwiller *et al.* (1999) suggère clairement un effet dose-réponse du GLP-1 sur l'inhibition de l'appétit.

Même si une étude a rapporté une libération plus importante de GLP-1 après un repas riche en glucides, comparativement à un repas isocalorique, riche en protéines (Smeets *et al.*, 2008b), les études sur la stimulation endogène du GLP-1 par différents nutriments sont encore assez rares (de Graaf *et al.*, 2004).

Le GLP-1 est considéré comme étant un potentiel biomarqueur du rassasiement (de Graaf *et al.*, 2004), même si plus de recherches sont nécessaires pour comprendre l'effet différentiel des aliments sur la libération de GLP-1.

1.3.3 La ghréline, une hormone à part dans la régulation de l'appétit

Découverte en 1999 (Kojima *et al.*, 1999), la ghréline est une hormone sécrétée principalement par l'estomac et la partie supérieure de l'intestin. C'est un peptide composé de 28 acides aminés dont la

forme active est acylée. La demi-vie de l'hormone acylée dans la circulation est estimée entre 10 et 30 minutes (Disse, 2010). Cette dégradation rapide de la ghréline active a longtemps rendu son dosage difficile. En effet, dans les premiers travaux, on ne savait doser que la ghréline dite totale (ghréline acylée active + ghréline désacylée). La mise au point de dosages fiables de la ghréline acylée permet aujourd'hui de préciser son rôle physiologique (Patterson *et al.*, 2005; Pirazzoli *et al.*, 2005).

Le profil sécrétoire circadien de la ghréline est corrélé au rythme des repas (cf. Fig. 7). Les taux plasmatiques de ghréline sont élevés au cours du jeûne et abaissés après les prises alimentaires (Cummings *et al.*, 2001; Tschöp *et al.*, 2001a). L'origine digestive de la ghréline parut surprenante à sa découverte, puisque tous les autres peptides provenant du tube digestif (CCK, PYY, GLP-1) étaient des signaux de satiété (Woods, 2004). Depuis 1999, de nombreuses études réalisées chez l'animal ou chez l'Homme ont montré l'action orexigène de la ghréline. En d'autres termes, la ghréline joue un rôle dans l'initiation des repas alors que les autres hormones et peptides entéro-digestifs sont impliqués dans l'arrêt de la prise alimentaire. En 2000, Tschöp *et al.* (2000) décrivent pour la première fois l'effet de la ghréline sur la stimulation de la prise alimentaire chez le rat. En 2001, il a été montré que l'injection intraveineuse de ghréline chez l'Homme augmente de 28 % environ les apports énergétiques au cours d'un buffet *ad libitum*, et de 46 % la sensation de faim (Wren *et al.*, 2001). Plus récemment, ces résultats ont été reproduits chez des sujets obèses (Druce *et al.*, 2005).

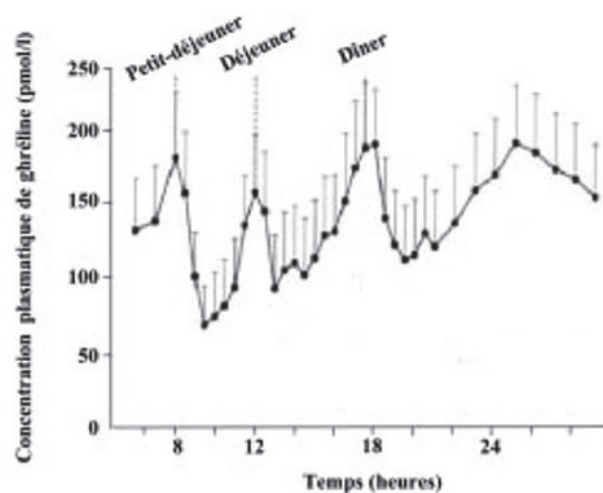


Figure 7 : Profil sécrétoire de la ghréline sur 24 heures chez le sujet sain (tiré de (Tounian *et al.*, 2005)).

L'augmentation de la concentration plasmatique de ghréline avant chaque repas est une constante dans le règne animal, que le rythme des repas soit imposé, ou que la nourriture soit à disposition à volonté (Sugino *et al.*, 2002; Tolle *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent que la ghréline est un facteur déclenchant de la prise alimentaire puisque des sujets sans repères de temps, ni stimuli alimentaires

présentent de manière purement intrinsèque des augmentations parallèles de la concentration plasmatique de ghréline et de la sensation de faim (Cummings *et al.*, 2004).

La chute de la concentration plasmatique de ghréline est due à la présence d'aliments dans l'estomac et non à la seule distension gastrique, car l'ingestion d'un grand volume d'eau n'en modifie pas la sécrétion (Tschöp *et al.*, 2000). La baisse de la ghrélinémie est d'autant plus importante et prolongée que le repas est riche en calories (Callahan *et al.*, 2004). Les glucides sont les nutriments les plus efficaces pour faire chuter la ghrélinémie, suivis par les protéines, puis les lipides (Cummings *et al.*, 2005).

A la vue de l'ensemble de ces données, et même si certains auteurs ont mis en avant récemment des résultats discordants (Lippl *et al.*, 2011), la ghréline est aujourd'hui considérée comme la seule hormone ayant pour effet de stimuler l'appétit et ayant un rôle dans l'initiation de la prise alimentaire. Elle est considérée aujourd'hui comme un biomarqueur directement lié à la faim (Delzenne *et al.*, 2010).

En plus de ces effets à court terme sur le déclenchement des repas, la ghréline est également supposée jouer un rôle dans la régulation du bilan énergétique à long terme (Tounian *et al.*, 2005). Cette action est suggérée par le fait que la concentration plasmatique de ghréline s'adapte aux fluctuations du tissu adipeux, et ce apparemment dès la naissance (Cummings *et al.*, 2005). Ainsi, les sujets obèses ont une ghrélinémie basse (Tschöp *et al.*, 2001b). Inversement, les patients atteints d'anorexie présentent des concentrations de ghréline augmentées par rapport à des témoins de même âge et de même sexe (Otto *et al.*, 2001).

L'ensemble de ces résultats font aujourd'hui de la ghréline l'une des hormones les plus étudiées dans les travaux explorant la régulation physiologique de l'appétit. En plus de ce rôle de la ghréline dans la régulation de l'appétit, une toute récente revue de littérature de Verhulst *et al.* (2012) met en lumière son rôle potentiel dans la régulation de la glycémie, via un effet inhibiteur sur la sécrétion d'insuline.

1.3.4 Insuline et leptine, des hormones impliquées dans la régulation à long terme

Parallèlement à la ghréline, il existe deux autres facteurs hormonaux principaux impliqués dans la régulation à long terme du bilan énergétique : la leptine et l'insuline. Ces deux hormones ont des effets inverses par rapport à la ghréline en diminuant la prise alimentaire. On les appelle aussi des

signaux d'adiposité, car ils sont générés proportionnellement à la masse adipeuse (Woods *et al.*, 2008).

1.3.4.1 La leptine

La leptine est une hormone produite et sécrétée par le tissu adipeux. Les taux de leptine circulant sont proportionnels à la quantité de masse grasse dans l'organisme et à l'IMC ; ils sont réduits en cas de perte de poids. Les études chez l'animal qui ont décrit sa découverte (Zhang *et al.*, 1994; Campfield *et al.*, 1995; Halaas *et al.*, 1995) ont montré que la leptine a pour action de diminuer la prise alimentaire. Chez l'humain en situation d'équilibre énergétique, le lien entre la concentration en leptine et l'appétit n'est pas avéré. En effet, peu de variations des concentrations en leptine sont observées avant et après un repas, et il ne semble pas y avoir de relation entre la sensation de faim et la concentration en leptine à court terme (Joannic *et al.*, 1998; Romon *et al.*, 1999). Néanmoins, la leptine semble avoir un rôle dans la régulation de l'appétit lorsque les stocks d'énergie changent. Ainsi, un déficit ou un surplus d'énergie supérieur à une durée de 24 heures ont pour effet respectivement une diminution ou une augmentation des concentrations plasmatiques de leptine (Chin-Chance *et al.*, 2000). Les travaux de Mars *et al.* (2003) vont également dans ce sens. Ces auteurs ont trouvé une corrélation négative plus forte entre la leptine et l'appétit après une période de 2 à 4 jours de restriction énergétique, comparativement à avant la période de restriction. A la vue de l'ensemble de ces données, la leptine a été proposée par de Graaf *et al.* (2004) comme biomarqueur de l'appétit à long terme.

1.3.4.2 L'insuline

L'insuline est une hormone produite par le pancréas, connue pour son rôle majeur dans la régulation de la glycémie. L'insuline favorise l'utilisation du glucose dans les cellules, bloque la production hépatique de glucose, inhibe la lipolyse et favorise la conversion des glucides en acides gras en vue de leur stockage dans le tissu adipeux.

Contrairement à la leptine, dont la concentration n'augmente pas significativement après un repas, la sécrétion d'insuline augmente rapidement en réponse à une prise alimentaire (Polonsky *et al.*, 1988). Par ailleurs, sur le long terme, la concentration plasmatique d'insuline est directement liée aux changements d'adiposité, de façon à ce que les taux d'insuline augmentent en situation d'obésité (Bagdade *et al.*, 1967). Dans des études chez l'animal, l'administration expérimentale d'insuline induit à long terme une diminution de la prise alimentaire (Woods *et al.*, 1979) ; l'inhibition de

l'action de l'insuline entraîne une augmentation des apports énergétiques et une prise de poids (McGowan *et al.*, 1992). Les études considérant l'insuline endogène ont mis en évidence une relation inverse entre la concentration d'insuline et la prise alimentaire ou la sensation de faim (Holt *et al.*, 1995). Néanmoins, la concentration d'insuline étant étroitement liée à la glycémie et à de nombreux processus métaboliques, ce type d'études ne permet pas de conclure à un effet direct de l'insuline sur l'appétit à court terme. En revanche, l'insuline aurait un rôle sur le long terme ; il a même été suggéré une communication croisée entre la leptine et l'insuline. L'insuline pourrait avoir un rôle stimulateur dans la production de leptine, alors que la leptine pourrait également affecter la production d'insuline par les cellules pancréatiques (Kieffer *et al.*, 2000).

1.3.5 Intégration de tous ces signaux au niveau du cerveau

L'ensemble des signaux présentés ci-dessus vont agir au niveau du cerveau, plus particulièrement au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus pour stimuler ou inhiber l'appétit et la prise alimentaire, soit à court terme, soit à long terme. Dans le cadre de ce manuscrit, l'objectif n'est pas d'entrer dans le détail des mécanismes de la régulation centrale de l'appétit, mais d'en donner un rapide aperçu.

Au niveau du noyau arqué, deux populations neuronales impliquées dans le relais des signaux liés à l'appétit ont été identifiés : les neurones à NPY/AgRP (pour Neuropeptide Y / agouti related protein) et les neurones à POMC/CART (pour pro-opio-mélanocortine / cocaïne and amphetamine regulated transcript). Il est bien établi que l'activation des neurones à NPY/AgRP induit une augmentation de la prise alimentaire, diminue la dépense énergétique et augmente l'adiposité, alors que l'activation des neurones à POMC/CART produit les effets inverses. Ces populations neuronales sont considérées comme de premier ordre dans l'intégration des signaux périphériques de satiété (Schwartz *et al.*, 2000). Elles interagissent entre elles de manière antagoniste et envoient l'information via des neurotransmetteurs (NPY, AgRP, CART ou α -MSH (α -melanocyte stimulating hormone dont le POMC est un précurseur)) vers les neurones de second ordre. L'intégration de ces signaux antagonistes par des neurones de second ordre se traduit par l'élaboration d'un comportement complexe ayant pour résultat le contrôle de la balance énergétique.

La figure 8 présente schématiquement comment les différents signaux périphériques sont intégrés au niveau du noyau arqué et leurs effets sur la prise alimentaire.

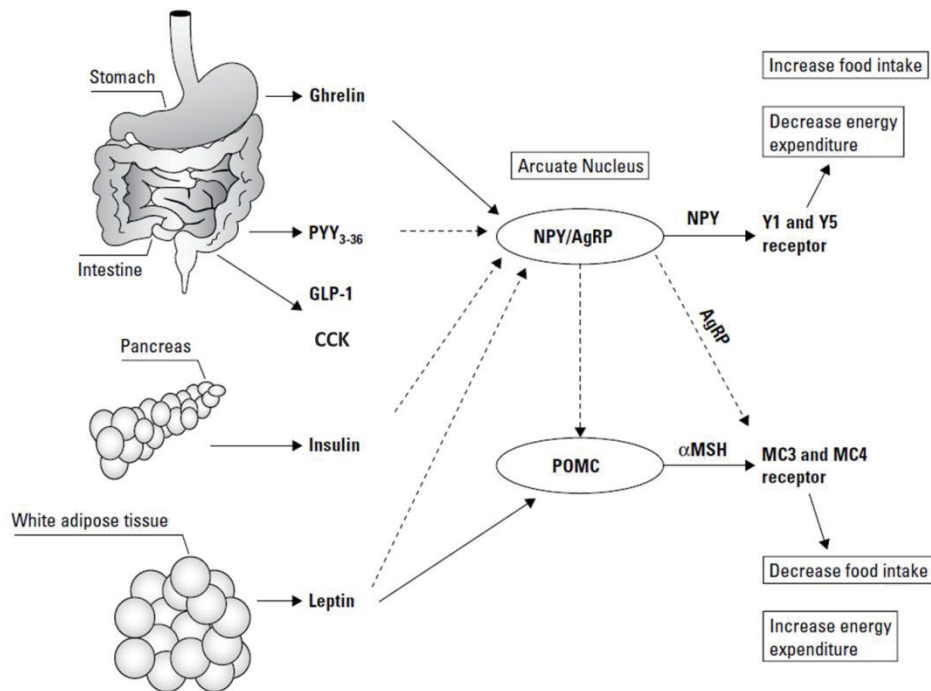


Figure 8 : Influence des signaux périphériques d'appétit sur la balance énergétique. Les lignes continues indiquent des effets stimulateurs, les lignes pointillées indiquent des effets inhibiteurs (adapté de (Murphy *et al.*, 2004)).

1.4 Quels facteurs sont susceptibles de moduler la régulation physiologique de l'appétit ?

Après avoir décrit les mécanismes complexes qui existent dans l'organisme pour contrôler l'appétit et conserver une balance énergétique stable, nous allons présenter les différents facteurs qui peuvent venir moduler voire prendre le dessus sur cette régulation physiologique. Ces facteurs peuvent affecter directement la régulation physiologique de l'appétit ou agir de façon indépendante de nos signaux internes. La revue de ces différents facteurs permet de mettre en lumière la complexité de l'acte alimentaire et de comprendre comment et pourquoi il est courant qu'un individu mange plus que ses besoins physiologiques, mange sans avoir faim, ou encore ne mange pas alors qu'il a faim. Connaître les facteurs qui influencent l'appétit est aussi primordial d'un point de vue méthodologique. Nous verrons dans la suite de ce manuscrit comment tous ces facteurs doivent et peuvent être pris en compte dans un protocole scientifique ayant pour objectif l'étude de l'appétit.

Nous présenterons d'abord les facteurs liés intrinsèquement à l'aliment, puis les facteurs liés à l'individu et enfin, nous détaillerons particulièrement l'importance jouée par l'environnement dans la modulation de l'appétit.

1.4.1 Les facteurs intrinsèques aux aliments

1.4.1.1 Macronutriments, densité énergétique et volume

Tous les aliments que nous consommons ont un effet sur l'appétit. Néanmoins, chaque aliment va affecter différemment le rassasiement ou la satiété. Par exemple, des aliments peuvent contenir la même quantité totale d'énergie, mais être plus ou moins rassasiants, en particulier en fonction de leur contenu en chacun des macronutriments : glucides, lipides, protéines (Holt *et al.*, 1995; Blundell *et al.*, 1996). En d'autres termes, toutes les calories ne sont pas traitées de la même façon par l'organisme. La plupart des études suggèrent que ce sont les protéines qui ont l'impact le plus puissant sur la satiété (Blundell *et al.*, 1997; de Castro, 1999a; Marmonier *et al.*, 2000; Stubbs *et al.*, 2000), suivies des glucides et des lipides, qui seraient les macronutriments les moins rassasiants (Johnstone *et al.*, 1996; Blundell *et al.*, 1997; Stubbs *et al.*, 2000). Il est cependant difficile de faire des généralisations sur cette question, les glucides en particulier formant un groupe très hétérogène (Benelam, 2009). Par ailleurs, cette hypothèse ne fait pas l'unanimité dans la littérature : Raben *et al.* (2003) suggèrent que l'effet des aliments sur l'appétit serait principalement expliqué par leur densité énergétique (c'est-à-dire le contenu énergétique de l'aliment par gramme). Ainsi, ces auteurs ont comparé les effets de repas riches en protéines, lipides et glucides, ajustés sur la densité énergétique et n'ont pas trouvé d'effet différentiel des macronutriments sur la satiété. Ces résultats vont dans le sens de l'hypothèse formulée par Poppitt et Prentice (1996), pour qui les effets différents des nutriments sur le rassasiement s'expliquent par leur densité énergétique et que la taille des repas est déterminée essentiellement par le poids et le volume d'aliments consommés. Ainsi, le fait d'incorporer expérimentalement de l'air dans un aliment afin d'en augmenter le volume, sans modifier le contenu énergétique, induit une augmentation du pouvoir rassasiant de cet aliment (Rolls *et al.*, 2000a).

La question de l'effet sur l'appétit des différents macronutriments et de la densité énergétique des aliments est très documentée dans la littérature et sujette à débat (Gerstein *et al.*, 2004; Bellisle, 2010). C'est un sujet d'étude particulièrement intéressant pour l'industrie alimentaire dans l'optique de formuler des aliments plus rassasiants, et pour les acteurs de santé publique, afin d'orienter vers des choix alimentaires qui favorisent un meilleur contrôle de l'appétit.

1.4.1.2 Fibres et autres composants spécifiques des aliments

La présence naturelle ou l'ajout de composants spécifiques dans certains aliments est susceptible d'avoir un rôle significatif sur l'effet que va procurer cet aliment sur l'appétit. De nombreux travaux ont par exemple montré que l'enrichissement d'un aliment en fibres augmente son pouvoir satiétogène (Slavin *et al.*, 2007). Les fibres, qui sont des polymères glucidiques d'origine végétale, peu ou pas métabolisés par le système digestif humain, ne constituent pas un groupe homogène et n'ont donc pas toutes les mêmes effets sur l'appétit. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer leur effet satiétogène. Entre autres, les fibres solubles, en formant un gel visqueux, augmentent la distension gastrique, ralentissent la vidange gastrique et prolongent le temps de transit des aliments dans l'intestin grêle, ce qui contribuerait à augmenter la sécrétion des hormones anorexigènes par l'intestin (CCK, GLP-1) (Gutzwiller *et al.*, 1999).

Certains composants spécifiques tels que la capsaïcine (Westerterp-Plantenga *et al.*, 2005) qui est le composant actif présent dans le piment et responsable de son caractère piquant, ou des ingrédients tels que « Fabuless », une émulsion lipidique particulière (Burns *et al.*, 2002), ont montré des capacités à diminuer l'appétit et la prise alimentaire. Cependant, ces effets sont relativement faibles et n'ont pas été confirmés dans des études récentes (Smeets *et al.*, 2009; Smit *et al.*, 2011b), mais les recherches sur des composants ou des ingrédients potentiellement satiétogènes sont particulièrement actives.

1.4.1.3 Alcool et satiété

Les résultats expérimentaux de Raben *et al.* (2003) suggèrent que dans des conditions de consommation contrôlée, l'alcool peut stimuler la satiété et réduire la prise alimentaire, au même titre que les glucides, lipides et protéines. Cependant, dans des contextes de consommation plus réalistes, l'alcool ne réduit pas la prise alimentaire et au contraire stimule l'appétit (Westerterp-Plantenga *et al.*, 1999). La consommation d'alcool, par son effet désinhibiteur augmenterait la surconsommation passive d'énergie ; l'alcool augmenterait aussi le plaisir consécutif à la consommation d'aliments, ce qui pourrait expliquer la surconsommation observée (Yeomans, 2004).

1.4.1.4 La structure des aliments

Un autre facteur susceptible de modifier l'effet d'un aliment sur l'appétit est la forme ou la structure sous laquelle cet aliment est consommé. Plusieurs études ont suggéré que la consommation d'énergie sous forme liquide pouvait mener à une consommation excessive d'énergie. En effet, les liquides ne déclencheraient pas la mise en route des signaux de satiété aussi bien que la même quantité calorique ingérée sous forme solide (Almiron-Roig *et al.*, 2003; Mattes, 2006). Toutes les études n'allant toutefois pas dans le même sens, ceci ne permet pas de conclure quant à l'incapacité des calories liquides à déclencher la mise en route des signaux de satiété (Drewnowski *et al.*, 2007). Une étude récente semble néanmoins confirmer que les différentes formes d'un même aliment n'ont pas toutes le même effet satiétogène. En effet, Flood-Obaggy *et al.* (2009) ont montré qu'une pomme consommée entière avant un repas entraînait une consommation moindre au cours de ce repas, comparativement à la consommation de compote de pomme, elle-même étant plus satiétogène que la consommation de jus de pomme.

Même si ce champ de la recherche sur l'appétit donne des résultats parfois contradictoires, l'ensemble des résultats présentés met en évidence le fait que chaque calorie ingérée ne va pas forcément avoir le même effet sur le déclenchement des signaux de satiété. Alors que certains aliments, par exemple riches en fibres, vont avoir un effet satiétogène important, d'autres comme les aliments présentant une densité énergétique élevée sont susceptibles d'avoir l'effet inverse et de provoquer une surconsommation d'énergie.

1.4.2 Les facteurs liés à l'individu

Les facteurs liés aux aliments sont loin d'être les seuls à jouer un rôle dans la modulation de l'appétit. Ainsi, face aux mêmes aliments, tous les individus ne vont pas avoir le même comportement. Les hommes et les femmes ayant des besoins différents, vont avoir des comportements différents face aux mêmes aliments (Benelam, 2009). L'appétit et l'énergie ingérée par les femmes va aussi dépendre des fluctuations de leur cycle hormonal (Lissner *et al.*, 1988). L'âge des individus va également avoir un impact sur l'appétit. Il a par exemple été démontré que le rassasiement sensoriel spécifique avait tendance à diminuer avec l'âge (Rolls *et al.*, 1991). La façon dont un individu apprécie les aliments, l'état émotionnel de la personne, le temps de sommeil ou l'activité physique effectuée précédemment au repas sont autant de facteurs qui peuvent jouer un rôle sur la sensation de faim et la prise alimentaire.

1.4.2.1 L'appréciation des aliments

La palatabilité peut être définie comme étant une mesure subjective du caractère attractif, ou plaisant d'un aliment particulier. La palatabilité pour un aliment particulier dépend donc de chaque individu. Des travaux étudiant l'influence de la palatabilité des aliments sur l'appétit, plus spécifiquement sur la sensation de faim et sur la prise alimentaire, ont mis en avant l'augmentation de l'appétit et de la prise alimentaire quand la palatabilité des aliments augmente (Bellisle *et al.*, 1981; 1984). Si l'ensemble des études expérimentales ne sont pas toutes concordantes (Sorensen *et al.*, 2003), les données récoltées en dehors du laboratoire, à partir de relevés alimentaires, en particulier par de Castro et son équipe (2000a; 2000b) montrent à la fois dans des populations françaises et nord-américaines que les repas notés comme étant les plus palatables sont de taille largement supérieure aux repas dont la palatabilité est basse.

Même si les études en laboratoire ont du mal à prouver clairement l'effet de la palatabilité sur l'appétit, indépendamment des autres facteurs, les données en « vie réelle » indiquent bien un effet stimulateur de l'appétit des aliments les plus palatables.

1.4.2.2 Mémoires d'expériences antérieures et attentes envers les aliments

La mémoire d'expériences alimentaires antérieures va jouer un rôle sur l'envie de manger un aliment en particulier et sur la quantité de cet aliment qui va être consommée. En lien avec cette idée, les notions de satiété et de rassasiement attendus (en Anglais expected satiety et expected satiation) ont été développées par Brunstrom *et al.* (2008). L'idée principale de cette théorie est que la quantité d'un aliment qui va être consommée au cours d'un repas va principalement dépendre des attentes que chaque individu va conférer à cet aliment en termes de pouvoir rassasiant. Cette théorie part du principe que la quantité d'un aliment dont on va se servir dans l'assiette prédit la quantité qui va être consommée, et que les personnes planifient ce qu'ils vont consommer au cours d'un repas avant même le début de ce repas (Brunstrom, 2011). La familiarité, donc l'exposition passée à un aliment, aurait un rôle important dans les attentes que l'on confère à cet aliment en termes de pouvoir rassasiant (Brunstrom *et al.*, 2010). Chaque individu est donc susceptible d'avoir des attentes différentes envers un aliment, s'il est connu, inconnu, fréquemment ou peu souvent consommé. Ces différentes attentes peuvent donc jouer un rôle direct sur l'appétit spécifique envers cet aliment et donc sur sa quantité consommée.

1.4.2.3 Les facteurs psycho-affectifs et cognitifs

L'état émotionnel dans lequel se trouve une personne peut avoir un effet sur son appétit et son comportement alimentaire. Ainsi, les effets d'émotions spécifiques (telles que la colère, la peur), mais aussi de l'humeur, ont été mis en évidence sur la motivation à manger, les choix alimentaires ou encore les quantités ingérées (Macht, 2008). L'effet des émotions sur l'appétit est particulièrement difficile à évaluer, à cause des grandes variations dans les réactions observées entre individus. Le tableau 2 met en évidence que le même stress est susceptible d'induire une augmentation ou une diminution de l'appétit dans un échantillon de personnes. En moyenne, la plupart des individus voient leur appétit modifié en réponse à un stress émotionnel : 30 % répondent par une diminution et 48 % par une augmentation de l'appétit et de l'énergie ingérée (Macht, 2008).

Tableau 2 : Modifications de l'appétit en réponse à un stress émotionnel dans différentes études (tiré de (Macht, 2008)).

Change of eating	N	Reference *
11% more appetite, 70% less appetite	364	Krumbacher and Meyer (1963)
16% more appetite, 38% less appetite	1950	Pudel and Richter (1980)
25% more appetite, 32% less appetite	1024	Pudel (1984)
44% eat more, 48% eat less	80	Willenbring et al. (1986)
4% eat more, 55% eat less	475	Popper et al. (1989)
49% eat more, 51 do not eat more	500	Spillman (1990)
55% eat more, 45% do not eat more	101	Weinstein et al. (1997)
38% eat more, 42% eat less	212	Oliver and Wardle (1999)

* Se référer à la publication originale Macht (2008) pour les références complètes.

Un des paramètres qui peut expliquer certaines de ces différences entre individus est le phénomène de restriction cognitive. Il s'agit d'une restriction volontaire de la prise alimentaire dans l'optique de perdre ou de ne pas prendre de poids. En cas de restriction cognitive, ce ne sont plus les sensations de faim qui règlent la prise alimentaire mais la décision consciente de s'autoriser à manger ou de se l'interdire. Chez ces mangeurs en situation de restriction, le stress ou n'importe quelle émotion peut être plus susceptible d'entraîner une augmentation de la prise alimentaire (Daddoun *et al.*, 2004; Macht, 2008). Dans les études sur l'appétit, il s'avère souvent nécessaire de connaître le degré de restriction cognitive des sujets, voire de sélectionner des sujets en fonction de ce paramètre. Des

questionnaires validés existent pour mesurer le degré de restriction cognitive, tels que le Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ) ou le Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) (Van Strien *et al.*, 1986; Lluch *et al.*, 1996).

1.4.2.4 Rôles du sommeil et de l'activité physique

Parallèlement à l'état psychologique ou émotionnel d'une personne, son état physiologique lié au sommeil ou à l'activité physique va également influencer son appétit.

Des études épidémiologiques ayant mis en évidence une corrélation entre manque de sommeil et obésité (Magee *et al.*, 2008), l'hypothèse a été faite que le manque de sommeil pouvait influencer directement l'appétit. Plusieurs études ont démontré un lien direct entre manque de sommeil et augmentation de la sensation de faim (Spiegel *et al.*, 2004; Schmid *et al.*, 2008). Une des explications serait l'effet du manque du sommeil sur les concentrations plasmatiques de ghréline et de leptine. En effet, il a été démontré qu'un manque de sommeil entraînait une augmentation des concentrations plasmatiques de ghréline et une diminution des concentrations de leptine (Spiegel *et al.*, 2004; Taheri *et al.*, 2004). Enfin, des travaux expérimentaux ont mis en évidence qu'une nuit réduite de 4h, comparée à une nuit de 8h entraînait une augmentation de l'énergie ingérée le jour suivant (Brondel *et al.*, 2010).

L'activité physique a aussi un effet sur la régulation de l'appétit. Il a été démontré que la pratique d'une activité intense menait à une diminution de l'appétit ; ce phénomène appelé « anorexie induite par l'exercice » n'est pas retrouvé après une activité physique de moindre intensité (King *et al.*, 1994; Westerterp-Plantenga *et al.*, 1997). Même si toutes les études ne sont pas unanimes (Stensel, 2010), l'activité physique pourrait entraîner une diminution des concentrations plasmatiques de ghréline (Broom *et al.*, 2007; 2009) et une augmentation de celles de GLP-1 (Martins *et al.*, 2007; Ueda *et al.*, 2009), ce qui constituerait une explication physiologique de l'effet de l'exercice physique sur l'appétit.

Pour résumer, l'ensemble des paramètres pouvant affecter l'appétit, présentés ci-dessus, mettent en évidence qu'il peut exister de grandes variations entre individus dans la manière de répondre à un même stimulus alimentaire. De même, un même individu est aussi susceptible de fournir des réponses variables selon son état émotionnel, son état de repos, ou l'évolution de ses expériences ou connaissances en termes d'alimentation.

Après avoir présenté comment les aliments et les individus eux-mêmes peuvent influencer sur la régulation physiologique de l'appétit, nous allons nous attacher à démontrer l'importance du rôle de l'environnement dans l'appétit.

1.4.3 Les facteurs liés à l'environnement

Notre environnement a un impact sur nos choix alimentaires. Le premier élément à prendre en compte est la disponibilité des aliments. Au niveau d'une population, la quantité des aliments disponibles a un impact sur les quantités d'aliments ingérés. Il a été démontré que le passage d'un mode de vie traditionnel (alimentation obtenue par la chasse, la cueillette, voire une agriculture et un élevage traditionnels) à un mode de vie urbain occidental (alimentation facilement disponible, abondante et bon marché) se traduit par une augmentation des quantités ingérées (Daddoun *et al.*, 2004). Nous allons, dans un premier temps, présenter en quoi l'environnement culturel, familial économique ou social peut influencer sur nos choix et notre appétit. Puis, nous nous attacherons à mettre en avant l'importance de l'environnement physique sur nos consommations alimentaires.

1.4.3.1 Environnement culturel, familial, économique

D'après Rozin (1982), la culture dans laquelle vit un individu est le facteur qui détermine le plus fortement ses choix alimentaires. La culture détermine ce qui peut être mangé et les modalités de préparation des aliments. Elle détermine également les limites de ce qui est « dégoûtant ». La culture peut aussi directement influencer sur la façon dont un individu va gérer ses signaux internes de satiété. Les études réalisées dans la province d'Okinawa au Japon, célèbre pour l'espérance de vie très élevée de ses habitants, ont montré que ceux-ci arrêtent de manger naturellement avant d'être totalement rassasiés, après avoir atteint environ 80 % du sentiment de plénitude (Willcox *et al.*, 2001). Ce « contrôle culturel de l'appétit » serait en partie responsable de la bonne santé de ses habitants et de la concentration la plus importante de centenaires au monde dans cette région (Willcox *et al.*, 2001). La culture peut également influencer la façon dont nous régulons notre appétit via les normes culturelles relatives à la perception du corps et en particulier comment l'obésité est perçue. Par exemple, des études aux Etats-Unis ont montré que dans la population « Latino », des parents d'enfants obèses considèrent que leur enfant présente un poids normal, et ne sont pas du tout préoccupés par le statut corporel de leur enfant (Caprio *et al.*, 2008).

Ce dernier exemple met en avant que non seulement la culture, mais aussi l'environnement familial va jouer un rôle primordial dans les comportements alimentaires des enfants... et des futurs adultes qu'ils deviendront. Les comportements des parents ont de nombreuses répercussions sur celui des enfants. Deux types de comportement par rapport à l'appétit méritent d'être précisés. Tout d'abord, les parents qui exigent de leur enfant de terminer leur assiette, quel que soit son état de faim, pourraient avoir une influence sur la perte des capacités naturelles de l'enfant à être à l'écoute de ses signaux internes de faim et de satiété (Birch *et al.*, 1987). L'influence familiale peut également conduire l'enfant à surconsommer et à manger en l'absence de faim. En effet, il a été mis en évidence que l'interdiction de consommer certains aliments à la maison, focalise l'attention de l'enfant sur l'aliment interdit et augmente son désir de le consommer (Birch *et al.*, 2003).

L'environnement économique va lui aussi dicter les choix alimentaires. Une corrélation inverse existe entre le coût des produits alimentaires et leur densité énergétique. Les foyers les moins aisés achètent globalement des aliments plus riches en lipides et en sucres, qui représentent le rapport énergie/coût le plus élevé, et peu de produits frais, dont la densité énergétique est plus faible et le coût plus élevé (Drewnowski *et al.*, 2005). Or, pour la même quantité d'énergie ingérée, la consommation d'aliments plus denses en calories induit une taille de portion réduite ; ce qui, comme on l'a vu précédemment, pourrait induire un rassasiement moindre que la consommation d'une portion de même valeur calorique, mais de plus grande taille. Aussi, les contraintes budgétaires d'une personne ou d'un foyer, mais aussi les prix des aliments et, à un niveau macroéconomique, tous les déterminants de ces prix (politiques publiques, progrès technologique, ...) vont influencer fortement les choix alimentaires.

1.4.3.2 Rôle de la situation sociale

Le contexte social dans lequel a lieu un repas ou une prise alimentaire est susceptible de modifier la prise alimentaire. Des travaux réalisés aux Etats-Unis à partir de relevés alimentaires, ont fait apparaître que l'un des facteurs déterminants de la taille de la ration ingérée au cours d'une prise alimentaire est le nombre de personnes présentes (de Castro *et al.*, 1989). On parle d'un effet de « facilitation sociale » qui apparaît parfois plus puissant que l'intensité de la faim ressentie au début du repas (de Castro, 1995). Cet effet de facilitation sociale a été observé dans d'autres cultures, dont les Pays-Bas et la France (de Castro *et al.*, 1997), et aussi par le biais d'autres méthodologies, telles que l'observation de personnes dans des lieux publics de restauration (Feunekes *et al.*, 1995; Sommer *et al.*, 1997), ou des études en laboratoire. Par exemple, il a été observé que des étudiants

en situation expérimentale mangent plus de glace lorsqu'ils sont en groupe que lorsqu'ils sont seuls (Berry *et al.*, 1985). La facilitation sociale a été observée indépendamment du type de prise alimentaire et du lieu de cette prise (de Castro *et al.*, 1990). La durée plus élevée des repas lorsque le nombre de personnes présentes augmente pourrait être l'une des explications de cet effet (de Castro, 1997). Par ailleurs, si la facilitation sociale est d'une part susceptible d'augmenter les quantités consommées au cours d'un repas, elle peut d'autre part prendre le dessus sur la régulation post-prandiale de l'appétit en facilitant des prises alimentaires hors-repas en période de satiété physiologique (Stroebele *et al.*, 2004).

Plus le nombre de personnes présentes au cours de l'épisode alimentaire augmente, plus la quantité totale ingérée augmente (de Castro *et al.*, 1992). L'augmentation observée est en moyenne de 44 %, mais peut atteindre jusqu'à 96 % lorsque plus de sept personnes sont présentes au repas. De Castro a aussi mis en évidence que cet effet est différent en fonction des relations existant entre les personnes. Ainsi, des repas pris en famille ou entre amis vont entraîner une facilitation sociale plus importante que des repas pris entre collègues de travail par exemple (de Castro, 1994). Dans une étude qualitative menée par Kristensen *et al.* (2002) sur la perception de la satiété, de nombreux sujets interrogés ont rapporté prendre plaisir à manger avec excès avec des amis et aimer la sensation de rassasiement extrême dans ce contexte social. En revanche, ces mêmes personnes ont déclaré éviter cette situation en compagnie de personnes qu'elles ne connaissent pas très bien. Enfin, manger en compagnie d'un partenaire considéré comme attractif peut amener à réduire la quantité ingérée ; ceci a particulièrement été observé chez des sujets de sexe féminin (Pliner *et al.*, 1990).

1.4.3.3 Importance de l'environnement physique

De nombreux autres facteurs liés à l'environnement physique peuvent moduler la consommation d'aliments ou de boissons au cours d'une prise alimentaire.

1.4.3.3.1 La taille de la portion

L'augmentation de la taille moyenne des portions alimentaires aux Etats-Unis (servies dans les lieux de restauration hors-foyer ou proposées par l'industrie alimentaire, par le biais du type de conditionnement) a été incriminée dans l'augmentation de la prévalence de l'obésité depuis les années 1970 (Young *et al.*, 2002). Depuis, plusieurs études ont mis en évidence que plus la portion servie à des sujets est grande, plus la quantité consommée par ces sujets va augmenter (Diliberti *et*

al., 2004; Levitsky *et al.*, 2004; Ello-Martin *et al.*, 2005), suggérant que la taille de la portion est capable de prendre le dessus sur la régulation homéostatique de l'appétit. Cet effet a été observé à la fois à court terme (sur un seul repas), mais aussi à plus long terme, sur des périodes de plusieurs jours (Rolls *et al.*, 2006; 2007). De manière intéressante, il a été montré que l'augmentation de la taille de la portion servie n'entraîne pas une augmentation de la quantité consommée chez le jeune enfant de moins de trois ans (Rolls *et al.*, 2000b), ce qui suggère que les jeunes enfants sont plus sensibles à leurs signaux internes de satiété et que cette sensibilité tend rapidement à s'estomper peut-être en réponse aux sollicitations répétées des parents incitant les enfants à finir leur assiette, sans prendre en compte leur état de faim.

Il a également été suggéré que la modification de la taille des couverts (assiettes, bol ou cuillères) pouvait avoir un effet sur la prise alimentaire en modifiant la perception de la taille de la portion. En effet, la même portion d'aliments apparaît plus grande dans une assiette de petite taille que dans une assiette de grande taille (Smith *et al.*, 2009). Cependant, les quelques études ayant exploré cette question ont abouti à des résultats contradictoires. Wansink *et al.* (2005; 2006) ont rapporté des prises alimentaires plus importantes avec l'utilisation de bols et de cuillères plus grandes, alors que d'autres travaux (Koh *et al.*, 2009; Shah *et al.*, 2011) ne rapportent aucune différence dans les quantités consommées.

1.4.3.3.2 La variété alimentaire

Nous venons de voir que la taille de la portion semble pouvoir prendre le dessus sur les signaux physiologiques de satiété. De nombreuses études ont également mis en évidence que l'augmentation de la variété d'aliments directement disponible était susceptible d'induire une augmentation de l'énergie totale ingérée, via le phénomène de rassasiement sensoriel spécifique (Rolls *et al.*, 1989). L'introduction d'une variété plus importante d'aliments, d'arômes ou de textures dans un repas aurait pour effet de maintenir un intérêt pour les aliments, ce qui retarderait le rassasiement et augmenterait à la fois la durée et la taille du repas (Hetherington *et al.*, 2006). Par exemple, l'augmentation de la variété alimentaire au cours d'un repas a permis d'observer une augmentation de la quantité d'énergie consommée de 14 à plus de 40 % (Rolls *et al.*, 1981a; 1982). L'addition de condiments (ketchup, mayonnaise,...) dans un repas diminue également le rassasiement sensoriel spécifique et augmente la quantité consommée de 25 à 40 % (Brondel *et al.*, 2009). Par ailleurs, en augmentant simplement le nombre de couleurs d'un assortiment de bonbons de même goût, la quantité de bonbons consommés augmente aussi significativement (Wansink, 2004).

Si l'effet de la variété d'aliments sur la régulation à court terme de l'appétit semble clairement démontré, son effet à long terme n'est pas clair. En effet, on ne sait pas si l'augmentation de la variété d'aliments consommés induit une augmentation chronique des prises alimentaires (Benelam, 2009). En revanche, il semble que la consommation répétée de certains aliments pourrait sur le long terme diminuer l'envie de les consommer, mais ceci ne serait pas le cas pour les aliments de base, tels que le pain, ou pour les aliments fortement palatables (Rolls, 1986).

1.4.3.3.3 L'accessibilité aux aliments

La proximité physique d'un aliment va également influencer sur la consommation de cet aliment. Il a été démontré que la consommation d'eau était plus importante lorsque la carafe d'eau est située sur la table, comparativement à d'autres endroits dans la pièce (Engell *et al.*, 1996). Le même lien a été observé entre l'accessibilité de desserts et leur consommation (Meyers *et al.*, 1980) et entre la consommation de lait et le positionnement du distributeur de lait dans un restaurant scolaire (Lieux *et al.*, 1992). Il semble donc que plus l'effort à fournir pour obtenir un aliment est important, plus sa consommation va en être diminuée (Stroebele *et al.*, 2004). De façon intéressante, ce phénomène a conduit récemment à imaginer une stratégie de santé publique, appelée « nudging », qui consiste à modifier l'espace public dans l'optique de « pousser du coude » les consommateurs en direction des comportements et des choix de consommations les plus sains (Marteau *et al.*, 2011). Par exemple, dans une étude récente, le nudging a permis dans une cafétéria pour étudiants d'augmenter de 18 % les ventes d'aliments « sains », alors que la consommation d'aliments moins sains a diminué de près de 30 % (Hanks *et al.*, 2012).

1.4.3.3.4 Le lieu et l'ambiance de consommation

Le lieu de consommation d'un repas peut affecter la qualité et la quantité d'aliments ingérés. Ainsi, plusieurs études ont démontré que les repas pris dans un restaurant ou dans un fast-food sont généralement plus copieux que les repas pris au domicile (Clemens *et al.*, 1999; de Castro *et al.*, 2002). Les repas pris dans un fast-food seraient aussi plus copieux que les repas pris dans un restaurant traditionnel (Klesges *et al.*, 1984). Ces différences observées peuvent être dues au lieu de consommation en lui-même, mais également à l'offre alimentaire qui est proposée. Quelques auteurs ont étudié l'effet du lieu de consommation sur l'appréciation du même repas, indépendamment de l'offre alimentaire. Meiselman *et al.* (2000) ont montré que les mêmes repas, servis dans des lieux différents étaient appréciés de façons différentes. Ces auteurs ont montré qu'un

repas était globalement plus apprécié dans un restaurant que dans une cafétéria pour étudiants. Par ailleurs, l'appréciation générale, le goût, la texture et la couleur d'un même plat ont tous été mieux notés dans un restaurant que dans un laboratoire, alors que les notes données dans une cafétéria étaient toutes inférieures aux précédentes (Meiselman *et al.*, 2000). Ces différences observées sont probablement expliquées en grande partie par les attentes différentes qu'ont les consommateurs envers chacun de ces lieux.

Peu d'études se sont intéressées à l'impact du lieu de consommation sur la consommation effective. Bell *et al.* (1994) ont totalement modifié l'ambiance d'un restaurant en créant une atmosphère typiquement italienne (décoration, menu écrit en Italien) et ont comparé les appréciations et consommations du même repas pris avec la décoration classique de ce restaurant. Dans la condition italienne, tous les plats ont été considérés comme étant plus « italiens » et les consommateurs ont également consommé plus de desserts que dans la condition contrôle. Elmstahl *et al.* (1987) ont étudié l'effet d'une modification de la décoration d'une salle à manger dans un service de gériatrie à long terme. Ils ont observé qu'en créant une salle à manger typique des années 1940 avec des tableaux, tapis et porcelaines par exemple, la quantité totale d'énergie ingérée était plus importante qu'en condition contrôle. Dans une étude assez similaire réalisée sur une année entière (Mathey *et al.*, 2001), il a également été montré que les participants qui prenaient leurs repas dans un environnement réarrangé, plus « familier », mangeaient plus. Cette hausse de la consommation chez ces patients dénutris a permis une prise de poids et une stabilisation des biomarqueurs de santé, comparativement à un groupe contrôle.

En plus des éléments de décoration qui permettent de recréer des contextes particuliers, plusieurs autres éléments d'ambiance sont susceptibles d'avoir un effet sur l'appétit. L'illumination du lieu de consommation a un effet sur le comportement alimentaire. Une lumière vive est capable de stimuler la prise alimentaire en famille ; une lumière tamisée favorise l'ingestion d'aliments le soir. Une lumière vive incite à manger plus vite alors qu'une lumière douce ralentit la consommation (Stroebele *et al.*, 2004). La température ambiante agit également sur la consommation et sur les choix alimentaires. Une température basse induit une consommation plus importante, alors qu'une température élevée diminue la consommation (Herman, 1993). Des études auprès de consommateurs ont par ailleurs montré que les ventes de soupes et de produits de boulangerie diminuent en été (Stroebele *et al.*, 2004). Les bruits et la musique affectent la consommation alimentaire. Des bruits désagréables peuvent par exemple l'augmenter (Ferber *et al.*, 1987). Il a été mis en évidence un effet du tempo de la musique sur le rythme de consommation des aliments : un tempo rapide peut accélérer l'ingestion d'aliments (Roballey, 1985). Généralement, la présence de musique est associée à une augmentation de la durée du repas et à l'augmentation de l'énergie ingérée (Stroebele *et al.*, 2006), même si les préférences musicales des individus peuvent affecter le

temps passé à manger et la taille du repas (North, 1996). L'odeur de l'environnement peut elle aussi moduler l'appétit. Par exemple, l'odeur du pain frais augmente l'envie de manger du pain ainsi que la disposition à acheter du pain par des consommateurs (Schifferstein *et al.*, 1996).

1.4.3.3.5 La distraction

Des éléments liés à l'environnement favorisant ou diminuant l'attention portée à ce que l'on mange, vont avoir des conséquences sur ce qui est ingéré. C'est l'effet de la présence de la télévision au cours des repas qui a été le plus étudié. Plusieurs études ont montré que la présence de la télévision induit une augmentation de ce qui est ingéré au cours d'un repas, comparativement à un repas composé des mêmes aliments mais sans télévision (Bellisle *et al.*, 2004; Blass *et al.*, 2006). En revanche, la sensation de satiété après ces repas n'est pas affectée. Le contenu du programme télévisé, avec ou sans publicité pour des produits alimentaires, ne semble pas moduler cet effet chez des adultes (Bellisle *et al.*, 2004). D'autres formes de distraction produisent les mêmes effets sur la prise alimentaire ; par exemple le fait d'écouter une histoire captivante à la radio peut aussi augmenter la taille du repas (Bellisle *et al.*, 2001). Il est également intéressant de constater que le fait de regarder la télévision pendant un repas, en plus d'influer sur la quantité ingérée au cours de ce repas, peut stimuler la prise alimentaire au cours de la collation suivante (Higgs *et al.*, 2009). La présence de la télévision pendant le repas empêcherait la formation d'une trace mnésique adéquate au repas ; or, le souvenir de ce qui a été consommé précédemment est un facteur qui limite la consommation future (Higgs, 2002).

1.5 Bilan et implications méthodologiques : dans quel contexte doit-on étudier l'appétit ?

Ce premier chapitre a mis en avant la complexité de ce concept global qu'est l'appétit et des autres concepts plus spécifiques qui lui sont associés : la faim, la satiété et le rassasiement. Ces notions mettent en jeu à la fois des données liées aux individus, telles que leur physiologie ou leur psychologie, des données liées aux aliments, telles que leur composition en macronutriments ou la présence de composants spécifiques, et enfin des données liées au macro-environnement (culture, environnement socio-économique) ou à l'environnement plus rapproché (caractéristiques physiques et sociales). La figure 9 nous offre une représentation graphique de cette complexité, en schématisant les interactions qui existent entre physiologie et comportement en réponse à des stimuli alimentaires.

L'appétit n'est donc pas une notion qui appartient à un champ disciplinaire spécifique, mais est à la croisée de très nombreuses disciplines. Aussi, l'appétit est à la fois étudié par des endocrinologues, des psychologues, des chercheurs en sciences sensorielles ou en technologie alimentaire, des épidémiologistes, des sociologues ou des économistes. Chaque discipline aborde l'appétit avec ses méthodologies spécifiques et il existe relativement peu d'échanges méthodologiques entre les disciplines. Une des premières questions méthodologiques qui se pose dans l'ensemble de ces disciplines, lorsque l'on veut étudier l'appétit est : « dans quel contexte doit-on étudier l'appétit ? ».

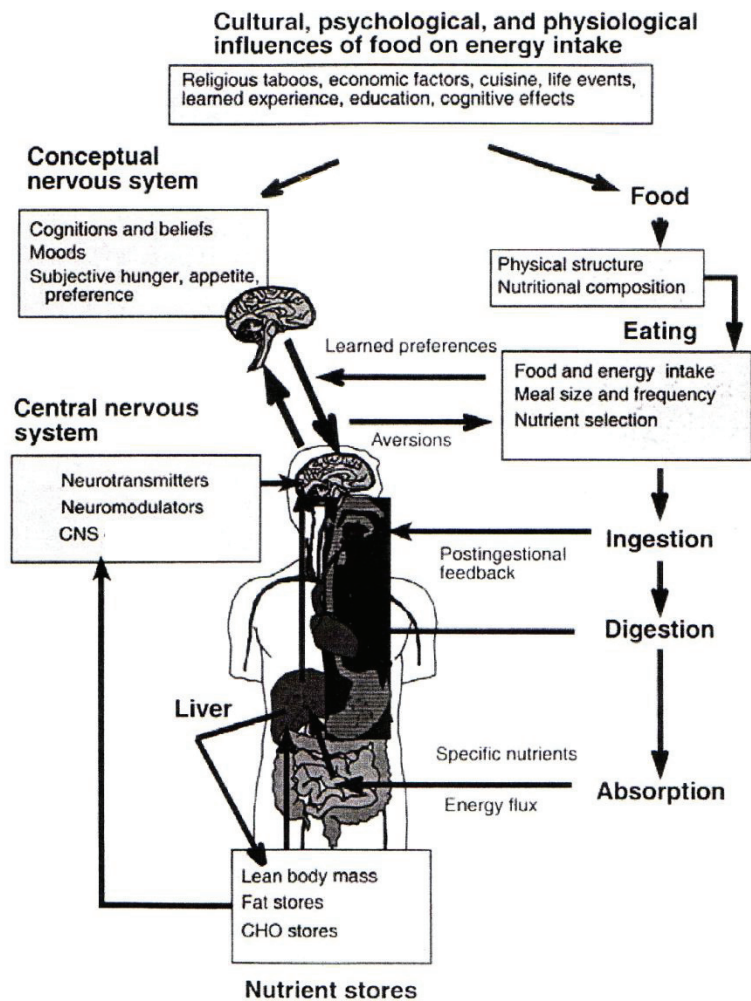


Figure 9 : Représentation schématique des interactions entre environnement, aliments, physiologie, psychologie et comportements alimentaires (tiré de (Blundell *et al.*, 2003))

A la vue de ce premier chapitre, il peut sembler évident que l'appétit doit être étudié en laboratoire, donc dans un environnement où l'on peut contrôler un grand nombre de paramètres, si l'on souhaite isoler l'effet d'un paramètre spécifique sur l'appétit. Un point de vue alternatif, est que l'appétit doit

être étudié en situation de vie réelle étant donné l'impact important que peuvent avoir les paramètres environnementaux sur les choix alimentaires et les quantités ingérées. Cette question a fait l'objet de nombreux débats scientifiques. Il y a une vingtaine d'années, par exemple, Meiselman (1992) mettait en avant la nécessité, dans les recherches concernant l'appétit et le comportement alimentaire humain, de travailler avec de vraies personnes (par opposition à des sujets d'étude), consommant de vrais repas dans des vrais contextes de restauration. Kissileff (1992) répondait à cette proposition en mettant en avant l'intérêt de travailler en laboratoire pour obtenir des données plus précises dans un environnement contrôlé. La figure 10 présente schématiquement les avantages et inconvénients de chacune de ces deux options.

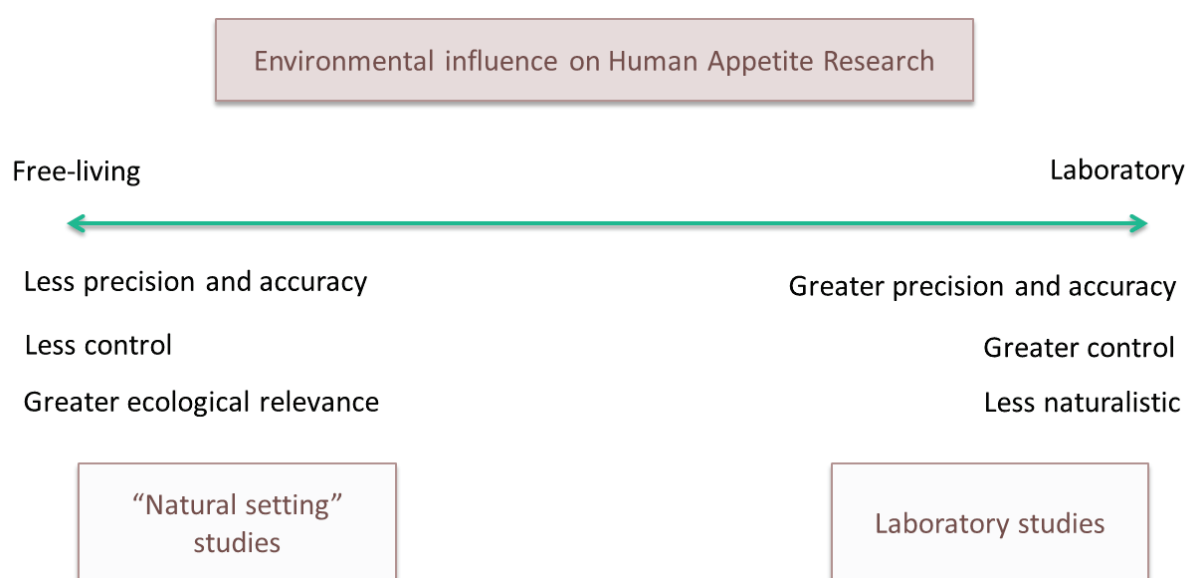


Figure 10 : Avantages et inconvénients des études sur l'appétit menées en vie réelle et en laboratoire (adapté de (Blundell *et al.*, 2009))

Les études sur l'appétit nécessitent le plus souvent des mesures de consommations alimentaires. Alors qu'il est relativement aisé d'obtenir en laboratoire des mesures de consommations fiables et précises, la collecte de données de consommation en vie réelle entraîne de très fréquentes erreurs. Les consommations étant dans ce cas le plus souvent déclarées au lieu d'être mesurées comme en laboratoire, on observe fréquemment des phénomènes de sous-déclaration de la consommation de certains types d'aliments ou de prises alimentaires (Livingstone *et al.*, 2003). Les études en laboratoire présentent comme autre avantage de permettre le contrôle de nombreux facteurs environnementaux pouvant influencer sur l'appétit et susceptible de jouer le rôle de facteur confondant dans les études en vie réelle. Ce dernier point rend d'ailleurs l'interprétation des données récoltées en vie réelle souvent difficile (Benelam, 2009). Pour ces raisons, la validité interne (qui est définie par

Myers *et al.* (2003) comme étant la certitude avec laquelle un chercheur peut dire que les changements de comportement observés en fonction des conditions de traitement ont été réellement causés par la variable dépendante) est donc le plus souvent bien plus élevée pour les études réalisées en laboratoire, que pour celles réalisées en vie réelle. En revanche, les études en laboratoire ne prennent pas en compte tous les paramètres environnementaux naturellement présents dans notre vie quotidienne, ce qui leur confère une faible validité externe de par le caractère souvent peu écologique des situations de repas proposées (Blundell *et al.*, 2010), c'est-à-dire ne ressemblant pas à des situations de vie réelle (Le Gall *et al.*, 2001). La validité externe a été définie par Myers *et al.* (2003) comme la qualité des résultats d'une expérience pouvant être généralisés ou appliqués à d'autres individus et à d'autres situations qui n'ont pas été directement testés. Il est ainsi parfois difficile d'extrapoler des résultats obtenus en laboratoire à des situations de vie réelle dans lesquelles les personnes ne sont pas soumises aux mêmes conditions environnementales ; la question se pose dans tous les cas de la pertinence de ces extrapolations (Benelam, 2009).

Etudier l'appétit en laboratoire ou en vie réelle ne va pas non plus permettre de choisir les mêmes variables d'intérêt. Nous avons vu précédemment que certaines hormones pouvaient jouer le rôle de biomarqueurs de la faim (ghréline) ou de la satiété (GLP-1). La réalisation de prélèvements sanguins, en particulier dans l'optique de réaliser des cinétiques de concentrations plasmatiques de ces hormones, implique souvent de faire venir les sujets dans une structure médicalisée. De plus, on a vu que l'appétit était étudié en particulier pour son rôle dans l'équilibre de la balance énergétique. De ce fait, il est parfois pertinent d'étudier simultanément à l'appétit, l'autre versant de la balance énergétique, comme par exemple la thermogénèse induite par le repas. Ce type de mesures qui se fait grâce à un calorimètre, appareil mesurant les échanges gazeux respiratoires, permet de récolter d'autres données d'ordre métabolique. Ainsi, les oxydations glucidique et lipidique peuvent être mesurées grâce à ce dispositif. Ces paramètres sont très informatifs sur la façon dont sont utilisés les substrats énergétiques, par exemple ils permettent de répondre à des questions du type : « les lipides ingérés sont-ils préférentiellement oxydés, où est-ce la voie de stockage qui va être privilégiée ? ». Ces données métaboliques sont donc complémentaires aux données sur l'appétit et peuvent permettre d'avoir une vision plus globale de l'effet de paramètres d'intérêt sur la balance énergétique. Néanmoins, ce type de mesures implique également que l'étude soit réalisée dans un centre de recherche clinique.

L'ensemble de ces considérations met en lumière la nécessité de faire des compromis dans la mise en place d'une étude sur l'appétit, afin de privilégier la validité interne des résultats et le champ plus large des paramètres que l'on peut explorer, ou la validité externe et le caractère écologique de

l'étude, permettant d'obtenir des résultats plus facilement extrapolables au monde réel. Plusieurs auteurs et en particulier Blundell *et al.* (2003; 2010) ont mis en avant le besoin d'imaginer des approches permettant de combler le fossé entre laboratoire et vie réelle, par exemple par la mise en place de protocoles qui permettent l'exploration du même paramètre d'intérêt dans des contextes de recherche différents.

Dans la partie méthodologique de ce manuscrit (partie B), nous présenterons les méthodologies habituellement utilisées pour étudier l'appétit, ainsi que la méthodologie que nous avons imaginée, validée et mise en œuvre lors de ce projet de thèse. Il s'agit d'une méthodologie expérimentale avec duplication du même protocole dans deux lieux de recherches différents : un centre de recherche clinique permettant une exploration physiologique de l'appétit et de la balance énergétique en incluant des paramètres métaboliques, et un centre de recherche permettant une exploration comportementale de l'appétit dans un contexte écologique.

Avant cela, nous allons dans le chapitre suivant présenter l'état des connaissances scientifiques sur les liens existant entre la fréquence des prises alimentaires et la balance énergétique et en particulier l'appétit. En effet, après avoir défini l'appétit, présenté les mécanismes connus de régulation et les éléments susceptibles de moduler cette régulation, nous allons fixer notre attention sur un facteur non abordé dans le présent chapitre qui se termine : le facteur temporel. Plus particulièrement, le nombre de nos prises alimentaires quotidiennes a-t-il des effets sur notre appétit et plus largement sur notre balance énergétique, et quels sont les effets connus à ce jour ?

Chapitre 2 : Fréquence des prises alimentaires, quels effets sur l'appétit et la balance énergétique ?

La littérature scientifique sur les liens entre ce que nous mangeons (en termes de quantité et de qualité) et notre état de santé est pléthorique. En revanche, beaucoup moins de travaux ont été réalisés pour déterminer les relations entre « quand » nous mangeons et notre santé. Nous nous intéressons plus particulièrement aux liens existant entre le nombre de prises alimentaires par jour et l'état de santé, pour les raisons que nous avons exposées dans l'introduction générale de ce manuscrit.

Quelques auteurs se sont intéressés aux relations pouvant exister entre la fréquence des prises alimentaires et le cancer colorectal, mettant en avant les conséquences potentiellement délétères de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur l'apparition de cancer (Tseng *et al.*, 2000; Coates *et al.*, 2002), même si ces résultats ont été récemment remis en question (Mekary *et al.*, 2012b). D'autres ont mis en avant l'effet délétère de l'augmentation des prises alimentaires sucrées dans la journée sur l'apparition de caries dentaires (Kandelman, 1997). Mais, la grande majorité des auteurs sur la thématique ont recherché les effets potentiels de la fréquence des prises alimentaires sur la balance énergétique (via l'appétit ou la dépense énergétique) ou le métabolisme. Plusieurs approches sont possibles pour étudier ces questions : les études chez l'animal, ou chez l'Homme, les enquêtes épidémiologiques, les essais d'intervention et les travaux expérimentaux. Avant de passer en revue chacune de ces approches, nous allons dans un premier temps préciser un des éléments qui rend parfois difficile la comparaison entre les différentes études : la définition de la terminologie. Certains auteurs étudient la fréquence des repas, d'autres les effets du grignotage, beaucoup parlent de snacking,... mais le même terme n'a pas le même sens pour tous les auteurs.

2.1 Repas, snacking, grignotage,... de quoi parle-t-on ?

2.1.1 Repas et déstructuration des repas

Qu'est-ce qu'un repas ? La plupart des auteurs n'en proposent pas de définition élaborée. Il est plus ou moins implicitement convenu qu'un repas est une prise alimentaire consommée à heures régulières au cours de la journée et répondant à certaines règles de temps, de lieu et d'action (Latreille *et al.*, 2008). Douglas et Nicod (1974), dans un article en anthropologie de l'alimentation, définissent le repas comme étant une prise alimentaire structurée ; une prise alimentaire renvoyant à toute ingestion de nourriture, quelle qu'en soit la nature, et un événement structuré se définissant comme toute occasion sociale répondant à un ensemble de règles relatives au temps, à l'espace et à la séquence d'actions.

La déstructuration de l'alimentation et des repas, observée depuis quelques dizaines d'années, est bien décrite par les sociologues de l'alimentation (Fischler, 1979; Herpin, 1988; Poulain, 2002b). Elle repose sur cinq éléments selon la grille proposée par Herpin (1988). La dé-concentration consiste en un transfert des nourritures ingérées au cours des traditionnels repas, au profit des « petites » prises alimentaires au cours de la journée. La dés-implantation renvoie au fait que les « nouvelles » prises alimentaires observées en dehors des repas, ont lieu à des heures variables. La dé-synchronisation renvoie au fait que ces prises alimentaires ne permettent souvent plus de communiquer entre membres d'une même famille ou entre collègues et amis. La dé-localisation signifie que les « nouvelles » formes d'alimentation ne sont pas prises dans un lieu privilégié comme le repas « traditionnel » est pris à domicile, dans la cuisine ou la salle à manger. Enfin, la dé-ritualisation indique que les « nouveaux » rythmes alimentaires ne privilégient plus aussi nettement qu'autrefois les événements alimentaires rituels.

2.1.2 Snacking et grignotage ; quelles définitions ?

Comment appeler ces nouvelles prises alimentaires en dehors des repas principaux, et comment les définir ? En langue anglaise, on parle le plus souvent de « snacks ». En Français, le mot « snack » est également utilisé, mais on emploie aussi les termes « collation » ou « grignotage ». D'un point de vue sociologique, le terme « snack » est défini par Douglas (1979) comme étant une prise alimentaire non structurée. Il s'agit d'une prise alimentaire qui est dé-concentrée et/ou dés-implantée et/ou dé-synchronisée et/ou dé-localisée. Si l'on sort du champ des sciences humaines, on se rend compte que les chercheurs étudiant les conséquences de ces nouvelles prises alimentaires sur la santé emploient pour la plupart le terme « snack » ou « snacking », mais utilisent tous des définitions de ces termes bien différentes, en portant leur attention sur l'un ou l'autre des éléments ci-dessus, dés-implantation ou dé-concentration principalement.

Certains auteurs font ainsi la distinction entre repas et snacks en fonction de l'heure de consommation. Par exemple, selon Gregori et Maffei (2007), les aliments consommés entre 8h et 10h, 12h et 14h, 18h et 20h peuvent être considérés comme des repas ; en dehors de ces heures, il s'agit de snacks. D'autres auteurs se basent sur la nature même de l'aliment pour définir un snack (Wurtman *et al.*, 1993), leur composition nutritionnelle permettant alors de classer les snacks en deux catégories : snacks de haute qualité nutritionnelle (par exemple une pomme ou un verre de lait) et snacks de faible qualité nutritionnelle (tels que des glaces ou des bonbons). Ce type de classification laisse la place à une grande subjectivité, aucune classification objective des aliments de type « snack » n'étant actuellement disponible (Johnson *et al.*, 2010). Une troisième méthode

consiste à définir un repas (vs. un snack) non pas en fonction de l'heure de consommation et de la qualité nutritionnelle de l'aliment ingéré, mais en fonction des groupes d'aliments qui sont consommés ensemble. Par exemple, un repas a été défini comme des aliments consommés ensemble et qui apportent au minimum 90 kcal pour certains auteurs (Bernstein *et al.*, 1981) ou 375 kcal pour d'autres (McBride *et al.*, 1990). De Castro (1993) a combiné l'énergie ingérée et l'intervalle de temps entre les épisodes alimentaires pour faire la distinction entre snacks et repas. Une autre stratégie consiste à laisser la liberté aux participants à l'étude de définir eux-mêmes leurs prises alimentaires comme étant un repas ou un snack (Jahns *et al.*, 2001; Nielsen *et al.*, 2002). Une étude qualitative réalisée par Bisogni *et al.* (2007) a montré qu'en fonction des consommateurs, les snacks peuvent faire référence à des épisodes alimentaires pris seul, ou en étant engagé dans une autre activité au travail, ou, à la maison, quand seulement un aliment est consommé, et ce en dehors des heures traditionnelles de repas. La stratégie de laisser chaque participant d'une étude libre de donner sa définition des snacks peut donc entraîner des variations très importantes entre individus dans la définition considérée. Louis-Sylvestre (2000) a proposé une définition physiologique du grignotage, qui serait désigné par les prises faites en état de « non-faim physiologique », c'est-à-dire les prises suscitées par l'ennui, le stress, l'occasion sociale. Enfin, d'autres auteurs ont implicitement considéré la fréquence du snacking comme étant synonyme de la fréquence des prises alimentaires (Kirk, 2000), alors que dans un grand nombre d'études, la définition n'est pas explicitement précisée (Gregori *et al.*, 2007).

Ces définitions variées du snacking rendent difficiles les comparaisons entre les travaux qui étudient ses effets sur la santé. Les résultats allant en faveur ou à l'encontre du snacking ou du grignotage dépendent en partie de la définition utilisée, ce qui complique par extension la mise en place de recommandations en termes de santé publique (Johnson *et al.*, 2010). Aussi, la nécessité de l'élaboration d'une définition consensuelle a été à plusieurs reprises plébiscitée (Gregori *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2010; Gregori *et al.*, 2011).

Comme déjà précisé dans l'introduction générale, nous allons, dans ce manuscrit, nous focaliser sur la notion de fréquence des prises alimentaires, soit le nombre quotidien d'ingestions de calories, solides ou liquides.

2.2 Les études chez l'animal

Les modèles animaux ne sont pas le centre de notre propos dans ce manuscrit, en particulier car les comportements alimentaires naturels des rongeurs par exemple diffèrent considérablement des comportements humains (cf. Fig. 1). L'impact de l'environnement sur leurs consommations est aussi

difficilement comparable à ce qui se passe chez l'Homme. Néanmoins, les études chez l'animal peuvent permettre de mettre en place facilement de situations expérimentales et d'observer les effets physiologiques sur l'organisme. Les résultats de ces travaux peuvent ensuite servir à élaborer des études chez l'Homme, afin de vérifier si les effets observés sont transposables à notre espèce.

La plupart des études expérimentales soumettant les animaux à des fréquences différentes de prises alimentaires rapportent que l'allongement des périodes de jeûne inter-prandial est associé à une meilleure santé et longévité, par le biais de l'amélioration des paramètres métaboliques et cardiovasculaires (Mattson, 2005). Par exemple, des rongeurs dont les périodes de jeûne inter-prandial étaient expérimentalement rallongées ont consommé 30 % moins de nourriture que ceux qui étaient autorisés à manger librement (Wan *et al.*, 2003). Dans d'autres études, ils ont vu leur durée de vie rallongée de 30 % (Goodrick *et al.*, 1983; Beauchene *et al.*, 1986). Des animaux soumis à ce type de régime ont montré, même en condition isocalorique (c'est-à-dire avec une même quantité d'énergie ingérée), une amélioration de la régulation de la glycémie (Anson *et al.*, 2003), ainsi qu'une amélioration de la sensibilité à l'insuline (Anson *et al.*, 2003; Wan *et al.*, 2003).

Une étude récente (Hatori *et al.*, 2012) a comparé pendant plus de 100 jours, différents schémas temporels d'ingestion de calories chez des souris : avec accès 24h/24 à l'alimentation vs. un accès limité à l'alimentation pendant 12h ; ceux-ci étant proposés pour des régimes riches en lipides ou équilibrés (cf. Fig. 11A). Les cinétiques d'ingestion montrent logiquement de grandes amplitudes dans l'énergie ingérée pour les groupes ayant un accès limité à la nourriture vs. de faibles amplitudes dans les groupes ayant un accès illimité (cf. Fig. 11B et 11C). Cependant, aucune différence dans l'énergie ingérée n'a été observée, ni en énergie cumulée sur l'ensemble de la période (cf. Fig. 11D), ni en consommation moyenne par jour (cf. Fig. 11E). En revanche, les souris ayant eu un accès non restreint à l'alimentation ont présenté une diminution significative de leur dépense énergétique, par le calcul des aires sous la courbe (cf. Fig. 11F). Leur poids corporel a également été affecté par le type de régime : en particulier, les souris sans accès restreint à la diète riche en lipides ont pris significativement plus de poids que celles ayant eu un accès à cette même diète pendant seulement 12h par jour (cf. Fig. 11G et 11H). Les souris n'ayant pas eu d'accès restreint à la nourriture ont par ailleurs présenté une plus grande adiposité, une intolérance au glucose et une résistance à la leptine plus élevées, ainsi qu'une inflammation plus importante (Hatori *et al.*, 2012). L'ensemble des résultats de cette étude illustre bien, chez le rongeur, l'effet délétère d'une diminution des amplitudes dans le rythme alimentaire et mettent en avant l'importance de respecter des périodes de jeûne inter-prandial, indépendamment de la quantité d'énergie ingérée. Si les effets bénéfiques de la préservation de la période de jeûne inter-prandiale, même quand la quantité totale

consommée est la même, semblent relativement bien documentés chez l'animal (Mattson, 2005), que savons-nous de l'effet de la modification des rythmes alimentaires chez l'Homme ?

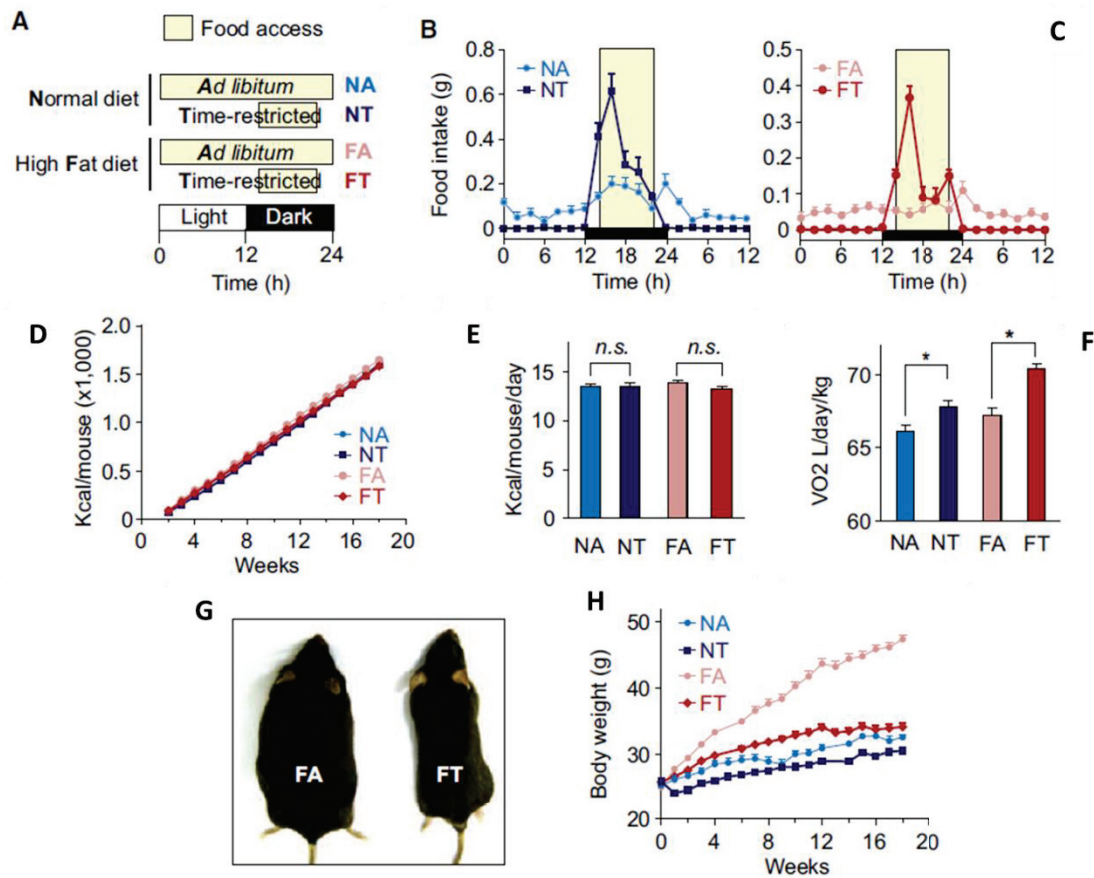


Figure 11 : Effets chez la souris de différents schémas temporels d'ingestion de calories sur le poids corporel (adapté de (Hatori *et al.*, 2012)). (A) : schématisation des 4 conditions d'étude. NA : régime équilibré *ad libitum* ; NT : régime équilibré avec accès limité ; FA : régime hyper-lipidique *ad libitum* ; FT : régime hyper-lipidique avec accès limité. (B) et (C) : cinétiques moyennes d'ingestion d'aliments dans les 4 conditions. (D) : consommations moyennes d'énergie cumulées sur l'ensemble de la période. (E) : consommations moyennes d'énergie par jour. (F) : aires sous la courbe de la dépense énergétique. (G) : photographies de souris en fin d'étude en conditions FA et FT. (H) : Evolution du poids moyen sur l'ensemble de l'étude.

2.3 Que nous apprend l'approche épidémiologique ?

Les études épidémiologiques s'intéressant aux effets de la fréquence des prises alimentaires sont le plus souvent des études transversales d'observation, permettant de corrélérer dans de grands échantillons, le paramètre « fréquence des prises alimentaires » à l'IMC ou à d'autres paramètres anthropométriques tels que le tour de taille ou encore à des indicateurs de la composition corporelle, tels que l'adiposité. Ces approches permettent d'étudier les liens entre fréquence des prises alimentaires et balance énergétique, en vie réelle, sans intervenir sur les habitudes alimentaires des sujets d'étude.

2.3.1 Une relation inverse entre fréquence des prises alimentaires et IMC ?

Une des premières études épidémiologiques ayant mis en évidence des corrélations entre la fréquence des prises alimentaires et le poids corporel a été réalisée par Fabry *et al.* (1964). Les auteurs ont démontré dans un échantillon de 379 hommes Tchécoslovaques ayant entre 60 et 64 ans, une relation inverse entre la fréquence habituelle déclarée des prises alimentaires quotidiennes et la prévalence de surpoids (cf. Fig. 12), ainsi qu'avec l'épaisseur moyenne des plis cutanés. Fabry *et al.* ont également mis en évidence dans ces travaux une relation inverse entre fréquence des prises alimentaires et d'autres facteurs de risque de maladies chroniques, tels que l'hypercholestérolémie et la diminution de la tolérance au glucose (cf. Fig. 12). Les mêmes liens ont été observés dans un autre échantillon plus réduit de 89 hommes âgés de 30 à 50 ans (Hejda *et al.*, 1964).

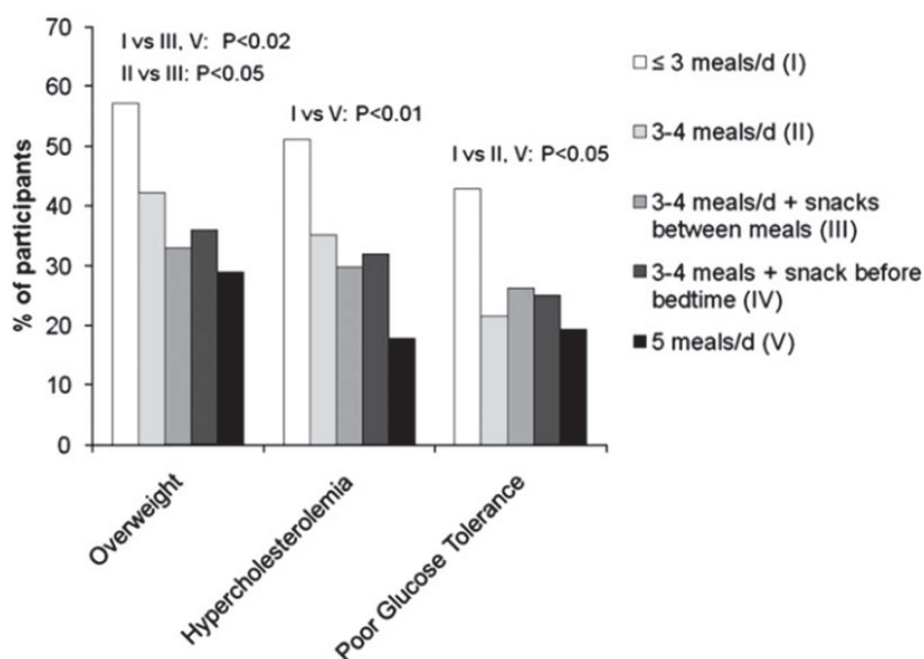


Figure 12 : Relations entre la fréquence des prises alimentaires quotidiennes, le surpoids, l'hypercholestérolémie et la tolérance au glucose chez 379 hommes. Les valeurs de P indiquent pour chacune des variables, les différences significatives entre les groupes constitués en fonction du nombre de prises alimentaires (tiré de (McCrary *et al.*, 2011), à partir des données de (Fabry *et al.*, 1964)).

Suite aux travaux de Fabry *et al.*, d'autres auteurs ont exploré les liens pouvant exister entre fréquence des prises alimentaires et paramètres anthropométriques chez l'adulte. Nous avons répertorié au total une trentaine d'études dont les enseignements principaux sont rapportés dans le tableau 3. Parmi ces trente études, quatorze vont globalement dans le sens des résultats de Fabry *et al.*, rapportant des corrélations négatives entre le nombre de prises alimentaires quotidiennes et l'IMC (Charzewska *et al.*, 1981; Whybrow *et al.*, 1997; Ruidavets *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2003; Nikolic *et al.*, 2005; Holmbäck *et al.*, 2010), le pourcentage de masse grasse (%MG) (Wahlqvist *et al.*, 1999), le tour de taille (TT) (Holmbäck *et al.*, 2010), le ratio tour de taille/tour de hanches (TT/TH) (Ruidavets *et al.*, 2002) ou encore la cholestérolémie (Edelstein *et al.*, 1992; Titan *et al.*, 2001), même si parmi ces études, certaines trouvent des résultats mixtes. Par exemple, Drummond *et al.* (1998) ont mis en évidence une corrélation négative entre fréquence des prises alimentaires et IMC dans un échantillon de 42 hommes, mais pas dans un autre échantillon de 37 femmes. D'autres (Edelstein *et al.*, 1992; Titan *et al.*, 2001) ont trouvé une relation négative avec certains paramètres (TT/TH ou cholestérolémie), mais pas avec l'IMC. Une dizaine d'études n'a pas mis en évidence de relations significatives (Dreon *et al.*, 1988; Kant *et al.*, 1995; Andersson *et al.*, 1996; Summerbell *et al.*, 1996; Aмоса *et al.*, 2001; Hampl *et al.*, 2003; Duval *et al.*, 2008; Berg *et al.*, 2009; Mills *et al.*, 2010; Spanos *et al.*, 2010), alors que six études vont à l'encontre des résultats initiaux de Fabry *et al.*, en trouvant une corrélation positive entre la fréquence habituelle des prises alimentaires et l'IMC (Berteus Forslund *et al.*, 2002; Berteus Forslund *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2005; Howarth *et al.*, 2007; Marin-Guerrero *et al.*, 2008) ou le %MG (Yannakoulia *et al.*, 2007).

Près de la moitié des études épidémiologiques répertoriées (14 sur 30) vont donc dans le sens d'un effet bénéfique de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires, alors que seulement 6 sur 30 suggèrent l'effet inverse. Cependant, il est difficile de tirer des conclusions à la vue de ces travaux, en particulier à cause de nombreux facteurs confondants ou biais méthodologique qui ne sont pas toujours pris en compte et qui sont susceptibles de modifier l'interprétation des résultats.

Tableau 3 : Revue des études épidémiologiques transversales explorant les liens entre la fréquence habituelle des prises alimentaires et les paramètres anthropométriques ou de composition corporelle, chez l'adulte.

1 ^{er} Auteur, année	Effectif	Paramètres étudiés	Relation avec la fréquence des prises alimentaires	Sous - déclaration prise en compte
(Fabry <i>et al.</i> , 1964)	379	Surpoids, plis cutanés	-	Non
(Hejda <i>et al.</i> , 1964)	89	Surpoids, plis cutanés	-	Non
(Metzner <i>et al.</i> , 1977)	2028	Index d'adiposité	-	Non
(Charzewska <i>et al.</i> , 1981)	886	IMC, %MG	-	Non
(Wahlqvist <i>et al.</i> , 1999)	293	%MG	-	Non
(Ma <i>et al.</i> , 2003)	499	IMC	-	Non
(Nikolic <i>et al.</i> , 2005)	144	IMC	-	Non
(Whybrow <i>et al.</i> , 1997)	44	IMC	-	Oui
(Ruidavets <i>et al.</i> , 2002)	330	IMC, TT/TH	-	Oui
(Holmbäck <i>et al.</i> , 2010)	3009	IMC, TT	-	Oui
(Titan <i>et al.</i> , 2001)	14666	IMC, cholestérol	- (cholestérol), NS (IMC)	Non
(Edelstein <i>et al.</i> , 1992)	2034	IMC, TT/TH, cholestérol	- (TT/TH), - (cholesterol), NS (IMC)	Non
(Drummond <i>et al.</i> , 1998)	95	IMC	- (hommes) NS (femmes)	Oui
(Smith <i>et al.</i> , 2011)	2775	TT, cholestérol	- (hommes) NS (femmes)	Oui
(Dreon <i>et al.</i> , 1988)	155	IMC, %MG	NS	Non
(Kant <i>et al.</i> , 1995)	7147	IMC	NS	Non
(Amosa <i>et al.</i> , 2001)	82	IMC	NS	Non
(Hampl <i>et al.</i> , 2003)	3267	IMC	NS	Non
(Berg <i>et al.</i> , 2009)	3610	IMC	NS	Non
(Spanos <i>et al.</i> , 2010)	160	IMC	NS	Non
(Summerbell <i>et al.</i> , 1996)	220	IMC	NS	Oui
(Andersson <i>et al.</i> , 1996)	147	IMC	NS	Oui
(Duval <i>et al.</i> , 2008)	69	IMC, %MG	NS	Oui
(Mills <i>et al.</i> , 2010)	1099	IMC	NS	Oui
(Yannakoulia <i>et al.</i> , 2007)	114	%MG	NS (femmes pré-ménopause) + (femmes post-ménopause)	Oui
(Berteus Forslund <i>et al.</i> , 2002)	177	IMC	+	Non
(Berteus Forslund <i>et al.</i> , 2005)	4259	IMC	+	Non
(Marin-Guerrero <i>et al.</i> , 2008)	34974	IMC	+	Non
(Huang <i>et al.</i> , 2005)	2685	IMC	+	Oui
(Howarth <i>et al.</i> , 2007)	2685	IMC	+	Oui

TT : Tour de Taille, TH : Tour de Hanches, %MG : Pourcentage de masse grasse

- : corrélation négative, + : corrélation positive, NS : non significatif (pas de corrélation)

2.3.2 Biais méthodologiques des études épidémiologiques transversales

Le premier biais méthodologique qui est mis en lumière en particulier par Bellisle *et al.* (1997) concerne la fiabilité de la classification des sujets en fonction de la fréquence de leurs prises alimentaires. Il existe une grande hétérogénéité dans la façon dont cette classification est réalisée : à partir de relevés alimentaires sur 2 semaines (Hejda *et al.*, 1964), 7 jours (Dreon *et al.*, 1988; Summerbell *et al.*, 1996; Drummond *et al.*, 1998), 3 jours (Ruidavets *et al.*, 2002; Yannakoulia *et al.*, 2007) ou simplement un seul rappel des prises alimentaires sur 24 heures (Metzner *et al.*, 1977; Kant *et al.*, 1995) ou encore des questionnaires de fréquences alimentaires (Titan *et al.*, 2001). Etant donné que l'estimation des fréquences de prises alimentaires a été trouvée dans certaines études très peu reproductible (Kant *et al.*, 1995), il semblerait raisonnable de réaliser des relevés alimentaires répétés sur une longue période afin d'obtenir, pour chaque sujet, une bonne estimation du nombre moyen de ses prises alimentaires quotidiennes, ce qui n'est pas le cas d'un bon nombre d'études.

Par ailleurs, le problème de la sous-déclaration peut être une autre source d'erreur dans l'interprétation des résultats. En effet, la sous-déclaration des prises alimentaires existe à la fois chez les sujets de poids normal et chez les sujets obèses (Bandini *et al.*, 1990), mais plusieurs travaux ont bien démontré que cette sous-déclaration est plus importante chez des sujets obèses comparativement à des sujets de poids normal (Prentice *et al.*, 1986; Lichtman *et al.*, 1992; Black *et al.*, 1993). Il semblerait aussi que les prises alimentaires hors repas soit les plus sujettes à être non rapportées dans les études déclaratives, ce qui est susceptible d'affecter fortement la validité de l'estimation de la fréquence des épisodes alimentaires (Livingstone *et al.*, 1990; Poppitt *et al.*, 1995). La non prise en compte de la sous-déclaration pourrait potentiellement expliquer la relation inverse observée entre fréquence des prises alimentaire et IMC. Dans certaines études, le fait de prendre en compte la sous-déclaration, en utilisant par exemple la méthode de Goldberg *et al.* (1991), modifie les relations observées. Ainsi, la corrélation négative observée entre fréquence des prises alimentaires et IMC dans l'étude d'Andersson *et al.* (1996) n'est plus significative après prise en compte de la sous-déclaration. La démonstration est faite également dans l'étude d'Huang *et al.* (2005) : les auteurs n'observent pas de corrélation dans la totalité de leur échantillon, alors qu'une relation positive apparaît entre fréquence des prises alimentaires et IMC en prenant en compte la sous-déclaration.

Bellisle *et al.* (1997) mettent en lumière un autre biais potentiel dans ce type d'étude : le phénomène de « causalité inversée » qui fait référence au fait que les personnes qui sont en surpoids ou obèses sont plus susceptibles de sauter un ou des repas (en particulier le petit déjeuner) dans l'objectif de perdre du poids (Summerbell *et al.*, 1996; Bellisle *et al.*, 1997). Ce phénomène est un facteur

confondant susceptible d'être en partie responsable de la relation inverse observée dans plusieurs études entre IMC et fréquence des prises alimentaires. Certaines études ont néanmoins pris en compte la causalité inversée dans leur analyse (Drummond *et al.*, 1998; Ruidavets *et al.*, 2002) et observent, même après ajustement, un effet bénéfique de l'augmentation du nombre de prises alimentaires sur le statut pondéral.

D'autres facteurs confondants sont également suspectés, tels que le niveau d'activité physique. Duval *et al.* (2008) ont trouvé une corrélation négative entre la fréquence des prises alimentaires et l'IMC ainsi que le %MG dans un échantillon de 85 femmes âgées de 48 à 55 ans. Après ajustement sur l'activité physique (ainsi que sur le pic de consommation d'oxygène), plus aucune corrélation n'apparaît entre les paramètres d'adiposité et la fréquence des prises alimentaires. Les auteurs suggèrent le rôle prépondérant de l'activité physique dans la relation négative souvent observée entre la fréquence des prises alimentaire et l'IMC ou la composition corporelle (Duval *et al.*, 2008).

L'ensemble de ces données épidémiologiques et de ces considérations méthodologiques rendent difficiles toute conclusion sur l'effet potentiel de la fréquence des prises alimentaires sur l'IMC et la composition corporelle. La nécessité d'études prospectives a déjà été mise en avant (Danone Vitapole, 2004) et pourrait aider à éclairer sur l'existence et le sens de cette relation, qui semble dans tous les cas complexes, et qui pourrait aussi s'exprimer différemment dans des cultures différentes (Danone Vitapole, 2004). Dans cette optique, la toute récente étude de Mekary *et al.* (2012a) est un exemple à suivre. Les auteurs ont pu suivre, aux Etats-Unis, 29 206 hommes entre 1992 et 2008 : la fréquence habituelle des prises alimentaire a été déclarée en 1992 et l'apparition de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires a été suivie pendant 16 ans. Dans cette étude, il a été montré que la prise régulière d'un petit déjeuner pouvait diminuer considérablement l'apparition d'un diabète de type 2, indépendamment de l'IMC ou de la qualité de l'alimentation. Par ailleurs, comparée à un rythme de trois repas par jour, la diminution du nombre de prises alimentaires (1 à 2 prises) et son augmentation (supérieur à 4 prises), étaient toutes les deux associées à un risque accru d'apparition du diabète de type 2, même si ces dernières associations étaient liées à une augmentation de l'IMC. Les auteurs avancent la nécessité de multiplier ce type d'études, dans un échantillon de femmes et dans d'autres cultures (Mekary *et al.*, 2012a).

2.4 Les études d'intervention

Les études épidémiologiques permettent d'observer le comportement des individus et de faire des liens avec leur état de santé. Une autre approche est de modifier le comportement de sujets d'étude

pendant une période définie, via un essai d'intervention, et de mesurer les modifications de paramètres de santé à la suite de cette intervention. Il existe principalement deux types d'études d'intervention s'étant intéressés à l'effet de la modification de la fréquence des prises alimentaires.

Le premier est principalement destiné à des sujets obèses auxquels les expérimentateurs proposent de participer à un programme visant à perdre du poids, via un régime hypocalorique. Il est demandé aux différents participants d'ingérer la portion calorique quotidienne visée selon différentes modalités temporelles : une unique prise par jour, trois prises par jour, six ou neuf prises alimentaires dans la journée (Palmer *et al.*, 2009). Ce régime est suivi pendant une période de temps donnée qui peut différer énormément en fonction des études, pouvant aller d'une semaine (Garrow *et al.*, 1981) à un an (Berteus Forslund *et al.*, 2008). Les paramètres d'intérêt mesurés avant et après (voire pendant) l'intervention sont principalement le poids corporel, des mesures liées à l'appétit comme la sensation de faim ou des biomarqueurs de la faim et de la satiété, ainsi que d'autres paramètres liés aux risques de diabète ou aux risques cardiovasculaires, tels que les profils insuliniques, glycémiques ou encore la cholestérolémie.

Le second type d'étude s'adresse le plus souvent à des sujets de poids normal, sans objectif de perte de poids, donc sans restriction calorique. L'intervention consiste à tester différentes fréquences de prises alimentaires : un vs. trois repas (Stote *et al.*, 2007), trois vs. neuf prises (Arnold *et al.*, 1994), trois vs. dix-sept prises (Jenkins *et al.*, 1989; 1995), ou encore de tester l'ajout d'un aliment de type « snack » obligatoire dans la ration quotidienne (Whybrow *et al.*, 2007; Zaveri *et al.*, 2009). Comme dans les études de perte de poids, la durée de l'intervention est variable et les paramètres d'intérêt étudiés sont globalement les mêmes.

2.4.1 Quels effets sur le poids, la composition corporelle, la dépense énergétique et les autres paramètres physiologiques ?

La grande majorité des études d'intervention, qu'elles soient dans un objectif de perte de poids ou pas, n'ont pas mis en évidence de relation entre la modification de la fréquence des prises alimentaires et le poids corporel. Une revue de Bellisle *et al.* (1997) concernant les interventions visant une perte de poids, concluait à une absence d'effet de la fréquence des prises alimentaires sur la perte de poids pendant une période de restriction calorique. Une revue de littérature récente de Palmer *et al.* (2009) aboutit à la même conclusion. Dans cette dernière revue, aucune des dix études d'intervention (dont (Verboeket-van de Venne *et al.*, 1993b; Poston *et al.*, 2005; Vander Wal *et al.*, 2006; Berteus Forslund *et al.*, 2008)) visant une perte de poids n'a montré un effet de la fréquence des prises alimentaires sur le poids corporel. Plus récemment, Cameron *et al.* (2010) ont examiné les effets de huit semaines de restriction calorique chez des sujets obèses. Les sujets consommaient la

même ration calorique soit en trois, soit en six prises alimentaires. Les participants ont perdu environ 5 % de leur poids initial, mais aucune différence n'a été observée entre les deux groupes. Dans la revue de Palmer *et al.* (2009), quinze études d'intervention sans restriction calorique ont été répertoriées, parmi lesquelles seulement trois (Dallosso *et al.*, 1982; King *et al.*, 1999; Stote *et al.*, 2007) font état d'une relation entre fréquence des prises alimentaires et variation du poids corporel pendant respectivement 8, 4 et 2 semaines. Cependant les variations de poids observées dans ces trois études étaient particulièrement faibles. Toutes les autres études, proposant des rations *ad libitum* ou standardisées ont conclu à l'absence de relation (Palmer *et al.*, 2009). Les travaux ayant rapporté des mesures du tour de taille (Vander Wal *et al.*, 2006; Berteus Forslund *et al.*, 2008) n'ont pas non plus trouvé d'effet de la fréquence des prises alimentaires sur ce paramètre pendant l'intervention nutritionnelle.

Deux études ont démontré des variations significatives de la composition corporelle au cours d'essais d'intervention. Chapelot *et al.* (2006) ont observé une légère augmentation de la masse grasse, chez douze hommes de poids normal, déclarant habituellement quatre prises alimentaires par jour, soumis pendant quatre semaines à un rythme de trois prises quotidiennes (avec choix alimentaires libres). Stote *et al.* (2007) ont démontré qu'une seule prise alimentaire par jour (vs. 3) pouvait induire une diminution de la masse grasse pendant une intervention non hypocalorique de huit semaines chez des sujets de poids normal. En dehors de ces deux résultats, les autres études d'intervention ayant mesuré la composition corporelle n'ont pas trouvé d'effet de la fréquence des prises alimentaires, que ce soit dans les études visant à perdre du poids (Finkelstein *et al.*, 1971; Schlundt *et al.*, 1992; Verboeket-van de Venne *et al.*, 1993b; Vander Wal *et al.*, 2006; Cameron *et al.*, 2010; Bachman *et al.*, 2012) ou les autres (Whybrow *et al.*, 2007).

Très peu d'études ont mesuré la dépense énergétique dans les essais d'intervention visant à étudier l'effet de la fréquence des prises alimentaires, ce qui est regrettable étant donné que l'activité physique peut être un facteur confondant. Une seule étude (Whybrow *et al.*, 2007) a montré que l'ajout d'une prise alimentaire supplémentaire dans la ration a induit une augmentation de la dépense énergétique estimée à partir de l'enregistrement du rythme cardiaque. Selon les auteurs de cet article, cette augmentation pourrait être expliquée soit par une augmentation de la thermogénèse induite par le repas, soit par une augmentation volontaire de l'activité physique, soit par les limites de la méthode de mesure. Les quelques autres études ayant mesuré l'activité physique ou la dépense énergétique n'ont pas rapporté de différences liées à la modification de la fréquence des prises alimentaires (Dallosso *et al.*, 1982; Schlundt *et al.*, 1992; Stote *et al.*, 2007; Berteus Forslund *et al.*, 2008).

Jenkins *et al.* (1989; 1995) ont trouvé que la concentration moyenne d'insuline sur une période de 12h était diminuée en moyenne de près de 28 % après deux semaines d'intervention avec 17 prises vs. 3 prises alimentaires quotidiennes. Deux autres études (Gwinup *et al.*, 1963; Arnold *et al.*, 1993) ont mis en évidence des courbes insuline/glucose plus plates avec des fréquences de prises alimentaires plus élevées, sans montrer de différence dans le calcul des aires sous la courbe (Arnold *et al.*, 1993) (non calculé pour (Gwinup *et al.*, 1963)). Young *et al.* (1971) ont trouvé que la tolérance à une charge orale de glucose était diminuée après un régime hypocalorique de 5 semaines en ne faisant qu'une prise alimentaire quotidienne, suggérant un effet délétère d'une faible fréquence des prises alimentaires. Ces effets de la fréquence des prises alimentaires sur les profils insuliniques, glycémiques ou sur la tolérance à une charge orale de glucose n'ont pas été vérifiés dans plusieurs autres études (Finkelstein *et al.*, 1971; Arnold *et al.*, 1994; Poston *et al.*, 2005; Stote *et al.*, 2007; Berteus Forslund *et al.*, 2008).

Le cholestérol sanguin pourrait être aussi modifié par les études d'intervention, suggérant un effet bénéfique de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires. Cet effet a été observé principalement dans les études sans restriction calorique, ne visant pas une perte de poids (Palmer *et al.*, 2009; 2011). Une revue de littérature de Mann (1997) indique que, même si certaines études n'ont pas montré d'effet bénéfique, aucun effet délétère de l'augmentation du nombre de prises alimentaires n'a été observé sur la cholestérolémie et les autres paramètres lipidiques sanguins. Bhutani *et al.* (2009) concluent aussi à un effet bénéfique sur les concentrations plasmatiques de cholestérol total et de LDL-cholestérol, alors que l'effet sur celle de HDL-cholestérol reste incertain. Enfin, la concentration plasmatique en triglycérides (TG) a été diminuée dans plusieurs études d'intervention, mais cet effet a été observé autant quand la fréquence des prises alimentaire a été diminuée (Stote *et al.*, 2007), ou augmentée (Jenkins *et al.*, 1989), ce qui ne permet pas de supposer de relation linéaire entre le nombre de prises alimentaires par jour et la concentration en TG.

2.4.2 Etudes d'intervention et appétit

Très peu d'études d'intervention ont évalué l'effet de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit. Stote *et al.* (2007) ont démontré une augmentation de la sensation de faim (enregistrée une fois par jour, juste avant le repas du soir), lorsque des sujets consomment pendant huit semaines toute leur énergie quotidienne en une seule prise (le soir) vs. en trois prises réparties dans la journée (cf. Fig. 13).

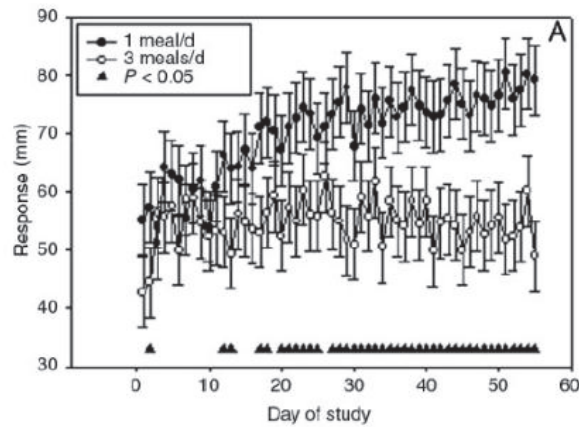


Figure 13 : Evolution de la sensation de faim dans un essai d'intervention de 8 semaines comparant deux fréquences de prises alimentaires : un seul vs. trois repas par jour (tiré de (Stote *et al.*, 2007)). Les sensations de faim ont été mesurées sur une échelle visuelle analogique de 100 mm.

Dans une autre étude récente de Bachman *et al.* (2012), 51 sujets en surpoids ou obèses ont été soumis à une intervention de 6 mois, visant à perdre du poids. La moitié des sujets ont consommé leur ration calorique en 3 prises par jour ; l'autre moitié a été soumise à une fréquence de consommation élevée dite « grazing » (100 kcal minimum toutes les 2-3 heures). La sensation de faim a été enregistrée avant chacun des trois repas principaux (petit déjeuner, repas de midi et dîner) avant l'intervention, à 3 mois, et à 6 mois en fin d'intervention. Une moyenne du niveau de faim a été faite pour chacun de ces 3 jours pour chaque participant. Les auteurs rapportent après 6 mois une diminution de la sensation de faim dans le groupe soumis à une fréquence de prise alimentaires élevée (cf. Fig. 14), alors que les quantités caloriques ingérées n'ont pas été trouvées différentes entre les groupes.

Les résultats de ces deux études suggèrent une corrélation négative entre le nombre de prises alimentaires quotidienne et la sensation de faim. Cependant, cette corrélation n'a pas été confirmée par les études ayant enregistré la sensation de faim sur l'ensemble d'une journée au cours de l'intervention (Johnstone *et al.*, 2000; Cameron *et al.*, 2010; Leidy *et al.*, 2010b). Cameron *et al.* (2010) ont comparé les profils de ghréline et de PYY pendant 6 heures, avant et après une intervention de 8 semaines visant à perdre du poids selon deux modalités de consommation : 3 ou 6 prises alimentaires par jour. Aucun effet de la fréquence des prises alimentaires n'a été observé sur les profils de ghréline et de PYY.

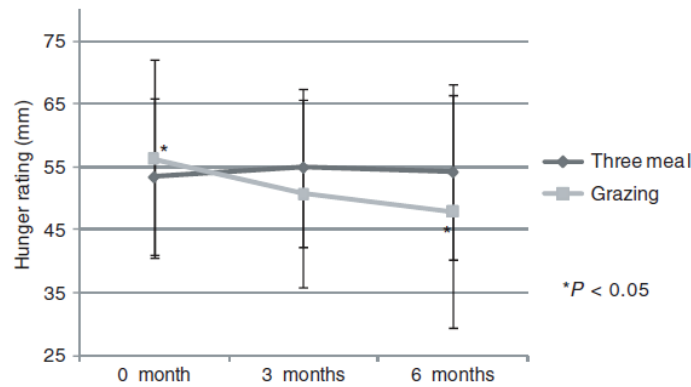


Figure 14 : Evolution de la sensation de faim dans un essai d'intervention de 6 mois visant à perdre du poids et comparant deux fréquences de prises alimentaires : trois repas par jour vs. « grazing » (au moins 100 kcal toutes les 2-3 heures) (tiré de (Bachman *et al.*, 2012)).

Enfin, parmi les études d'intervention qui laissent les sujets libres de faire leurs choix alimentaires, ne donnant que des instructions sur la distribution de l'énergie ingérée au cours de la journée, la plupart n'ont mis en évidence aucune différence dans l'énergie ingérée entre les groupes soumis à différentes fréquences alimentaires (Leidy *et al.*, 2010b; Palmer *et al.*, 2011; Bachman *et al.*, 2012). En revanche, King *et al.* (1999) ont montré une diminution de la quantité d'énergie ingérée dans une intervention de quatre semaines, dans un groupe de sujets ayant diminué le nombre de ses prises alimentaires quotidiennes. Dans cette même étude, la consommation totale d'énergie n'a pas été affectée dans un groupe de sujet ayant augmenté sa fréquence des prises alimentaires. Chapelot *et al.* (2006) et Whybrow *et al.* (2007) ont également mis en évidence une relation positive entre l'ajout d'une prise alimentaire (aliment de type « snack ») dans la ration et la quantité totale d'énergie ingérée, même si cet effet n'a pas été maintenu sur toute la période d'intervention pour l'une des études (Chapelot *et al.*, 2006).

2.4.3 Limites des études d'intervention

Beaucoup d'études d'intervention investiguant les effets de la modification de la fréquence des prises alimentaires ont été réalisées avec des petits échantillons (Palmer *et al.*, 2009). Ceci pourrait expliquer la difficulté à mettre en évidence des effets significatifs sur le poids corporel ou les autres paramètres de santé, par manque de puissance statistique. Par ailleurs, peu d'études ont été réalisées sur de longues périodes ; elles durent le plus souvent entre une et huit semaines, ce qui semble le plus souvent insuffisant pour observer des effets sur le poids ou d'autres paramètres de santé.

Une des raisons pour laquelle ces études d'intervention sont le plus souvent de courte durée, réside dans le fait qu'il est particulièrement difficile de demander à des sujets de se soumettre à une

fréquence de prises alimentaires, souvent inhabituelle pour eux, sur de longues périodes. L'adhésion des sujets à une intervention est d'ailleurs difficile à mesurer, en particulier car il n'existe pas de mesure standardisée de l'adhésion des sujets à des essais d'intervention en santé (Vitolins *et al.*, 2000). Dans la revue de littérature de Palmer *et al.* (2009), 60 % des études d'interventions analysées ne donnent aucune information sur la capacité des sujets à adhérer aux fréquences de prises alimentaires qui leur ont été demandées de respecter. Les autres études donnent des résultats très disparates ; l'adhésion des sujets semblant dans tous les cas meilleure dans le cas des interventions les moins longues.

La nécessité d'interventions plus longues pour espérer observer des effets de la fréquence des prises alimentaires sur le poids corporel, et la difficulté qu'ont les individus à adhérer à une intervention sur de longues périodes rendent difficiles les possibilités d'amélioration de la méthodologie.

Il est difficile de mesurer à quel point ces considérations méthodologiques pèsent dans les résultats observés. Les études d'intervention montrent dans leur ensemble peu d'effets de la modification de la fréquence des prises alimentaire sur le poids et la composition corporelle. Les effets sur les paramètres physiologiques, la dépense énergétique ou encore l'appétit ne vont pas toujours dans le même sens ou sont très peu abordés dans les études d'intervention. Afin d'aller plus loin dans l'investigation des effets sur les paramètres physiologiques, tels que la glycémie ou l'insulinémie, ainsi que sur l'appétit, de nombreuses études expérimentales ont été mises en place. Elles permettent de mieux contrôler les potentiels facteurs confondants, d'améliorer la précision des mesures et aussi d'aller plus loin dans l'investigation des paramètres, en particulier physiologiques. Nous allons, dans le paragraphe suivant, présenter l'apport des études expérimentales dans la connaissance des liens entre la fréquence des prises alimentaires et l'équilibre de la balance énergétique.

2.5 L'étude expérimentale de la fréquence des prises alimentaires

Nous allons présenter les études expérimentales qui étudient l'effet de la modification de la fréquence des prises alimentaires. Elles se différencient des études d'intervention par leur durée : ce sont des études à court terme. Par ailleurs, les études expérimentales sont le plus souvent menées entièrement en laboratoire, contrairement aux études d'intervention qui impliquent une période de test durant laquelle les participants mènent leur vie habituelle tout en modifiant leurs habitudes alimentaires, ainsi que des mesures en laboratoire à des temps prédéfinis de l'étude. Le schéma le plus classique adopté pour les études expérimentales est de proposer à des sujets de consommer la

même quantité contrôlée d'aliments sur une période de temps définie (quelques heures à une ou plusieurs journées), selon plusieurs modalités de fréquence (par exemple 3 vs. 6 prises). Pendant toute la durée de l'expérience, un certain nombre de paramètres sont mesurés, dont la plupart sont liés au métabolisme ou à l'appétit. On peut de cette façon étudier les effets « en aigu » du fractionnement alimentaire, c'est-à-dire de l'augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires.

2.5.1 Paramètres métaboliques

2.5.1.1 Paramètres sanguins

Les réponses glycémiques et insuliniques sont parmi les paramètres sanguins les plus étudiés dans les études expérimentales recherchant les effets de la fréquence des prises alimentaires. Jenkins *et al.* (1990) ont soumis des sujets à l'ingestion d'une portion de 50g de glucose dans 700ml d'eau, soit en une prise de 5-10 minutes, soit en la sirotant de façon continue pendant 3,5 heures. Les réponses glycémiques et insuliniques ont été trouvées très différentes entre les deux groupes (cf. Fig. 15). L'ingestion continue pendant 3,5 heures a induit la perte de la grande excursion glycémique observée lors de l'ingestion en une prise. Aucune différence n'a été observée dans les aires sous la courbe (ASC) pour la glycémie, entre les deux groupes. En revanche, les auteurs rapportent une diminution significative de l'ASC pour l'insulinémie, la réponse insulinique étant nettement diminuée lors de l'ingestion en continue. Aussi, la quantité d'insuline secrétée dans le sang ne dépend pas uniquement de la quantité totale d'énergie ingérée, mais aussi du rythme de cette ingestion ; une ingestion de type « sirotage » étant associée à une économie dans la production d'insuline. Les profils glycémiques et insuliniques observés après sirotage sont associés à une baisse des concentrations sanguines d'acides gras non estérifiés (AGNE) (cf. Fig. 15), présentée par les auteurs comme étant positive car le sirotage permet ainsi de prolonger la suppression de l'effet inhibiteur des AGNE sur la captation du glucose (cf. le cycle de Randle (Randle *et al.*, 1963; Hue *et al.*, 2009)), le glucose disparaissant ainsi de la circulation sanguine avec une quantité moindre d'insuline secrétée par le pancréas (Jenkins *et al.*, 1990). Wolever (1990) a confirmé ces effets sur une plus longue durée, en demandant à 7 hommes de poids normal d'ingérer une solution liquide énergétique, soit en trois prise à T = 0, T = 4 et T = 8 heures vs. 72 prises identiques à 10 minutes d'intervalle pendant 12 heures. L'ASC de l'insuline a été diminuée de 32 % en sirotant la solution, sans modification de l'ASC pour la glycémie. La concentration moyenne en AGNE a également été diminuée de 20 % en sirotant comparativement à l'ingestion en 3 prises.

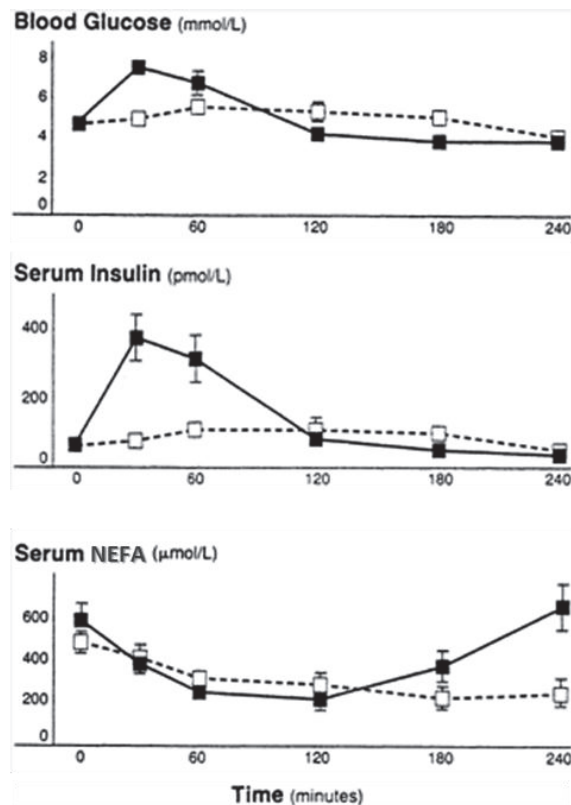


Figure 15 : Réponses glycémique, insulémique et de la concentration plasmatique en acides gras non estérifiés (NEFA), après l'ingestion de 50g de glucose dans 700ml d'eau, en une prise de 5-10 min vs. en « sirotage » continu pendant 3,5 heures. En trait plein : une seule prise à T = 0, en pointillé : prise sirotée pendant 3,5 heures (tiré de (Jenkins *et al.*, 1990)).

Suite à ces travaux, d'autres auteurs ont mis en évidence des cinétiques d'insulinémie et de glycémie semblables à celles des deux études précédemment citées, en proposant aux sujets des conditions expérimentales plus proches de la réalité qu'un « sirotage » expérimental. Ces études ont été menées chez des sujets sains de poids normal (Jones *et al.*, 1993; Speechly *et al.*, 1999b; Solomon *et al.*, 2008; Holmstrup *et al.*, 2010), obèses (Speechly *et al.*, 1999a) ou diabétiques (Jenkins *et al.*, 1992; Segura *et al.*, 1995). Les études plus anciennes ont mis en évidence des différences dans les aires sous la courbe pour l'insuline (Jenkins *et al.*, 1992; Jones *et al.*, 1993; Segura *et al.*, 1995), alors que deux études plus récentes (Solomon *et al.*, 2008; Holmstrup *et al.*, 2010) ont montré des profils similaires, mais sans mettre en évidence de différences significatives entre les conditions. Par exemple, Solomon *et al.* (2008) ont comparé chez cinq hommes sains les profils insuliniques induits par l'ingestion de 2 vs. 12 prises alimentaires sur une période de 8 heures (comparée également à une situation de jeûne). Les cinétiques trouvées sont différentes, mais aucune différence dans les ASC n'a été démontrée (cf. Fig. 16). Holmstrup *et al.* (2010) n'ont pas non plus mis en évidence de différence dans les ASC pour l'insuline sur une période de 12h, en comparant une même ration ingérée en 3 vs. 6 prises. En revanche, les ASC pour la glycémie étaient différentes dans cette dernière étude; l'ASC étant augmentée lorsque la ration était ingérée en 6 fois.

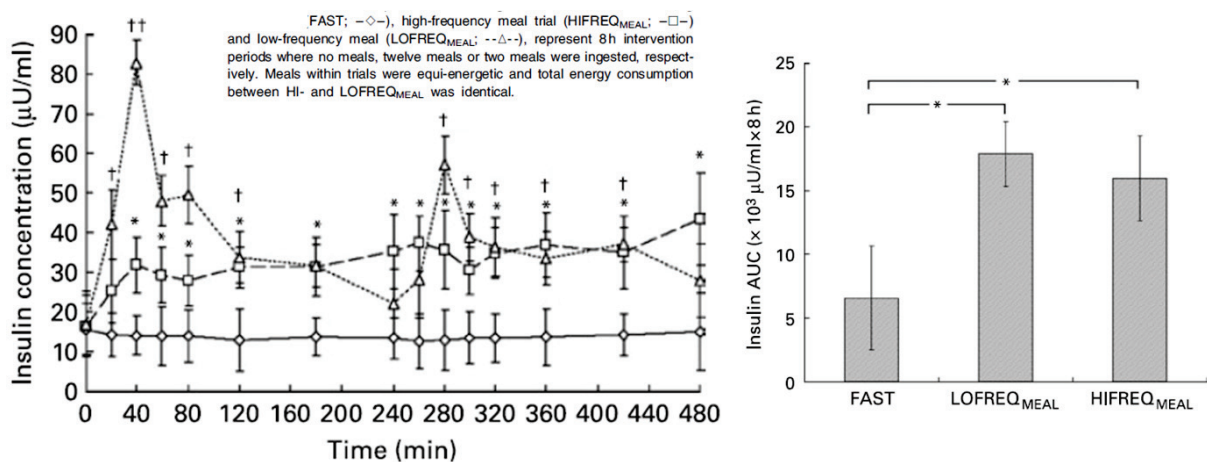


Figure 16 : Réponses insuliniques et aires sous la courbe pour l'insuline, après une même portion alimentaire consommée en 2 prises (LOFREQ), 12 prises (HIFREQ), ou une période de jeûne (FAST), sur une durée de 8h (tiré de (Solomon *et al.*, 2008))

Peu d'études expérimentales (Wolever, 1990; Jenkins *et al.*, 1992; Jones *et al.*, 1993) ont recherché les effets d'une modification de la fréquence des prises alimentaires sur les concentrations de cholestérol et de TG. Même si les résultats vont plutôt dans le sens d'un effet bénéfique du fractionnement alimentaire (Wolever, 1990), le peu de travaux et les résultats inconsistants sur du plus long terme ne permettent pas de conclure sur cette question (Danone Vitapole, 2004).

2.5.1.2 Dépense énergétique

Quelques auteurs ont étudié l'effet de la fréquence des prises alimentaires sur la dépense énergétique, en particulier sur la thermogénèse induite par le repas (Diet Induced Thermogenesis ou DIT). Belko *et al.* (1987) et Kinabo *et al.* (1990) sont parmi les premiers à avoir évalué l'effet sur la DIT d'une ration alimentaire consommée en 2 vs. 4 et 1 vs. 2 prises respectivement pendant des périodes de 10 et 6h. Aucune de ces deux études n'a mis en évidence d'effet de la fréquence des prises alimentaires sur la DIT. Tai *et al.* (1991) et Leblanc *et al.* (1993) ont mis en place des protocoles très similaires sur des durées de respectivement 5 et 4 heures. Ils ont évalué l'effet de la consommation de la même portion en 1 vs. 6 et 1 vs. 4 prises respectivement, mais ont trouvé des résultats opposés : une DIT diminuée avec des prises plus fréquentes pour Tai *et al.* (1991), l'inverse pour Leblanc *et al.* (1993). Dans une étude plus récente, Smeets *et al.* (2008a) ont mesuré pendant 24 heures la DIT chez des femmes de poids normal consommant la même ration en 2 (petit déjeuner +

dîner) vs. 3 (petit déjeuner + déjeuner + dîner) repas. Aucune différence sur la DIT mesurée dans une chambre calorimétrique n'a été observée entre les deux conditions. Ces mêmes auteurs ont dans la même étude mis en évidence une augmentation de l'oxydation lipidique et une diminution de l'oxydation glucidique en consommant trois comparativement à deux repas. Munsters *et al.* (2012) n'ont quant à eux, pas mis en avant de différence significative dans la quantité de glucides et de lipides oxydés sur 24 heures, entre une alimentation à 3 vs. 14 prises alimentaires.

Dans l'étude de Smeets *et al.* (2008a), aucune différence n'a été observée entre les deux conditions, sur la dépense énergétique totale. Toutes les autres études expérimentales ayant mesuré la dépense énergétique totale ont des résultats concordants : aucune n'a trouvé d'effet significatif de la fréquence des prises alimentaires, quel que soit le type de sujets participants à l'étude (hommes ou femmes ; de poids normal ou obèse), ou la fréquence des prises alimentaires testées (Wolfram *et al.*, 1987; Verboeket-van de Venne *et al.*, 1991; 1993a; Taylor *et al.*, 2001).

2.5.2 Paramètres liés à l'appétit

La fréquence des prises alimentaires est suspectée d'affecter les deux versants de la balance énergétique. Après avoir répertorié les études expérimentales ayant recherché ses effets sur l'utilisation d'énergie, nous allons maintenant présenter les travaux (peu nombreux) ayant étudié les effets de la fréquence des prises alimentaires sur l'apport d'énergie et plus globalement sur l'appétit. Une revue critique des différentes méthodologies utilisées pour étudier l'appétit de façon expérimentale sera présentée dans la partie méthodologique (partie B, chapitre 4). Brièvement, le protocole le plus souvent utilisé est le suivant : la même portion calorique est proposée à des sujets sur une période donnée, selon plusieurs modalités de fréquence. Au cours de cette période, la sensation de faim ou de satiété est enregistrée à intervalles de temps réguliers via des échelles visuelles analogiques (EVA, ou en Anglais : Visual Analogue Scales (VAS)). Certaines études proposent, à la fin de la période, une quantité d'aliments *ad libitum* (à volonté) dont le type et la présentation diffèrent entre les protocoles, afin de pouvoir mesurer la quantité totale spontanément ingérée par les sujets et d'évaluer l'effet potentiel de la séquence alimentaire précédente sur cette dernière prise d'énergie. Dans les protocoles les plus récents, les cinétiques plasmatiques des hormones liées à l'appétit ont été parfois réalisées. Le tableau 4 résume les principaux enseignements des 12 études expérimentales que nous avons répertoriées s'intéressant à l'effet de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit.

Jenkins *et al.* (1992) ont mesuré les sensations de satiété de 11 patients diabétiques (non insulino-dépendants) pendant 9 heures pendant lesquelles les sujets ont consommé la même ration en 13 (« nibbling ») vs. 3 prises. Les profils (cf. Fig. 17) mettent en évidence un aplatissement de la courbe de satiété avec l'augmentation des prises alimentaires, et donc une perte des oscillations observées dans la condition à trois repas. Le niveau moyen de satiété a été comparé et aucune différence n'a été observée entre les deux conditions.

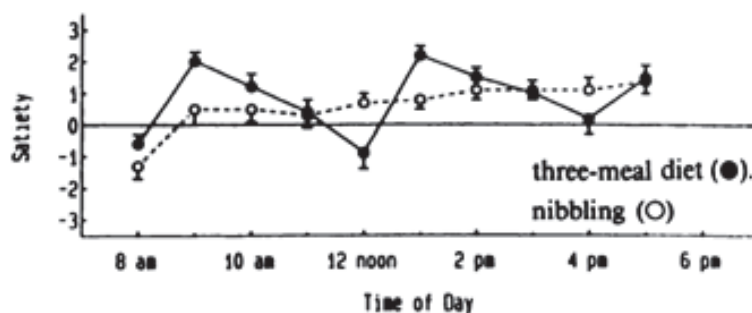


Figure 17 : Sensation de satiété au cours d'une journée passée à consommer la même ration calorique en 13 (« nibbling ») ou en 3 prises, chez 11 patients diabétiques non insulino-dépendants (tiré de (Jenkins *et al.*, 1992)).

Ce type de cinétique aplatie de la sensation de satiété et/ou de la sensation de faim a été retrouvé dans la plupart des études que nous avons répertoriées dans le tableau 4. Quelques auteurs ont comparé les ASC de ces cinétiques entre les différentes conditions de fréquence. Certains ont trouvé une différence significative, allant dans le sens d'une diminution de la faim entraînée par l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires (Smeets *et al.*, 2008a), d'autres ont obtenu des résultats inverses (Leidy *et al.*, 2010a; Munsters *et al.*, 2012). En fonction de la période considérée, l'interprétation des résultats d'une même étude peut s'avérer différente. Par exemple, Jackson *et al.* (2007) ont mis en évidence une augmentation de la sensation de faim sur la première moitié de l'étude (avant un repas pour lequel la vidange gastrique a été mesurée). En revanche, en prenant la totalité de la période d'étude, aucune différence dans les ASC n'a été démontrée. D'autres auteurs ne calculent pas les différences d'ASC entre les conditions, mais focalisent l'attention sur le niveau de faim ou de satiété, enregistré juste avant le repas *ad libitum* qui suit (Speechly *et al.*, 1999b; 1999a; Mehra *et al.*, 2010; Lemmens *et al.*, 2011). Certaines de ces études rapportent des différences significatives. Speechly *et al.* (1999a) ont montré par exemple, chez des sujets obèses, une diminution de la sensation de faim juste avant le repas de midi, après un petit déjeuner fractionné en 5 prises, comparativement à la même portion calorique ingérée en une seule fois. Lemmens *et al.* (2011) ont également mis en évidence une sensation de satiété augmentée après un repas consommé en 4 prises (durant au total 2 heures), comparativement au même repas ingéré en une seule prise de 30 minutes. Cet effet n'a pas été retrouvé dans l'étude de Mehra *et al.* (2010),

réalisée chez des enfants âgés de 6 à 10 ans : aucune différence dans les niveaux de faim n'a été trouvée suite à une même portion consommée en 3 ou en 5 fois ; ceux-ci ayant été mesurés juste avant l'ingestion d'une quantité de glace *ad libitum*.

Speechly *et al.* (1999b) ont également réalisé une étude similaire à celle précitée (1999a), mais cette fois auprès de sujets de poids normal. Aucune différence dans les sensations de faim et de satiété n'a été trouvée juste avant le repas de midi, contrairement aux résultats obtenus avec les sujets obèses. Si, comme on peut le voir, les résultats diffèrent entre études, il est aussi important de mettre en avant qu'au sein d'une même étude, les différentes mesures permettant d'investiguer l'appétit ne sont pas toujours concordantes. Dans l'étude de Speechly *et al.*, réalisée auprès de sujets non obèses (1999b), les EVA ne rapportent pas de différence dans les niveaux de faim après un petit déjeuner ingéré en 1 vs. 5 prises. En revanche, la mesure des quantités consommées au cours du repas suivant (du hachis Parmentier proposé à volonté), montre une consommation diminuée après la prise du petit déjeuner fractionné en 5 prises (cf. Fig. 18A).

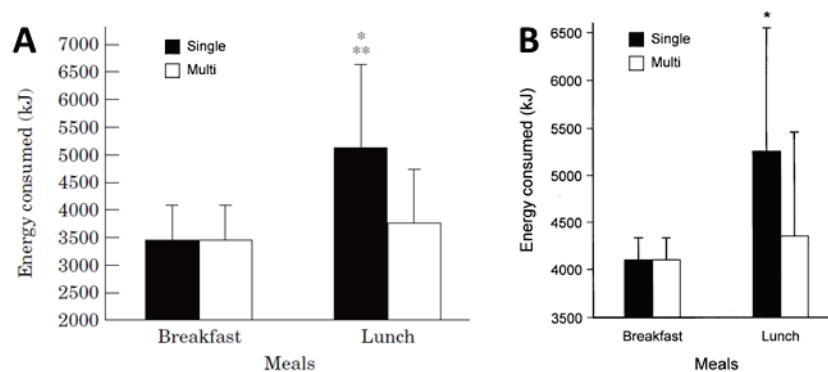


Figure 18 : Quantité d'énergie consommée au cours d'un repas de midi *ad libitum*, après un petit déjeuner fractionné en 5 prises (MULTI), comparé au même petit déjeuner consommé en 1 prise (SINGLE), chez 8 sujets de poids normal (A) et chez 7 sujets obèses (B) (tirés de (Speechly *et al.*, 1999b) et (Speechly *et al.*, 1999a)).

De la même façon, Lemmens *et al.* (2011) et Mehra *et al.* (2010) trouvent des résultats discordants entre les EVA et les quantités consommées au cours de la prise alimentaire *ad libitum*. Dans la première étude (Lemmens *et al.*, 2011), les quantités *ad libitum* ingérées ne confirment pas la différence de sensation de faim observée avant cette prise alimentaire, alors que dans la seconde (Mehra *et al.*, 2010), les auteurs ont observé des différences dans la consommation *ad libitum* de glace, alors qu'aucune variation entre les conditions n'avait été observée avant le début de cette prise.

Tableau 4 : Revue des études expérimentales explorant les liens entre la fréquence des prises alimentaires et l'appétit.

1 ^{er} auteur, année	Sujets	Fréquences testées	Contexte de mesure	Paramètres mesurés liés à l'appétit	Effet de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit	Conclusion (*)
(Jenkins et al., 1992)	4 hommes + 7 femmes diabétiques	3 vs. 13	Hôpital (prélèvements sanguins concomitants)	Echelle de satiété	Cinétique de satiété aplatie. Pas de différence dans le niveau moyen de satiété sur 9h.	0
(Speechly et al., 1999a)	8 hommes	1 vs. 5	Prélèvements sanguins concomitants	EVA, consommation ad libitum au repas suivant	Diminution de la quantité ingérée au repas suivant. Cinétiques différentes pour les EVA, pas de différence dans le niveau de faim avant le repas ad libitum.	Conso. ad libitum (+); EVA (0)
(Speechly et al., 1999b)	7 hommes obèses	1 vs. 5	Prélèvements sanguins concomitants	EVA, consommation ad libitum au repas suivant	Diminution de la quantité ingérée au repas suivant. Cinétiques différentes pour les EVA, avec en particulier un niveau de faim diminué juste avant le repas ad libitum.	+
(Leahy et al., 2000)	10 hommes	2 vs. 10	Chambre calorimétrique	Consommation ad libitum au repas suivant	Diminution de la quantité ingérée au repas suivant.	+
(Taylor et al., 2001)	16 femmes en surpoids ou obèses	2 vs. 6 avec accès ad libitum à de la nourriture supplémentaire	Chambre calorimétrique	Consommation totale d'énergie sur 24 heures	Pas de différence dans l'énergie totale ingérée.	0
(Jackson et al., 2007)	16 adultes	2 vs. 6	Mesure concomitante de la vidange gastrique	EVA, vidange gastrique	Diminution de la sensation de plénitude avant le repas suivant (6h). Pas de différence sur l'ensemble de la période (14h). Ralentissement de la vidange gastrique du repas suivant.	EVA (-); vidange gastrique (+)
(Smeets et al., 2008b)	14 femmes	2 vs. 3	Chambre calorimétrique	EVA	ASC augmentée pour la satiété sur 24h.	+
(Solomon et al., 2008)	5 hommes	2 vs.12	Position semi-allongée dans chambre d'hôpital	ghréline	Cinétiques de ghréline différentes, mais pas de différence dans les ASC sur 8h.	0
(Leidy et al., 2010a)	13 hommes en surpoids ou obèses	3 vs.6	Position semi-allongée dans chambre d'hôpital	EVA, ghréline, PYY	Diminution de la sensation de plénitude. Diminution des concentrations en PYY (ASC) sur 11h. Pas de différence pour la ghréline.	-
(Mehra et al., 2010)	18 enfants (6-10 ans) de poids normal + 17 enfants obèses	3 vs. 5	Prélèvements sanguins concomitants	EVA, consommation ad libitum au repas suivant (glace à volonté), ghréline, PYY, leptine	Augmentation de la quantité de glace ingérée ad libitum pour les enfants obèses. Diminution de cette même quantité pour les enfants de poids normal. Pas de différence dans les EVA, ni dans les concentrations en PYY, ghréline et leptine avant la consommation ad libitum.	Ad libitum : poids normal (+); obèses (-) EVA et hormones (0)
(Lemmens et al., 2011)	18 hommes + 20 femmes	1 vs. 4	Position assise ; prélèvements sanguins concomitants	EVA, consommation ad libitum, ghréline, GLP-1, PYY	Pas de différence dans la consommation ad libitum, malgré une augmentation de la satiété, une diminution de la faim, une augmentation de la concentration en GLP-1 et une diminution de la ghréline juste avant cette prise ad libitum.	EVA et hormones (+); conso.ad libitum (0)
(Munsters et al., 2012)	12 hommes	3 vs.14	Chambre calorimétrique	EVA, ghréline, GLP-1	Augmentation de la sensation de faim et diminution de la satiété (ASC) sur 24h. Pas de différence pour les ASC de ghréline et de GLP-1 sur 24h.	EVA (-); hormones (0)

(*) : Effet de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur le contrôle de l'appétit : négatif (-), positif (+), pas d'effet (0).

Les études ayant mesuré les consommations *ad libitum*, consécutives à l'ingestion de la même portion selon plusieurs modalités de fréquence, rapportent le plus souvent une consommation *ad libitum* diminuée suite à l'ingestion d'une prise fractionnée en un plus grand nombre de prises, soit chez des sujets de poids normal (Speechly *et al.*, 1999b; Leahy *et al.*, 2000), soit chez des sujets obèses (cf. Fig. 18B) (Speechly *et al.*, 1999a). Cet effet pourrait être expliqué par un ralentissement de la vidange gastrique du repas suivant une prise alimentaire plus fractionnée (Jackson *et al.*, 2007). Cependant, cet effet n'est pas confirmé par d'autres travaux (Taylor *et al.*, 2001; Lemmens *et al.*, 2011). Une étude rapporte même l'effet contraire chez des enfants obèses, qui ont consommé une quantité plus importante de glace *ad libitum* après une séquence alimentaire fractionnée en 5 vs. 3 prises (Mehra *et al.*, 2010).

Cinq études récentes ont inclus dans leurs paramètres d'intérêt le dosage de biomarqueurs potentiels de l'appétit : GLP-1, ghréline, PYY, ou encore leptine. Ces études fournissent, elles aussi, des résultats contradictoires. Solomon *et al.* (2008) ont offert à 5 hommes la même quantité d'aliments en 2 vs. 12 prises sur une période totale de 8h et ont mesuré les concentrations de ghréline sur toute la période. Les cinétiques plasmatiques de ghréline montrent des profils différents, mais les ASC sont parfaitement identiques (cf. Fig. 19).

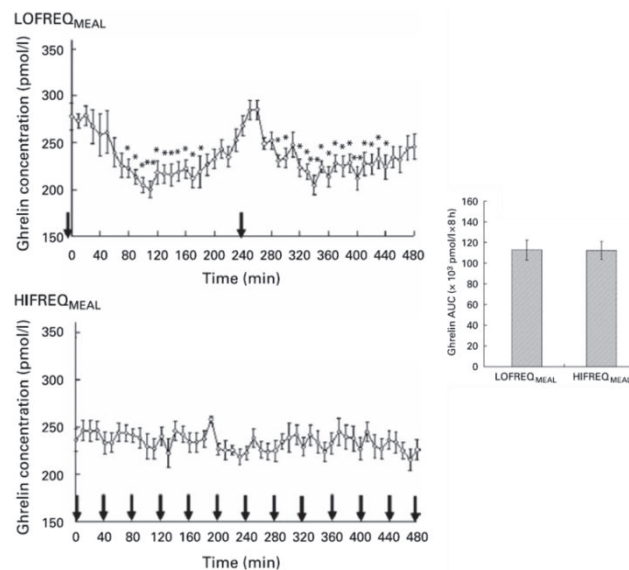


Figure 19 : Cinétiques de la concentration plasmatique de ghréline (et aires sous la courbe correspondantes), au cours de l'ingestion d'une même portion d'aliments en 2 vs. 12 prises, chez 5 hommes de poids normal (tiré de (Solomon *et al.*, 2008)).

La méthode d'analyse des cinétiques plasmatiques peut expliquer en partie les différentes conclusions trouvées entre études. Leidy *et al.* (2010a) ont trouvé des ASC diminuées pour le PYY dans la condition de prises les plus fractionnées (pas de différence pour la ghréline), suggérant une faim augmentée dans cette condition. Lemmens *et al.* (2011) ont comparé les concentrations finales,

juste avant la prise *ad libitum*, et ont conclu de façon inverse : l'augmentation du nombre de prises induirait une diminution de la faim (concentration finale significativement plus élevée pour le GLP-1 et plus faible pour la ghréline, en condition de fractionnement plus important). Mehra *et al.* (2010) n'ont, quant à eux, pas mis en évidence de différence dans les concentrations en ghréline, PYY et leptine dans leur étude chez les jeunes enfants. L'étude la plus récente, par Munsters *et al.* (2012) n'a montré aucune différence dans les ASC de ghréline et de GLP-1 en comparant sur 24 heures, la consommation des mêmes aliments en 3 vs. 14 prises. A noter que dans cette étude, les ASC ont été calculées à partir de 5 points uniquement sur une durée de 24h, avec en particulier un seul prélèvement (à 13h) entre 9h et 18h, posant la question de la pertinence de ces résultats. En effet, en considérant si peu de points, le choix des heures de prélèvement (en particulier celui de 13h, situé juste après un des repas de la condition en 3 prises) peut modifier considérablement la forme de la courbe et donc les ASC associées.

L'ensemble de ces résultats sur l'effet de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit ne permet pas de tirer de conclusion solide. Le peu de résultats disponibles, l'hétérogénéité dans leur exploitation et les conclusions contradictoires entre études expliquent cette difficulté à prendre position. Il semble aussi qu'en fonction du type de sujets (de poids normal, obèses), les effets puissent être différents (Mehra *et al.*, 2010), sans que cela soit pour autant confirmé (Speechly *et al.*, 1999b; 1999a). Le tableau 4 attire également l'attention sur le contexte dans lequel chacune des études répertoriées a été réalisée. Toutes ces études ont été menées dans un contexte « non écologique », c'est-à-dire une situation non naturelle de consommation, non représentative de la vie quotidienne : chambre d'hôpital ou chambre calorimétrique, en position semi-allongée ou en position assise pendant plusieurs heures, de façon concomitante à des prélèvements sanguins en continu ou d'autres mesures physiologiques. Tous ces éléments posent la question de la validité de mesurer l'appétit dans de tels contextes, pouvant être vecteurs de stress important. Nous avons vu précédemment que l'induction d'un stress pouvait modifier considérablement l'appétit dans des directions imprévisibles en fonction des sujets (cf. tableau 2). Les types de repas *ad libitum* proposés dans ces études ne reflètent le plus souvent pas non plus la réalité d'un vrai repas (hachis Parmentier à volonté (Speechly *et al.*, 1999b; 1999a), glace à volonté (Mehra *et al.*, 2010). Ces repas *ad libitum*, avec un seul item alimentaire, ne prennent pas en compte le phénomène de rassasiement sensoriel spécifique et la question se pose si les mêmes comportements alimentaires auraient été observés en présence par exemple d'une variété plus large d'aliments, ou dans un contexte de consommation moins stressant et plus proche d'une situation quotidienne de restauration.

2.6 Bilan : un besoin d'études contrôlées sur les liens entre fréquence des prises alimentaires et santé

Ce deuxième chapitre a mis en lumière les résultats contrastés de la littérature scientifique sur les effets de la fréquence des prises alimentaires sur la balance énergétique et sur le métabolisme. Si les résultats chez l'animal semblent aller dans le sens d'un effet positif de l'allongement des périodes inter-prandiales (donc d'une faible fréquence des prises alimentaires), allant de pair avec le respect des périodes de jeûne, les résultats chez l'humain sont contradictoire en fonction des approches méthodologiques, ou même entre études utilisant les mêmes approches.

Les auteurs utilisant l'approche épidémiologique, ont pendant longtemps conclu à un effet positif d'une augmentation de la fréquence des prises alimentaires quotidiennes, en ligne avec les résultats les plus anciens de Fabry *et al.* (1964). Plus récemment, plusieurs auteurs ont mis en garde sur les biais méthodologiques majeurs dans ce type d'études, pouvant fausser l'interprétation des résultats (Bellisle *et al.*, 1997; McCrory *et al.*, 2011). Certains concluant à l'absence d'effet de la fréquence des prises alimentaires sur le poids corporel (Bellisle *et al.*, 1997), d'autres démontrant un effet délétère de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires (Huang *et al.*, 2005; McCrory *et al.*, 2011) remettant en question les résultats initiaux de Fabry *et al.* (Fabry *et al.*, 1964; Hejda *et al.*, 1964).

Les études d'intervention proposant à des sujets de modifier leurs rythmes alimentaires pendant une ou plusieurs semaines ou même plusieurs mois, ne permettent pas non plus de tirer des conclusions claires quant à l'effet induit par ces interventions sur le poids ou la composition corporelle. Beaucoup d'études concluent à l'absence d'effet, mais la question se pose de savoir si cette méthodologie est adaptée pour avoir comme paramètre principal d'intérêt la modification du poids. En effet, ces études sont, pour beaucoup, mises en place sur de courtes périodes (rendant difficile la mise en lumière d'une perte de poids spécifiquement induite par une modification de la fréquence des consommations), et les interventions portant sur de plus longues durées posent le problème de l'adhésion des sujets. L'effet le mieux démontré par les études d'intervention serait l'effet bénéfique (ou pour le moins l'absence d'effet délétère) d'une augmentation des fréquences de consommation sur la cholestérolémie (Bhutani *et al.*, 2009).

Enfin, les études expérimentales qui permettent d'étudier « en aigu » l'effet de modifications de fréquences d'ingestion d'une même portion alimentaire, montrent le plus souvent des profils glycémiques et insuliniques différents. Mais l'effet potentiel de ces modifications cinétiques n'est pas clair. Les ASC trouvées pour ces paramètres sont parfois différentes entre conditions, parfois sans changement, mais l'effet du non-retour à l'état basal de ces paramètres, témoignant de la perte de la période de jeûne inter-prandial, n'est pas connu. Les conséquences métaboliques de ces profils doivent être étudiées dans des études intégratives prenant en compte une large variété de

paramètres d'intérêt. Les effets sur l'appétit, tant sur les sensations de faim que sur les consommations *ad libitum* ne sont pas tous concordants et sont probablement influencés par les protocoles expérimentaux mis en place ; alors que le dosage des biomarqueurs de l'appétit est encore récent dans les études sur la fréquence des prises alimentaires et les procédures d'analyse non encore uniformisées, rendant difficile la comparaison entre études.

Face à cette difficulté à conclure, de nombreux auteurs ont mis en avant la nécessité de mettre en place de nouvelles études permettant de mieux comprendre les liens pouvant exister entre la fréquence des prises alimentaires et l'équilibre de la balance énergétique, via l'appétit ou le métabolisme (Bellisle *et al.*, 1997; Danone Vitapole, 2004; Mattson, 2005; Palmer *et al.*, 2009; Leidy *et al.*, 2010b; La Bounty *et al.*, 2011; McCrory *et al.*, 2011; Mesas *et al.*, 2011). Jenkins *et al.* (1992) mettait en avant la question du contexte dans lequel ont lieu les études expérimentales et la difficulté à considérer dans le même temps des données métaboliques et comportementales : « *Our study was (...) metabolically controlled. We have not been able to address the complex interaction of factors that determines food intake in real-life situations. Considerably more studies will have to be carried out to determine the optimum meal frequency (...).* » Dans leur revue de littérature, Bellisle *et al.* (1997) mettaient en avant l'importance des choix méthodologiques, en particulier concernant l'offre alimentaire proposée aux sujets d'études : « *Future research might usefully investigate the effects of meal frequency on spontaneous food selection and on the regulation of energy intake* ». Enfin, dans un court article publié dans The Lancet et intitulé « *The need for controlled studies of the effects of meal frequency on health* », Mattson (2005) écrivait : « *The fact that such a fundamental aspect of our dietary habits, the number of meals we eat every day, has not yet been subject to rigorous scientific investigation is remarkable* ».

Ce travail de thèse s'inscrit dans la lignée de ces besoins exprimés par la communauté scientifique. Nous allons dans le chapitre suivant présenter nos objectifs et les différentes questions de recherche auxquelles nous avons essayé de répondre par la mise en place de ce projet de recherche.

Chapitre 3 : Problématique et objectifs

Les deux premiers chapitres ont mis en avant la complexité du paramètre d'intérêt qu'est l'appétit, de par les voies physiologiques qui entrent en jeu dans sa régulation et les paramètres comportementaux qui viennent moduler cette régulation, eux-mêmes susceptibles d'être influencés par de nombreux facteurs environnementaux. Nous avons également mis en avant l'intérêt de coupler l'étude de l'appétit avec d'autres paramètres entrant en jeu dans l'équilibre de la balance énergétique ainsi qu'avec des paramètres d'ordre métabolique. Nous avons aussi présenté l'état des connaissances scientifiques sur l'effet de la modification de la fréquence des prises alimentaires sur la santé, en focalisant notre attention sur l'équilibre de la balance énergétique et en particulier sur l'appétit. Cette revue de la littérature a mis en évidence la difficulté à conclure sur l'effet potentiellement bénéfique ou délétère de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires.

De nombreuses questions méthodologiques ont été soulevées tout au long de cette revue de littérature. Étant donné les biais méthodologiques importants qui sont liés aux études épidémiologiques étudiant la question de la fréquence des prises alimentaires, la difficulté à mettre en place des études d'intervention, qui sont souvent de trop courte durée pour espérer observer des effets sur le poids, ou trop longues pour observer une bonne adhésion des sujets, l'approche expérimentale, même si elle n'explore le phénomène qu'en « aigu », semble adaptée pour mieux comprendre les mécanismes qui sont mis en place lors de la modification de la fréquence des prises alimentaires.

Cependant, les études expérimentales étudiant l'appétit font émerger d'autres problèmes méthodologiques. Tout d'abord, celles-ci ont lieu le plus souvent en laboratoire, pour des raisons pratiques de mesure des variables physiologiques d'intérêt. Or, nous avons mis en avant la complexité de l'appétit et sa sensibilité aux paramètres environnementaux. La question se pose de la pertinence de l'étude de l'appétit dans un contexte physique qui ne correspond pas à une situation écologique de consommation, ou en tout cas à une situation très spécifique (par exemple une chambre d'hôpital). En plus du problème de l'environnement physique, l'exploration de l'appétit simultanément à des prises de sang, ou des mesures de calorimétrie indirecte (pour lesquelles le sujet est allongé sur un lit, le visage étant sous une cloche transparente) est susceptible d'engendrer du stress et donc un biais (dont le sens est imprévisible) chez les sujets.

Le **premier objectif** de ce travail de thèse est d'ordre méthodologique. Il a été de proposer une méthodologie d'étude expérimentale intégrée de l'appétit qui tente de pallier ces biais potentiels que nous venons de citer. La collaboration entre le Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse et le Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes nous a permis de proposer une

méthodologie permettant à la fois la réalisation de mesures liées à l'appétit dans un contexte écologique de consommation et une investigation clinique approfondie des paramètres physiologiques d'intérêt, liés directement à la régulation de l'appétit ou au métabolisme.

Après la proposition de la méthodologie ([Article 1](#)), la réalisation de cet objectif a nécessité une étape de validation du volet comportemental ([Article 2](#)). Nous présenterons en particulier comment nous sommes allés plus loin dans l'exploration comportementale de l'appétit qui se limite habituellement à la seule mesure de l'énergie totale ingérée, en proposant une exploration cinétique de l'ingestion du repas.

Le **second objectif** de ce travail est, grâce à l'utilisation de la méthodologie proposée et validée, d'étudier les conséquences à court terme de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur la balance énergétique (en considérant les aspects physiologiques et comportementaux de l'appétit, ainsi que les sensations subjectives qui lui sont liées) et sur le métabolisme.

Nous avons dans un premier temps considéré une population de poids normal, ne présentant aucune pathologie physiologique ou comportementale ([Article 3](#)). La dernière étape de notre travail a été de travailler auprès d'une population de personnes obèses ([Article 4](#)). Le choix de cette dernière population d'étude réside dans le fait que les sujets obèses sont susceptibles de présenter une dérégulation métabolique et/ou de l'appétit, induisant potentiellement des réponses comportementales ou physiologiques différentes de celles des sujets de poids normaux, suite à une modification de la fréquence des prises alimentaires. Par ailleurs, les personnes obèses sont celles qui sont parmi les plus ciblées par toutes les sources d'information « grand public » suggérant de modifier la fréquence de leurs prises alimentaires dans un objectif d'une perte de poids ou d'un meilleur contrôle de l'appétit.

Pour répondre à cet objectif, nous avons évalué les effets d'une augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires (que nous appelons donc fractionnement alimentaire) sur les sensations liées à l'appétit, la consommation et le comportement alimentaire au repas suivant, les cinétiques des concentrations plasmatiques des hormones jouant un rôle dans la régulation de l'appétit et les cinétiques métaboliques (dépense énergétique et utilisation des substrats énergétiques). Etant donné les résultats contradictoires que nous avons préalablement présentés dans la revue de littérature, nous n'avions au commencement de l'étude pas d'hypothèse forte concernant le sens dans lequel chacun de ces paramètres pris individuellement pouvait être impacté. Notre travail consistait à confirmer (ou infirmer) l'effet potentiellement bénéfique de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit et sur le métabolisme, afin de fournir une vision globale de la réponse des individus soumis à un fractionnement alimentaire, et ce chez des sujets de

poids normal et chez des sujets obèses. Par le choix de ces populations, nous avons fait l'hypothèse que les réponses chez les sujets obèses seraient potentiellement différentes de ceux de poids normal.

PARTIE B - Propositions et validations méthodologiques

Chapitre 4 : Proposition d'une méthodologie originale d'étude de l'appétit

4.1 Introduction

La première étape dans ce travail de thèse a été la proposition d'un protocole expérimental permettant d'étudier l'effet de paramètres d'intérêt sur l'appétit, en prenant en compte à la fois ses aspects physiologiques (et les paramètres métaboliques pouvant être associés) et ses aspects comportementaux mesurés en milieu écologique, et en allant plus loin dans l'exploration comportementale de l'appétit, limitée le plus souvent à une simple mesure d'énergie totale ingérée. Cette proposition méthodologique a fait l'objet d'une publication dans *Food Quality and Preference*. L'article qui suit présente :

- dans un premier temps les méthodes le plus souvent utilisées dans les études sur l'appétit en milieu expérimental,
- puis notre proposition de méthodologie basée sur la duplication d'un même protocole d'étude dans un centre de recherche en nutrition clinique (CRNH Rhône-Alpes) pour l'exploration des paramètres physiologiques, et au Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, équipé d'un restaurant expérimental, permettant d'étudier les comportements alimentaires en milieu écologique et contrôlé. Nous proposons dans cet article d'étudier le repas d'un point de vue cinétique, grâce en particulier à l'utilisation d'enregistrements vidéo. La figure 20 présente des photos de la situation de repas proposée.



Figure 20 : Photographies du buffet *ad libitum* individuel proposé aux sujets au restaurant expérimental de l'Institut Paul Bocuse (A), d'un sujet en situation de choix (B) et d'un sujet en situation de consommation (C) au cours d'un repas. Les photos B et C ont été prises à partir des enregistrements vidéo des repas.

4.2 ARTICLE 1 : Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety



Contents lists available at ScienceDirect

Food Quality and Preference

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodqual

Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety

Xavier Alliot^{a,b,*}, Laure Saulais^a, Emmanuel Disse^b, Julie Anne Nazare^b, Camille Cazal^b, Martine Laville^b

^a Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, 69130 Ecully, France

^b Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes (CRNH-RA), Centre Hospitalier Lyon Sud, Pavillon médical, 165 Chemin du Grand Revoyet, 69310 Pierre Bénite, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 October 2010

Received in revised form 8 March 2011

Accepted 16 May 2011

Available online xxx

Keywords:

Eating behavior

Food intake

Satiety

Buffet meal

Nutrition research

ABSTRACT

Satiety is a complex object which requires to be studied both from a metabolic and a behavioral point of view. In this paper, we review and discuss the methodological issues associated with the experimental measure of satiety. We propose an integrated approach where satiety measurements are dissociated in two different places, to allow for an in-depth exploration of both metabolic and behavioral aspects. Additional behavioral measurements are developed at the food choice level and at the level of the microstructure of the meal. We illustrate the implementation of this behavioral design with data obtained in a pilot study with 14 subjects.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The importance of the relationship between eating behaviors and health, and particularly obesity and certain chronic diseases such as type 2 diabetes is now acknowledged both in academic communities and in public opinion. Finding the key factors influencing food intake has thus become a topic of interest for public health policy makers willing to promote and support healthier food-related practices, but also for food industries wishing to adapt their products to new demand trends.

Daily food intake, or total daily energy intake, is a function of both the number of eating occasions per day and their size. Therefore, one of the factors which can be acted upon in order to modify food intake is satiety. Hunger and satiety are psycho-physiological states that, respectively, elicit or inhibit food intake (Bellisle, 2005). Satiety is the feeling of fullness that persists after eating, and affects the period of time between eating occasions – and thus its daily number – (Benelam, 2009), while hunger can be defined as a conscious sensation reflecting a mental urge to eat (Blundell et al., 2010). These notions are inseparable from that of satiation – the process that causes one to stop eating – and are important in controlling the amount of energy consumed at each eating occasion (Benelam, 2009).

Because of this link between satiety and food intake, satiety is increasingly seen as a source of added-value for the agribusiness

industry, which has developed satiety-based weight-control products. Research on different nutrients composition, texture and form of foods and their relationship with satiety and weight management is very active at the moment (Lyly, Due, Gunnarsdottir, & Karhunen, 2009). Ingredient and food manufacturers are promoting their products to “suppress appetite”, “provide sustainable energy” or “to keep you fuller for longer”.

Food consumption and satiety are also the topic of different fields of research including physiology, nutrition, psychology, biochemistry or endocrinology. All of these researchers share, as one of their primary goals, the attempt to understand the mechanisms responsible for human food consumption (Blundell & Stubbs, 2003). An important point is that there is no “gold standard” for appetite and satiety research with regard to methodology (Lyly et al., 2009), and it is of greatest interest to work on this field. A better understanding of satiety and satiation appears to be fundamental to understand the mechanisms that lead someone to start and stop eating.

As psycho-physiological constructs, the notions of satiety and hunger are at the meeting point between several scientific fields, making them complex phenomena to study and measure. This represents a real methodological challenge. In common approaches of satiety, focus is placed either on a metabolic or a behavioral point of view, with partial perspective of the other dimension. It is difficult to fully take into account these two points of view in a same study, especially because of the location of the study and the concomitance of measurements. Indeed, metabolic studies have to be done in a hospital-based laboratory where there is a danger of creating behavioral artifacts due to the experimental and artificial

* Corresponding author at: Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, 69130 Ecully, France. Tel.: +33 0 4 72 18 54 66; fax: +33 0 4 72 18 54 69.
E-mail address: xavier.alliot@institutpaulbocuse.com (X. Alliot).

environment. Furthermore, if free-living studies allow subjects to behave in their natural environment, they do not permit to control relevant parameters, which may influence these behaviors and even less to add a complete metabolic component to the research.

2. Objective

The aims of this article are:

- To discuss the experimental methods commonly used for satiety studies;
- To propose an integrated approach for studying satiety, based on:
 - The duplication of a protocol in two sites: one specialized in clinical nutrition, the other equipped for studying with precision eating behaviors during a meal.
 - In-depth behavioral measurements of eating behavior during a regular meal in a normal eating environment. We illustrate this approach with data obtained during a pilot experimental campaign with fourteen subjects. Behavioral data but not blood samples and metabolic data have been obtained in this pilot study.

3. Overview of usual methods used to study satiety in experimental context

Hunger, satiation and satiety are subjective constructs and, as such, are not open to direct measurement (Mattes, Hollis, Hayes, & Stunkard, 2005). Three assessment methods are commonly used: measurement of food intake, measurement of the subjective disposition to eat, measurement of biomarkers of satiation and satiety.

3.1. Measurement of food intake

Studies which aim to measure the effects of a specific dietary intervention on the short-term regulation of food intake generally follow a *preload design* (Blundell et al., 2010). Such a design implies, after a fasting period, to give subjects a preload food in order to follow, after a pre-determined time interval, the effects on subsequent spontaneous food intake. The dietary variable of interest is manipulated in the preload food and, depending on the purpose of the study, may be either the macronutrient composition (Rolls et al., 1994), the physical state of food (Mourao, Bressan, Campbell, & Mattes, 2007), the volume and energy density (Rolls et al., 1998), the eating design (Speechly & Buffenstein, 1999), the sensory perception of food (Sorensen, Moller, Flint, Martens, & Raben, 2003) or the cognitive characteristics associated with the preload food (Pliner & Zec, 2007). A within-subject repeated measures design is commonly used: a non-preload (or a control) treatment is proposed to the same subjects in order to constitute a reference point of measure.

Subsequent food intake may be self-reported by participants using food diaries. But in order to obtain more precise quantitative data consumption, an *ad libitum* test meal is generally proposed to the subjects, during which food intakes are measured by weighing foods available in the buffet before and after the meal. This kind of protocol is also used in order to assess, instead of dietary interventions, the effect of clinical intervention, instructions (Leone, Pliner, & Peter Herman, 2007), exercises, physical activity or environmental factors (Peneau et al., 2009), on subsequent energy intake.

Reviews detailing methodological aspects of the experimental measurement of food intake have been carried out early (Hill, Rogers, & Blundell, 1995) and recently (Blundell et al., 2010). These reviews emphasize the key importance, in these experimental designs, of the composition of the test meal proposed after the pre-

load, which can differ in the variety of food offered, in function of the aim of the study. Two types of test meals designs are identified: “single course” and “buffet type” meals. In the following parts, we present the main methodological points discussed in these reviews regarding both designs.

3.1.1. “Single course meal” design

When the variable of interest is the total amount of food and energy consumed during the meal, a “single course meal” design is proposed for the test meal (Gregersen et al., 2008). For example, a large portion of pasta with cheese and tomato sauce (Lara, Taylor, & Macdonald, 2010) or a pizza (Bellissimo, Thomas, Pencharz, Goode, & Anderson, 2008) is proposed to the subjects and only the total amount eaten is measured. The single course can be used to assess short-term energy compensation, especially when no difference in food selection is expected from the preload manipulation. The main advantages of the single course meal design are that it is quite simple to implement and to analyze, and that the results produced can be directly interpreted. However, a single course meal poorly reflects the reality of a regular meal in terms of foods variety and structure (a western-style meal is most often composed of more than one course). Furthermore, proposing only one food item during a meal presents another limit. Normally, after consumption of a particular food, the pleasantness of the taste of the food declines. This change in palatability, called sensory-specific satiety, is associated with a decreased consumption of the previously eaten food and a shift in consumption to other food choices during a meal (Rolls, Rolls, Rowe, & Sweeney, 1981). This phenomenon cannot be taken into account while using single course meals. Finally, focusing on only one indicator to characterize the meal (the total energy intake) omits the qualitative aspects of the meal composition. This could constitute a major limit, especially in the study of research questions directed at public health interventions, in a context where nutritional recommendations concern nutrients, products, and food categories, rather than total daily energy intake (Hercberg, Chat-Yung, & Chauliac, 2008).

3.1.2. “Buffet type meal” design

The other option is to adopt a “buffet-type meal” design, in which a large variety of food is offered to the subject. In addition to total energy intake, this type of design allows to assess food choice and nutrient intakes, which are compared across treatments in within-subjects experiments (Arvaniti, Richard, & Tremblay, 2000; Kral et al., 2009). With this design, the proportions of macronutrients in the subjects’ intakes may vary across experimental conditions, reflecting food choices. Many variations are found in the design of the buffets in the literature. In most cases, the subject is eating alone, seated at a large table, on which food and beverage items are arranged, in close proximity to the subject. The position of food items on the table can either be fixed for all subjects and sessions (Arvaniti et al., 2000), or randomized across sessions in order to prevent potential order effects (Kral, 2006). The food items are always clearly identified, either through a description made by the experimenter before the beginning of the meal (Arvaniti et al., 2000), or through the use of labels indicating the exact name of each food on the buffet (Kral et al., 2009). Each food item is served in individual dishes, which contain larger portions than the expected intake of the subjects. In some cases, if necessary, the subject has the possibility to ask for more of the food items during the meal. Depending on the study, the subject is instructed to eat *ad libitum*, to eat as much as he would in a normal meal, or to eat till satiety is reached without overeating. The maximum duration of the meal may be free or indicated to the subject (30 min) (Arvaniti et al., 2000; Nair et al., 2009). At the end of the meal, the amount of each food item consumed is calculated from the difference in weight before and after the meal.

Data collected and analyzed during a buffet test meal are total energy intake (kJ or kcal), proportion of carbohydrates, lipids and proteins, and sometimes energy density (kJ/g or kcal/g). Although other data such as the quantity of each food item consumed is available, they are not discussed in the literature studying the short-term effect of preload food on subsequent intakes.

Some aspects of buffet-type meal designs have been questioned in the literature. In particular, some authors have pointed that food selection from such meals may be prejudiced by the arbitrary nature of the food provided, and intakes can be unduly influenced by high energy density or salient sensory qualities (Blundell et al., 2010). In addition, the majority of research works based on buffet-type meal designs use cold buffets. When food is served hot, there is no mention of the equipment used to maintain the food temperature constant throughout the experiment (Kral et al., 2009). This could present a bias in the choice order of these items during the meal.

However, such designs provide the researcher with the opportunity to construct a meal situation closer in variety and structure to an actual meal; by allowing the subject to compose a meal with different courses and different foods, and by taking into account the phenomenon of sensory-specific satiety. The food behaviors can be studied not only from a quantitative, but also from a qualitative point of view.

3.2. Measurement of the subjective disposition to eat

Hunger and satiety can be measured with the help of subjective ratings (Flint, Raben, Blundell, & Astrup, 2000). Visual Analogue Scales (VAS) require the subject to answer a question (e.g., “how hungry are you right now?”) by placing a vertical cursor on a line anchored at each end with opposing statements (such as, in the case of the previous example, “I am not hungry at all” and “I am extremely hungry”). The position of the cursor is then converted into a score, generally ranging from 0 to 10. These scales are frequently used to ask questions such as: “how strong is your desire to eat right now?”, “How much food do you think you could eat right now?”, “How strong is your desire to consume something sweet or something savory right now?” (Flint et al., 2000). VAS may be recorded both before and at intervals after the preload is given, to monitor changes in reported satiety.

Traditional “pen and paper” scales have been validated as good tools to access emotional states and motivations to eat (Stubbs et al., 2000). More recently, electronic scales were validated. They are less time-consuming, permit to obtain less missing data and decrease the risk of errors in transferring data (Almiron-Roig et al., 2009; Whybrow, Stephen, & Stubbs, 2006).

3.3. Measurement of biomarkers of satiation and satiety

Another way to approach satiety and hunger is to collect blood samples at determined times and to measure concentrations of different hormones supposed to be biomarkers of satiation or satiety (de Graaf, Blom, Smeets, Stafleu, & Hendriks, 2004). When food is consumed, gut hormones from the stomach and intestine are released and act on the brain areas involved in appetite. All signals are integrated in the brain to affect energy intake and expenditure (Delzenne et al., 2010). For example, ghrelin, produced in the stomach and duodenum, stimulates food intake and is the most potent circulating orexigen known (Cummings, Frayo, Marmonier, Aubert, & Chapelot, 2004). Cholecystokinin (CCK) is released in the blood as a function of the presence of fat or proteins in the duodenum. The role played by CCK in the regulation of appetite is to decrease food intake, such as other peptides: glucagon-like peptide 1 (GLP-1) or peptide YY (PYY). In addition to these episodic signals, satiety is also affected by fluctuations in hormones such as leptin and insu-

lin, which indicate the level of fat storage in the body (Benelam, 2009).

4. Difficulties in measuring satiety

Research on satiety is made complex by the fact that other factors than internal appetite signals can affect how much people eat and how satisfied they feel after eating. Humans eat without being hungry for a number of reasons (for example, the availability of palatable foods or emotional stress) (Hill, Weaver, & Blundell, 1991; Yeomans, Blundell, & Leshem, 2004). They may also refrain from eating when hungry if psychological, social or environmental factors prevent them from consuming food (Mattes et al., 2005).

To maximize the chance to observe the effect of a variable on satiety, it is therefore advised to combine the metabolic, subjective and behavioral approaches (Blundell et al., 2010). However, studies on satiety often rely exclusively on metabolic or behavioral approaches, each combined with a subjective one, but only few studies so far have attempted to combine all three types of measurements.

When these approaches are mixed, the simultaneous implementation of these measurements presents different limits. Firstly, even in those studies which combine several types of measurements, a higher focus is attached either to the behavioral or to the metabolic part, which is carried out in-depth, to the detriment of the other. Researchers may for instance focus on the behavioral aspect of satiety, and complete the study with a few physiological measurements (Arvaniti et al., 2000); or, conversely, focus on the physiological aspect of satiety (for example with biomarkers kinetics), and complete the study with a single behavioral variable that is the total subsequent energy intake (Cummings et al., 2004). More importantly, the implementation of physiological measurements implies that the experiments often have to be carried out in a hospital-based laboratory, which may generate contextual or emotional biases to the behavioral measurements. In particular, the stress induced by the collection of blood, the presence of an intravenous cannula into the vein or repeated other physiological measurements (indirect calorimetry, measurement of the gastric emptying...) may strongly influence eating behaviors also recorded. As highlighted by Meiselman (2007), it is highly important to take care of context and environment when we study eating behaviors and particularly food choice. Such highly unnatural designs may thus be incompatible with the realization of accurate behavioral measurements.

5. Towards an integrated approach of satiety

5.1. Specific locations for specific measurements

Blundell and Stubbs (2003) highlighted that research studies on appetite must be “multidisciplinary in nature” and favor “a methodological approach with attempts to bridge the gap between the laboratory and the real world by overlapping protocols that explore the same issue in different environmental contexts”. In the case of studying the impact of any parameter of interest on satiety, this requires taking into account at the same in-depth level the metabolic and the behavioral approach, and avoiding biases related to the study of eating behaviors in a clinical environment. One way to achieve this goal, is to separate temporally and geographically these two aspects and these two categories of measurements. In other words, as metabolic measurements are commonly performed in a place dedicated to clinical nutrition research, we propose that the associated food behavioral measurements should be performed in a place dedicated to food and catering. This temporal and geographic dissociation implies replicating the same protocol

in two locations using a within-subject repeated measures design. In the case of preload design studies, the same dietary variable of interest would be manipulated in a preload food given to the same subjects:

- In a clinical centre for an in-depth physiological exploration (kinetics of glycemia, lipid parameters, biomarkers of satiety and oxidative stress, indirect calorimetry measurements, ...).
- In a “food behavioral” centre, for the measurements of the effects of the variable of interest manipulated in the preload food during the subsequent *ad libitum* test meal.

This methodological specificity allows a more in-depth behavioral exploration than commonly performed in metabolic-oriented satiety studies. Such an exploration requires the development of dedicated behavioral measurements methods. In the remainder of the paper, we will present the behavioral approach of satiety that has been developed in the context of the association between two research centres: the Research Centre in Human Nutrition – Rhône-Alpes (CRNH-RA) and the Institut Paul Bocuse Research Centre. CRNH-RA is a clinical centre specialized in metabolic research in nutrition, while the Institut Paul Bocuse Research Centre specializes in the study of eating behaviors, perceptions and practices, and is equipped with an experimental restaurant which makes it possible to study eating behaviors with precision, in an environment more natural than classical laboratories (Giboreau & Fleury, 2009).

5.2. Development of a behavioral approach of satiety in a normal eating situation

After the manipulation of the variable of interest, subjects are placed in an eating situation, in order to measure the effects of this variable on subsequent food intakes and behaviors. The behavioral exploration method was designed to keep the observed eating situation as natural as possible. The focus was placed on two levels: (i) non-invasive measurements and (ii) a controlled but ecological eating environment.

- (i) In addition to the absence of any physiological measures during the course of the test, the use of methods of measures requiring a conscious intervention of the subjects or disrupting the course of the meal, is limited as much as possible. The majority of behavioral data is obtained by observation: subjects are video-recorded during the meal and their food intakes are measured after the meal by weighing the remaining food. The only measure actively involving the subjects is their disposition to eat, recorded with electronic scales assessing their hunger, thirst, fullness, prospective food consumption, and desire to eat something savory, sweet or salty.
- (ii) The eating situation proposed is a buffet-type meal which takes place in an experimental restaurant organized so as to receive five subjects at the same time. Compared with other studies using buffet-type meal designs, some adaptations have been made towards the creation of a more natural environment. A “brasserie” ambiance is created, using brasserie furniture and a musical environment, to create a more pleasant context for eating. The same lounge-type music is broadcasted for all sessions with all subjects. Music is suspected to increase the amount eaten during a meal and the meal duration (Stroebele & de Castro, 2006). However, in a within-subject repeated measures design, the fact that the same music is always proposed, limits the interference of the musical environment on the effect of our variable of

interest on energy intake. If the musical environment can easily be controlled, it is more difficult to standardize the social environment. Social interaction has been demonstrated to increase food intake in humans (de Castro & de Castro, 1989), and this influence may be different depending on the nature of the relationship between the subjects (de Castro, 1994). Thus, as it is difficult to control the level of socialization between the participants, we made the choice to create five individual spaces of service and consumption, using decorative folding screens, where subjects are invited to eat and not to communicate with others.

Subjects eat, seated in front of a small table. Contrary to most buffet-type meals, they have to get up to serve themselves, as in an actual buffet. Each buffet is individual and located close to the subject’s individual table. They can choose from a range of cold and hot food items, as in a typical French meal. The position of food items on the table is fixed. For each course, a choice of classical French food items with varied macronutrient compositions is offered (Table 1). Each food is available in larger quantities than the expected intake for an average subject. All food items are cut into small pieces, to avoid suggesting the portion to eat. Therefore, a subject can adjust, for each food item, the exact quantity he wants to eat. The subject is invited to eat until he is comfortably full, during a free period of time. The subjects can get up and help themselves to any food item in any quantity freely during the meal. Chafing dishes, commonly used for French buffets, are used in order to keep hot food items at constant temperature all throughout the meal. To correct the data for the weight loss of food items due to evaporation during the time of the meal, a coefficient of evaporation is calculated for each food item using a control buffet.

5.3. Additional measures of eating behavior during a regular meal in a normal eating environment

A pilot experimental campaign allowed us to test for the behaviors of subjects at the buffet in this configuration. As an illustration, we present, in the following part of this paper, the data obtained with the fourteen subjects who reported at the Institut Paul Bocuse Research Centre for a meal in the context of this pilot study. We first present the main characteristics of our data sample, and then we introduce the additional behavioral measures made possible by our design, which could complement metabolic oriented studies of satiety. Two types of measures were developed: at the food level items level and at the level of the microstructure of the meal. We put this data in perspective with results obtained in the literature.

5.3.1. General characteristics

The 14 subjects were all men who declared having a moderate physical activity. Before being recruited, subjects had to rate the foods served in the buffet on a Likert scale in eight points. To be eligible, a subject had to rate at least 80% of foods offered in the buffet with a score higher than 5. The mean age of the subjects was 25.4 ± 3.2 years. All subjects had a Body Mass Index (BMI) between 20 and 25 kg/m².

Mean total energy intake for the 14 subjects was 1438 ± 369 kcal, which represents more than 48% of their total daily energy needs, as calculated with the Harris and Benedict equation (Van Way, 1992) for men who have a moderate physical activity. The large variability between subjects in total energy intake (sd. = 369 kcal; range: 734–2208 kcal), confirms the necessity, in such studies, to use a within-subject repeated measures design. Moreover, consuming about half of one’s daily energy needs in only one meal may be viewed as overfeeding. This is a usual observation when subjects have *ad libitum* access to a variety of foods in a laboratory (Larson, Rising, Ferraro, & Ravussin, 1995). The presence of

Table 1Energy content and macronutrient composition of the food items presented in the buffet meal^a, initial amount of each food item offered to one subject.

Food item	Initial amount (g)	Energy (kcal/100 g)	Protein (g/100 g)	Lipid (g/100 g)	Carbohydrate (g/100 g)
Grated carrots (seasoned)	300	142.7	0.7	13.1	5.5
Pâté de campagne [*]	200	292.2	16.5	24.6	1.2
Rice (seasoned)	400	140.6	2.2	3.0	26.2
French beans (seasoned)	350	71.0	1.5	4.6	5.9
Fried potatoes [*]	300	245.4	2.7	11.4	33.0
Sausages [*]	190	309.5	19.0	25.5	1.0
Chicken breast	240	123.9	22.2	3.9	0
Cottage cheese	270	73.2	7.3	3.2	3.8
Cheese (Comté) [*]	150	408.0	29.0	32.0	1.0
Stewed fruit	300	67.0	0.3	0.2	16
Chocolate cake [*]	300	401.9	6.4	23.1	42.1
White bread	178	264.8	9.4	1.2	54.1
Sugar [*]	30	400.0	0	0	100.0
Water	1000	0	0	0	0

^a Energy, protein, lipid and carbohydrate content were calculated using the CIQUAL table from AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) and/or information on food labels.

^{*} High palatable food items.

a large variety of food is known to delay satiation, stimulate interest in different foods and promote increased food intake (Hetherington, Foster, Newman, Anderson, & Norton, 2006). This spontaneous overfeeding has to be taken into account in the interpretation of the results and could be a limitation of the use of the buffet meal in the case where the measurement of representative daily energy intake is important (Arvaniti et al., 2000). The free period of time given to the subjects for eating, could also explained this overconsumption of energy during the meal.

The distribution of energy intake among carbohydrates (37.1 ± 4.8%), lipids (46.4 ± 5.0%) and proteins (16.6 ± 2.1%) shows a high contribution of lipids in total energy intake, in comparison with other North American studies using buffet meal (41.1%) (Arvaniti et al., 2000) and with the latest national French survey in food consumption (38.5%) (AFSSA., 2007). This result could be explained by the increasing “lipidization” of the western diet, particularly in young people, since those studies. French recommendations from AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) for fat intake have recently increased from 30–35% of total energy intake to 35–40%. Nevertheless, the figures observed can also be explained by the fact that our buffet is too rich in lipids, or offers too many palatable foods rich in fat. Verifying this hypothesis would necessitate further data obtained with a buffet presenting food items with an increased proportion of carbohydrates and a decreased proportion of lipids.

5.3.2. Analysis of the meal at the food items level

The use of a buffet type design allows an exploration of the choices at the food item level. To the best of our knowledge, only one study (Nair et al., 2009) has attempted to characterize the food items chosen during a buffet-type meal. This study aimed at assessing the day to day reproducibility of food items consumed during a buffet test meal. This type of consumption data could be used in order to study the short-term effect of preload food on subsequent qualitative choices.

Concerning the number of food items consumed by the subjects during the meal, we observed little variability between subjects (from 8 to 12 food items consumed; mean = 11.0 ± 1.1). On average, the subjects consumed 11 food items among the 12 presented in the buffet. This suggests that the subjects adjusted their total energy intake by adjusting the amount of each food item consumed, rather than by choosing whether to consume or not each food item in a definite portion. Hence, the buffet we proposed is a tool which allows subjects to reach satiety by the way they want. The differences in intake observed between subjects seem to come

from the quantity of each food item consumed rather than from the composition resulting from a “binary choice” (eating or not a standardized portion of a food item).

We propose in our approach to study the effect of a parameter of interest on the quantity of each food item (or groups of food items) consumed. Depending on the research question, this data can be used to study intake of groups of interest of food items. For instance, when looking at the effect of one parameter on the initiation or the end of the meal, we could propose this grouping: first course/main course/dessert. In our sample, 32.0 ± 8.0% of the energy consumed by the 14 subjects came from first course food items. 37.5 ± 5.8% came from main course food items, and 30.5 ± 7.3% came from dessert food items. These results suggest a fairly good distribution of energy intake between the three courses of the meal. When investigating the effect of one parameter on the consumption of a specific category of food, we can propose another grouping: vegetables/starchy/meat/cheese/sweet food. In our sample, the 14 subjects consumed 13.3 ± 5.1% of total energy intake from vegetables, 29.8 ± 6.8% from starchy, 26.4 ± 7.2% from meat, 10.3 ± 5.5% from cheese and 20.2 ± 7.9% from sweet products. Yet another grouping could be: high vs. low palatable food (high palatable food items are indicated in Table 1). We observed that 49.0 ± 11.5% of the energy came from low palatable food item and 51.0 ± 11.5% from high palatable food item.

We believe that buffet-type meal design constitutes a tool that can provide data beyond the commonly found macronutrient distinction, opening ways in particular for research directed at nutritional communication towards the general population, who eat foods rather consuming macronutrients.

5.3.3. Analysis of the microstructure of the meal

Instructing people – particularly obese people – to eat more slowly, to take smaller bites, chew their food more and more slowly, has already been suggested for treatment of obesity, but changing the microstructure of eating behavior is probably not a relevant strategy (Spiegel, 2000). Nevertheless, in order to understand the effect of a chosen variable on satiety and control of appetite, studying the rhythms of the meal can help to understand the underlying mechanisms. For example, in a recent study, it has been suggested that the portion size effect occurs via changes in bite size in adults (Burger, Fisher, & Johnson, 2010).

Several variables may be used in order to describe the different rhythms of the meal. Firstly, the global rhythm of the meal may be described by total meal duration (from the first to the last bite) (in the case of our 14 subjects, the average meal duration was

24'29" ± 4'24"), the number of times subjects get up to serve themselves at the buffet (4.5 ± 2.0 times) which is one indicator of the motivation to eat, and the time spent at the buffet choosing foods (3'42" ± 0'46") which reflects attention from subjects towards food items. The high variability between subjects for these three variables (from 16'48" to 30'43" for meal duration; the subjects get up from 2 to 9 times and spent from 2'52" to 5'02" choosing foods) highlights large differences in term of behaviors at the buffet test meal.

Secondly, the rhythm of consumption of food can be described by the total number of bites during the meal (100.0 ± 20.7 bites), mean energy content of one bite (14.5 ± 2.9 kcal/bite), bite rate (4.2 ± 1.2 bite/min) and eating rate (58.6 ± 15.1 kcal/min). Eating rate is the amount of food consumed every minute during the meal. It has been suggested that the initial eating rate reflected excitatory influences and that the decline ingestion rate was a measure of "negative feedback inhibitory signals" (Davis & Levine, 1977). It has been shown, in men, that slower eating rate reduces the food intake (Martin et al., 2007). Changes in eating rates during a meal are also interesting to measure because it has been demonstrated for example, that restrained eaters eat at a constant rate compared to unrestrained eaters, who eat at a decelerated rate (Westerterp-Plantenga, Wouters, & Ten Hoor, 1991). Eating rate is commonly measured with homogeneous single course test meal, expressed in g/min and calculated for each quartile of the meal (Barkeling, Rossner, & Sjöberg, 1995). Few studies calculated eating rates during meals with various food items (Spiegel, 2000). Table 2 shows results for eating rates (in kcal/min) for each quartile of our buffet test meal. We observed a decreased eating rate for the first three quartiles, while it increased in the last one, which corresponds to the time of dessert consumption. This illustration highlights the interest of measuring eating rates in regular multi-courses meals with a choice in food items. Indeed, changes, such as decrease in eating rates during single course meals may be explained by the phenomenon of sensory-specific satiety instead of reflecting real satiety signals and the motivation to eat (including foods not yet eaten) of the subjects. Number of bites, mean energy content of bites, bite rate, consumption of total energy and energy from each macronutrient are also presented in Table 2.

This buffet design also allows us to decompose the meal structure at the level of the food items. Mean size and mean energy content of bites can be determined by food item. We found that average bite size for the different food items was very different, from 3.5 ± 1.8 g for bites of fried potatoes, to 11.6 ± 2.7 g for bites of grated carrots. Such differences have already been found in other studies (Spiegel, 2000). Average energy content of the bites for each food item could be more informative. It permits to determine the contribution of each bite to total energy intake during the meal. For example in our sample, bites of chocolate cake are the most caloric (34.6 ± 11.5 kcal/bite) whereas bites of stewed fruit are the less caloric ones (6.2 ± 1.8 kcal/bite).

Furthermore, video recordings of the meals make it possible to determine the sequence of food item selection, by collecting the time, the succession and the composition of each bite throughout

the whole meal. These data allow us to explore the kinetics of the meal, in the spirit of the works on the microstructure of human ingestive patterns. In-depth reviews of research performed in this field (Guss & Kissileff, 2000; Westerterp-Plantenga, 2000) show how cumulative food intake curves are obtained by weighing and monitoring continuously the eating process with a specific dispositive named Universal Eating Monitor (UEM). These curves integrate the parameters of consumption of an *ad libitum* single course meal, such as meal size, meal duration, eating rate, change in eating rate, bite size and bite frequency. The cumulative food intake parameters are found to be stable and consistent within subjects, and are sensitive to instructions, clinical or dietary interventions. Thus, the cumulative food intake curve is an adequate tool for an integrated characterization of eating behavior during a single course meal in human and for analyzing effects of dietary or clinical interventions that are hypothesized to affect meal size (Westerterp-Plantenga, 2000).

To our knowledge, microstructure of meals with different courses ingested in succession was assessed in a single study (Guy-Grand, Lehnert, Doassans, & Bellisle, 1994) which assessed the role of texture on ingestive parameters. In this study, the four successive courses of the traditional French meal were imposed. We did not find in the literature cumulative food intakes curves constructed with buffet-test meals design or more generally with designs where choice between various food items were given to the subjects during the meal.

These works are aimed at a specific range of research questions, and, because of the nature of the materials used to make observations, are generally laboratory-based and costly studies. Although our tools do not allow us to go as far as these studies in the description of the microstructure of the meal, the data we obtain can be used to generate cumulative food intake curves. Furthermore, our more natural buffet type meal design allows us to explore the structure of the meal from the angle of kinetics of food products choice and ingestion, which opens yet more potential ways of research in the study of satiety from a behavioral point of view.

Fig. 1 shows an example of cumulative total energy intake, energy from carbohydrates, lipids and proteins for one subject during the buffet test meal. These individual curves present a great interest for describing the behaviors of one subject during a meal. An integrative way to compare data between subjects and between sessions is to create mixed models (Martin et al., 2005). A comparison of different techniques commonly used to analyze cumulative food intake curves (area under curve, visual ascription and coefficient approach) can be found in Dovey, Clark-Carter, Boyland, and Halford (2009).

Depending on the problematic, the data obtained with our tool may be used to construct other kinetics, in particular by separating types of food into categories (low vs. high palatable, food groups, etc.). Fig. 2 represents the cumulative temporal consumption of energy from low and high palatable food items during the meal for the same subject than in Fig. 1. This representation shows for example, that 58% of the energy from low palatable foods was consumed in the first half of the meal, versus only 36% of the energy

Table 2
Description of the meal by quartile for 14 subjects, in term of percent of energy, number of bites, energy content of bites, bite rate and eating rate.

	Quartile 1 (mean ± sd.)	Quartile 2 (mean ± sd.)	Quartile 3 (mean ± sd.)	Quartile 4 (mean ± sd.)
% of total energy intake	28.5 ± 5.5	22.9 ± 5.0	22.3 ± 3.0	26.3 ± 5.4
% of energy from carbohydrates	21.5 ± 6.2	21.5 ± 5.9	22.7 ± 6.5	34.3 ± 7.6
% of energy from lipids	35.6 ± 7.4	21.5 ± 6.0	20.7 ± 4.8	22.2 ± 5.0
% of energy from proteins	24.4 ± 8.5	30.0 ± 9.6	26.4 ± 5.8	19.2 ± 8.7
Number of bites	23.9 ± 7.1	27.7 ± 8.1	23.4 ± 6.0	25.6 ± 8.8
Energy content of bites (kcal/bite)	17.4 ± 3.6	12.0 ± 2.7	13.9 ± 3.5	16.0 ± 6.0
Bite rate (bite/min)	3.9 ± 1.0	4.6 ± 1.5	3.9 ± 0.7	4.3 ± 1.5
Eating rate (kcal/min)	66.5 ± 14.1	54.2 ± 16.5	52.1 ± 8.3	61.7 ± 16.8

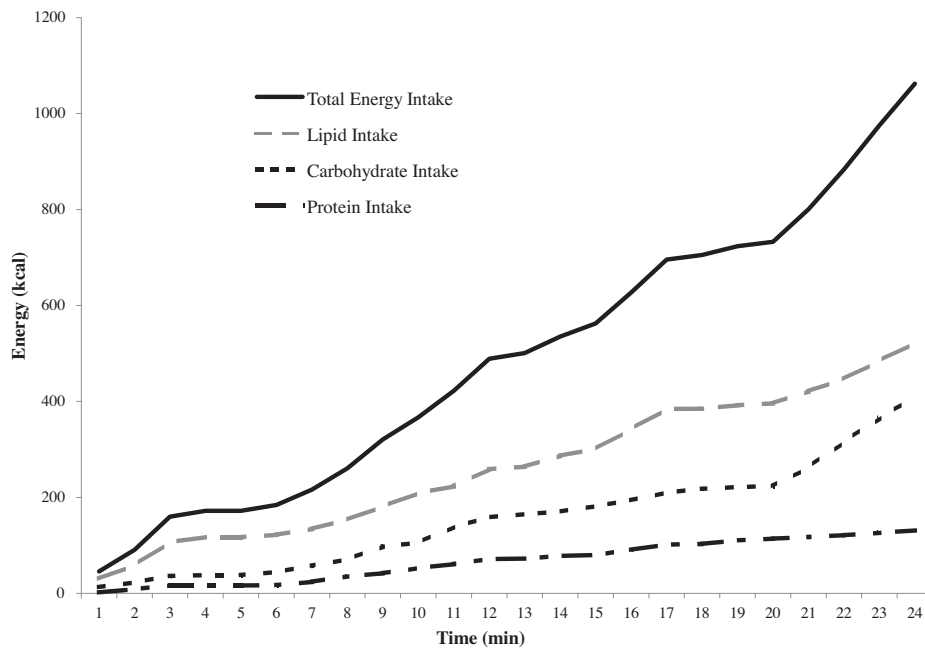


Fig. 1. Example of cumulative total energy intake, energy from proteins, lipids and carbohydrates, for one subject during its meal (with data aggregated per minute).

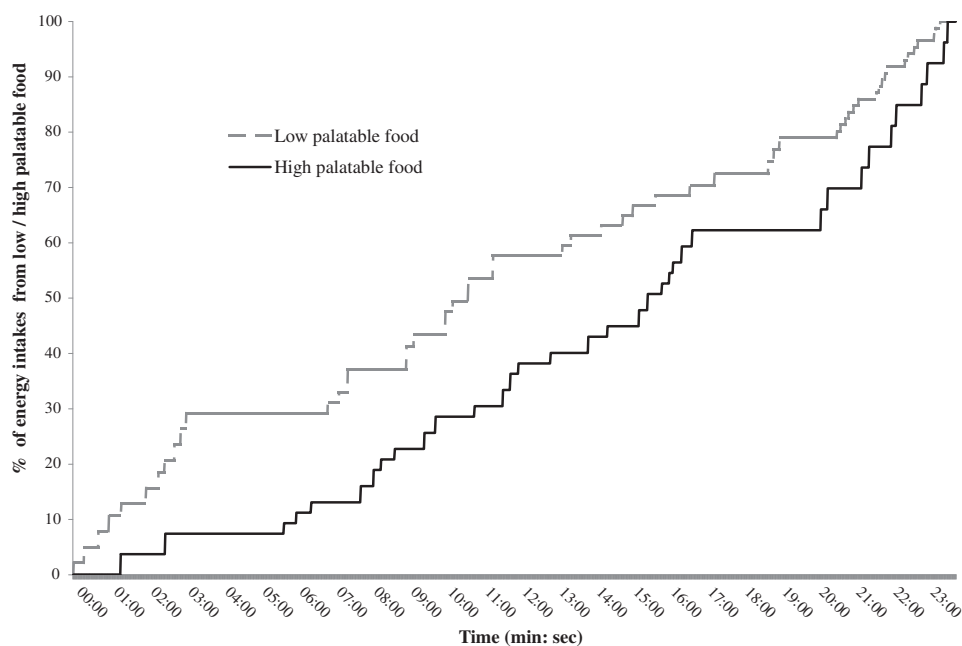


Fig. 2. Example of cumulative energy consumption from high palatable and low palatable food items (in% of energy intakes from low/high palatable food), for one subject during its meal.

from high palatable food. This suggests, for this subject, a greater attraction for palatable food in the second half of the meal.

Exploring deeply the progress of the meal, for this subject, we propose to realize kinetics of consumptions by food item, such as kinetics of meat or vegetables consumption, as it has been realized in an early study (Hadigan, Kissileff, & Walsh, 1989) exploring patterns of food selection during meals in women with bulimia. Fig. 3 shows, for the same subject, cumulative consumption (in kcal) of starchy, vegetables, meat, cheese and sweet products during the buffet test meal. For this subject, we can observe a similarity between the two curves for meat and starchy: not only the total contributions of these two items to total energy intake (respectively,

25.9% and 26.2%), but also the patterns to reach these total intakes are similar. The other remarkable point for this subject is the large and fast intake of sweet products at the end of the meal (329 kcal in 3'30"). With these short examples, it seems relevant to further investigate the impact of meal composition on the microstructure of a meal and its link to satiety.

6. Conclusion

Our design proposal presents the specificity to dissociate metabolic and behavioral measurements in specific locations, in order to study satiety in an experimental context. The behavioral

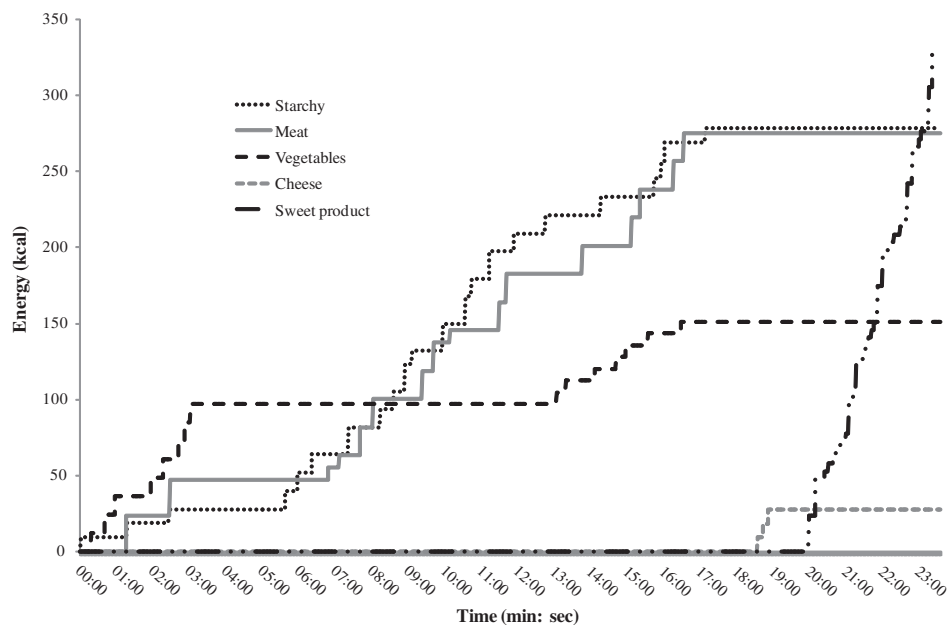


Fig. 3. Example of cumulative energy consumption (kcal) from starchy, vegetables, meat, cheese and sweet products, for one subject during its meal.

measurements are performed in a more realistic context than in classical laboratories. This characteristic of our protocol makes it possible to develop a more in-depth behavioral perspective in the context of metabolic oriented studies, in mainly two ways: by analyzing the meal at the food items level, and by analyzing the microstructure of the meal.

Proposing a test meal in a place dedicated to food and catering, and measuring behavioral data without interferences due to medical equipment (such as intravenous cannula or calorimetric dispositive) is a first step. Even though we need to control an important number of parameters in satiety studies, we hope to create more realistic catering situations in the future, especially by including social aspects of eating, as it has already been proposed in experimental contexts (Reinbach, Martinussen, & Møller, 2010; Weber, King, & Meiselman, 2004).

We presented behavioral data from 14 subjects who tested the buffet meal in the configuration we described in this paper. In order to fully validate this tool, the reproducibility of energy intake and other behavioral parameters during the *ad libitum* buffet test meal needs to be assessed for the particular buffet configuration that we presented. Reproducibility of energy intake during *ad libitum* buffet meals has been studied (Arvaniti et al., 2000; Nair et al., 2009), and was found to be highly reproducible. However, the reproducibility of eating behaviors, including microstructure of the meal, during a hot buffet meal, in another context than classical laboratories, with typical French foods, has to be demonstrated.

Satiety is at the junction of several scientific fields, making it a complex phenomenon to study and measure. These in-depth eating behavioral data, combined with kinetics measures of satiety biomarkers and energy metabolism measures should provide a new perspective on this psycho-physiological construct. The further we go in the multi-disciplinarity, the better we can understand satiety through its different aspects (behavioral, metabolic and subjective). We hope our methodological proposal will contribute to better understanding the complexity of satiety and assessing the effects of various parameters which could have an impact on it.

Acknowledgments

We would like to acknowledge the support from Foundation Nestlé France. We thank Agnes Giboreau, director of the Institut

Paul Bocuse Research Centre and Catherine Rouby (INSERM U1028-CNRS UMR 5292) for their constructive feedback. We thank Chief Patrick Ogheard from the Institut Paul Bocuse, for his technical help in the elaboration of the buffet. We are also grateful for the support from the members of the Institut Paul Bocuse and of the CRNH-RA.

References

- AFSSA. (2007). *Consommation alimentaire des Français. Etude individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2006–2007 INCA 2*. Paper presented at the Colloque "La situation nutritionnelle en France en 2007", Paris.
- Almiron-Roig, E., Green, H., Virgili, R., Aeschlimann, J. M., Moser, M., & Erkner, A. (2009). Validation of a new hand-held electronic appetite rating system against the pen and paper method. *Appetite*, 53, 465–468.
- Arvaniti, K., Richard, D., & Tremblay, A. (2000). Reproducibility of energy and macronutrient intake and related substrate oxidation rates in a buffet-type meal. *British Journal of Nutrition*, 83, 489–495.
- Barkeling, B., Rossner, S., & Sjoberg, A. (1995). Methodological studies on single meal food intake characteristics in normal weight and obese men and women. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 19, 284–290.
- Bellisle, F. (2005). *Faim et satiété, contrôle de la prise alimentaire*, *Traité d'Endocrinologie-Nutrition*. Encyclopédie Médico-Chirurgicale EMC. Paris: Elsevier SAS, pp. 179–197.
- Bellissimo, N., Thomas, S. G., Pencharz, P. B., Goode, R. C., & Anderson, G. H. (2008). Reproducibility of short-term food intake and subjective appetite scores after a glucose preload, ventilation threshold, and body composition in boys. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 33, 326–337.
- Benelam, B. (2009). Satiety, satiety and their effects on eating behaviour. *Nutrition Bulletin*, 34, 126–173.
- Blundell, J. E., de Graaf, C., Hulshof, T., Jebb, S., Livingstone, B., Lluch, A., et al. (2010). Appetite control: Methodological aspects of the evaluation of foods. *Obesity Reviews*, 11, 251–270.
- Blundell, J. E., & Stubbs, J. (2003). Diet composition and the control of food intake in humans. In G. A. Bray & C. Bouchard (Eds.), *Handbook of obesity. Etiology and pathophysiology* (pp. 427–460). New York: Marcel Dekker Inc.
- Burger, K. S., Fisher, J. O., & Johnson, S. L. (2010). Mechanisms Behind the Portion Size Effect: Visibility and Bite Size. *Obesity* (14 October 2010) doi: 2010.1038/oby.2010.2233.
- Cummings, D. E., Frayo, R. S., Marmonier, C., Aubert, R., & Chapelot, D. (2004). Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 287, 297–304.
- Davis, J. D., & Levine, M. W. (1977). A model for the control of ingestion. *Psychological Review*, 84, 379–412.
- de Castro, J. M. (1994). Family and friends produce greater social facilitation of food intake than other companions. *Physiology and Behavior*, 56, 445–455.
- de Castro, J. M., & de Castro, E. S. (1989). Spontaneous meal patterns of humans: Influence of the presence of other people. *American Journal of Clinical Nutrition*, 50, 237–247.

- de Graaf, C., Blom, W. A., Smeets, P. A., Stafleu, A., & Hendriks, H. F. (2004). Biomarkers of satiation and satiety. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 946–961.
- Delzenne, N. M., Blundell, J. E., Brouns, F., Cunningham, K., De Graaf, K., Erkner, A., et al. (2010). Gastrointestinal targets of appetite regulation in humans. *Obesity Reviews*, 11, 234–250.
- Dovey, T. M., Clark-Carter, D., Boyland, E. J., & Halford, J. C. (2009). A guide to analysing Universal Eating Monitor data: Assessing the impact of different analysis techniques. *Physiology and Behavior*, 96, 78–84.
- Flint, A., Raben, A., Blundell, J. E., & Astrup, A. (2000). Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 24, 38–48.
- Giboreau, A., & Fleury, H. (2009). A new research platform to contribute to the pleasure of eating and healthy food behaviors through academic and applied Food and Hospitality research. *Food Quality and Preference*, 20, 533–536.
- Gregersen, N. T., Flint, A., Bitz, C., Blundell, J. E., Raben, A., & Astrup, A. (2008). Reproducibility and power of ad libitum energy intake assessed by repeated single meals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 1277–1281.
- Guss, J. L., & Kissileff, H. R. (2000). Microstructural analyses of human ingestive patterns: From description to mechanistic hypotheses. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 261–268.
- Guy-Grand, B., Lehnert, V., Doassans, M., & Bellisle, F. (1994). Type of test-meal affects palatability and eating style in humans. *Appetite*, 22, 125–134.
- Hadigan, C. M., Kissileff, H. R., & Walsh, B. T. (1989). Patterns of food selection during meals in women with bulimia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 50, 759–766.
- Hercberg, S., Chat-Yung, S., & Chauiac, M. (2008). The French national nutrition and health program: 2001–2006–2010. *International Journal of Public Health*, 53, 68–77.
- Hetherington, M. M., Foster, R., Newman, T., Anderson, A. S., & Norton, G. (2006). Understanding variety: Tasting different foods delays satiation. *Physiology and Behavior*, 87, 263–271.
- Hill, A. J., Rogers, P. J., & Blundell, J. E. (1995). Techniques for the experimental measurement of human eating behaviour and food intake: A practical guide. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 19, 361–375.
- Hill, A. J., Weaver, C. F., & Blundell, J. E. (1991). Food craving, dietary restraint and mood. *Appetite*, 17, 187–197.
- Kral, T. V. (2006). Effects on hunger and satiety, perceived portion size and pleasantness of taste of varying the portion size of foods: A brief review of selected studies. *Appetite*, 46, 103–105.
- Kral, T. V., Stunkard, A. J., Berkowitz, R. I., Stettler, N., Stallings, V. A., Kabay, A., et al. (2009). Energy density at a buffet-style lunch differs for adolescents born at high and low risk of obesity. *Eating Behaviors*, 10, 209–214.
- Lara, J., Taylor, M. A., & Macdonald, I. A. (2010). Is ad libitum energy intake in overweight subjects reproducible in laboratory studies using the preload paradigm? *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, 1028–1031.
- Larson, D. E., Rising, R., Ferraro, R. T., & Ravussin, E. (1995). Spontaneous overfeeding with a 'cafeteria diet' in men: Effects on 24-hour energy expenditure and substrate oxidation. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 19, 331–337.
- Leone, T., Pliner, P., & Peter Herman, C. (2007). Influence of clear versus ambiguous normative information on food intake. *Appetite*, 49, 58–65.
- Lyly, M., Due, A., Gunnarsdottir, I., & Karhunen, L. (2009). *Foods and satiety*. Oslo: Nordic Innovation Center.
- Martin, C. K., Anton, S. D., Walden, H., Arnett, C., Greenway, F. L., & Williamson, D. A. (2007). Slower eating rate reduces the food intake of men, but not women: Implications for behavioral weight control. *Behaviour Research and Therapy*, 45, 2349–2359.
- Martin, C. K., Williamson, D. A., Geiselman, P. J., Walden, H., Smeets, M., Morales, S., et al. (2005). Consistency of food intake over four eating sessions in the laboratory. *Eating Behaviors*, 6, 365–372.
- Mattes, R. D., Hollis, J., Hayes, D., & Stunkard, A. J. (2005). Appetite: Measurement and manipulation misgivings. *Journal of the American Dietetic Association*, 105, S87–S97.
- Meiselman, H. L. (2007). The impact of context and environment on consumer food choice. In L. Frewer & H. van Trijp (Eds.), *Understanding consumers of food products* (pp. 67–92). Cambridge, UK: Woodhead.
- Mourao, D. M., Bressan, J., Campbell, W. W., & Mattes, R. D. (2007). Effects of food form on appetite and energy intake in lean and obese young adults. *International Journal of Obesity*, 31, 1688–1695.
- Nair, N. S., Brennan, I. M., Little, T. J., Gentilcore, D., Hausken, T., Jones, K. L., et al. (2009). Reproducibility of energy intake, gastric emptying, blood glucose, plasma insulin and cholecystokinin responses in healthy young males. *British Journal of Nutrition*, 101, 1094–1102.
- Peneau, S., Mekhmouk, A., Chapelot, D., Dalix, A. M., Airinei, G., Hercberg, S., et al. (2009). Influence of environmental factors on food intake and choice of beverage during meals in teenagers: A laboratory study. *British Journal of Nutrition*, 102, 1854–1859.
- Pliner, P., & Zec, D. (2007). Meal schemas during a preload decrease subsequent eating. *Appetite*, 48, 278–288.
- Reinbach, H., Martinussen, T., & Møller, P. (2010). Effects of hot spices on energy intake, appetite and sensory specific desires in humans. *Food Quality and Preference*, 21, 655–661.
- Rolls, B. J., Castellanos, V. H., Halford, J. C., Kilara, A., Panyam, D., Pelkman, C. L., et al. (1998). Volume of food consumed affects satiety in men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 1170–1177.
- Rolls, B. J., Kim-Harris, S., Fischman, M. W., Foltin, R. W., Moran, T. H., & Stoner, S. A. (1994). Satiety after preloads with different amounts of fat and carbohydrate: Implications for obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 476–487.
- Rolls, B. J., Rolls, E. T., Rowe, E. A., & Sweeney, K. (1981). Sensory specific satiety in man. *Physiology and Behavior*, 27, 137–142.
- Sorensen, L. B., Moller, P., Flint, A., Martens, M., & Raben, A. (2003). Effect of sensory perception of foods on appetite and food intake: A review of studies on humans. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 27, 1152–1166.
- Speechly, D. P., & Buffenstein, R. (1999). Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite*, 33, 285–297.
- Spiegel, T. A. (2000). Rate of intake, bites, and chews—the interpretation of lean-obese differences. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 229–237.
- Stroebele, N., & de Castro, J. M. (2006). Listening to music while eating is related to increases in people's food intake and meal duration. *Appetite*, 47, 285–289.
- Stubbs, R. J., Hughes, D. A., Johnstone, A. M., Rowley, E., Reid, C., Elia, M., et al. (2000). The use of visual analogue scales to assess motivation to eat in human subjects: A review of their reliability and validity with an evaluation of new hand-held computerized systems for temporal tracking of appetite ratings. *British Journal of Nutrition*, 84, 405–415.
- Van Way, C. W. 3rd., (1992). Variability of the Harris-Benedict equation in recently published textbooks. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 16, 566–568.
- Weber, A. J., King, S. C., & Meiselman, H. L. (2004). Effects of social interaction, physical environment and food choice freedom on consumption in a meal-testing environment. *Appetite*, 42, 115–118.
- Westerterp-Plantenga, M. S. (2000). Eating behavior in humans, characterized by cumulative food intake curves – A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 239–248.
- Westerterp-Plantenga, M. S., Wouters, L., & Ten Hoor, F. (1991). Restrained eating, obesity, and cumulative food intake curves during four-course meals. *Appetite*, 16, 149–158.
- Whybrow, S., Stephen, J. R., & Stubbs, R. J. (2006). The evaluation of an electronic visual analogue scale system for appetite and mood. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 558–560.
- Yeomans, M. R., Blundell, J. E., & Leshem, M. (2004). Palatability: Response to nutritional need or need-free stimulation of appetite? *British Journal of Nutrition*, 92(Suppl. 1), S3–S14.

4.3 Bilan et nécessité de validation

Après avoir présenté les différentes méthodologies utilisées pour mesurer l'appétit en contexte expérimental, ainsi que l'intérêt et les biais potentiels à combiner des mesures physiologiques et comportementales, l'article précédent a mis en évidence l'intérêt de dupliquer un même protocole expérimental dans deux lieux de recherche différents : un spécifiquement dédié à l'étude de paramètres physiologiques, l'autre à l'étude du comportement alimentaire. Par ailleurs, nous avons proposé une situation écologique de repas au cours de laquelle l'étude du comportement alimentaire va plus loin que la mesure de l'énergie totale ingérée, en particulier par l'étude des choix alimentaires, des rythmes et des cinétiques de consommation au cours de ce repas. Avant de pouvoir utiliser cet outil (buffet *ad libitum* en restaurant expérimental) et ces procédures d'analyse du repas, il a été nécessaire de démontrer la reproductibilité des comportements dans cette situation et leur sensibilité à une modification expérimentale préalable au repas. En effet, si la bonne reproductibilité des apports énergétiques au cours d'un buffet *ad libitum* en laboratoire a déjà été démontrée (Arvaniti *et al.*, 2000; Nair *et al.*, 2009), aucune étude n'a considéré cette question en contexte écologique de restauration et en considérant les aspects temporels de la prise alimentaire au cours du repas. Nous avons donc mis en place une étude de validation présentée ci-après.

Chapitre 5 : Validation de l'étude comportementale de l'appétit en restaurant expérimental

5.1 Introduction

L'objectif de cette étude de validation était de répondre à la question suivante : l'outil proposé « buffet *ad libitum* » en restaurant expérimental (Fig. 20) est-il un outil adapté pour étudier les effets à court terme de paramètres d'intérêt sur l'appétit ? Pour répondre à cet objectif, deux questions spécifiques se posaient :

- Est-ce qu'un sujet qui vient manger deux fois à ce buffet, exactement dans les mêmes conditions expérimentales, pour un repas de midi, va se comporter de la même façon lors de ses deux venues, en considérant à la fois sa consommation d'énergie totale, de chaque macronutriment, de chaque item alimentaire ou de chaque regroupement d'items alimentaires proposés, ainsi que les paramètres liés aux rythmes et cinétiques de consommation décrits dans l'article précédent ?
- Est-ce qu'un sujet qui vient manger à ce buffet pour un repas de midi va se comporter différemment (en considérant tous les paramètres ci-dessus), après avoir pris son petit déjeuner habituel au réveil ou en étant à jeun depuis la veille au soir ?

L'article présenté ci-après et publié dans *Appetite* décrit cette étude de validation dont le schéma est représenté en figure 21.

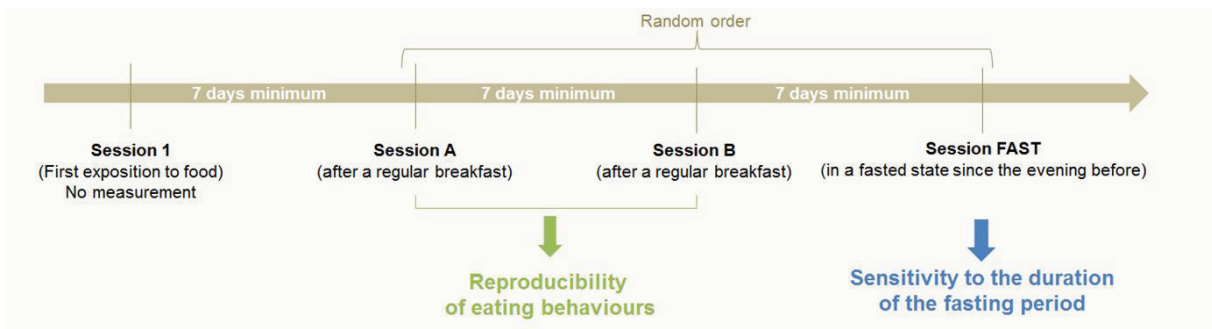


Figure 21 : Schéma de l'étude de validation du buffet

5.2 ARTICLE 2 : Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant



Research report

Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant[☆]Xavier Alliro^{a,b,c,*}, Laure Saulais^{a,c}, Emmanuel Disse^{b,c}, Hubert Roth^{b,d}, Camille Cazal^{b,c}, Martine Laville^{b,c}^a Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, 69130 Ecully, France^b Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon, France^c Centre Européen de Nutrition pour la Santé, Lyon, France^d Pôle Recherche, CHU Grenoble – Inserm U1055-Bioénergétique, Université J. Fourier, Grenoble, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 December 2011

Received in revised form 6 February 2012

Accepted 11 February 2012

Available online 17 February 2012

Keywords:

Buffet meal

Cumulative intake

Experimental restaurant

Eating behaviour

Validation study

Reproducibility

Subjective appetite

Food deprivation

ABSTRACT

We assessed the reproducibility of intakes and meal mechanics parameters (cumulative energy intake (CEI), number of bites, bite rate, mean energy content per bite) during a buffet meal designed in a natural setting, and their sensitivity to food deprivation. Fourteen men were invited to three lunch sessions in an experimental restaurant. Subjects ate their regular breakfast before sessions A and B. They skipped breakfast before session FAST. The same *ad libitum* buffet was offered each time. Energy intakes and meal mechanics were assessed by foods weighing and video recording. Intrasubject reproducibility was evaluated by determining intraclass correlation coefficients (ICC). Mixed-models were used to assess the effects of the sessions on CEI. We found a good reproducibility between A and B for total energy (ICC = 0.82), carbohydrate (ICC = 0.83), lipid (ICC = 0.81) and protein intake (ICC = 0.79) and for meal mechanics parameters. Total energy, lipid and carbohydrate intake were higher in FAST than in A and B. CEI were found sensitive to differences in hunger level while the other meal mechanics parameters were stable between sessions. In conclusion, a buffet meal in a normal eating environment is a valid tool for assessing the effects of interventions on intakes.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

The growing concern about global obesity (Low, Chin, & Deurenberg-Yap, 2009) has generated an increasing interest in the study of eating behaviours and the control of food intake. Understanding the mechanisms controlling human appetite and energy intake is recognized as fundamental to nutritional science (Stubbs, Johnstone, O'Reilly, & Poppitt, 1998). The ability to measure food, energy and nutrient intake is critical to our understanding of the processes producing these secular trends (Stubbs, Johnstone, O'Reilly, & Poppitt, 1998). In addition to the many methods used for dietary assessment data in population studies (Tucker, 2007), many techniques, apparatus and methodologies have been developed for the purpose of experimental investigation of human eating behaviours (Hill, Rogers, & Blundell, 1995).

In experimental studies assessing the effects of a specific intervention on subsequent energy intake, the most common way to measure food intake is to allow participants to consume *ad libitum* meals (Blundell et al., 2010). *Ad libitum* single-course meals have been validated by demonstrating a good reproducibility for total energy intake between two identical sessions (Bellissimo, Thomas, Pencharz, Goode, & Anderson, 2008; Gregersen et al., 2008; Lara, Taylor, & Macdonald, 2010). The assessment of food choice and macronutrient preferences is feasible by the administration of a buffet-type meal in which a large variety of food is offered to the subjects. To our knowledge, two studies have assessed the validity of buffet-type meals (Arvaniti, Richard, & Tremblay, 2000; Nair et al., 2009) and concluded that such meals were reproducible tools for measuring total energy and macronutrient intake. These two studies took place in a laboratory setting.

In addition, several studies have demonstrated the importance of taking care of the context and the environment when studying eating behaviours and particularly food choices (Larson & Story, 2009; Meiselman, 2007; Wansink, 2004). A review (Stroebele & De Castro, 2004) pointed towards the major influence of ambiance on eating behaviour and highlighted that the magnitude of its effect, particularly of physical surroundings, is generally underestimated. Thus, in order to increase the external validity of studies exploring the effects of specific interventions on subsequent energy intake, the realistic nature of the test meal and the eating

[☆] *Acknowledgments:* This study was supported by the Foundation Nestlé France. We thank Agnes Giboreau, Research Director of the Institut Paul Bocuse Research Centre and Catherine Rouby (INSERM U1028 – CNRS UMR5292) for their constructive feedback. We thank Chief Patrick Ogheard from the Institut Paul Bocuse, for his technical help in the elaboration of the buffet. We are also grateful for the support from the members of the Institut Paul Bocuse and of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes.

* Corresponding author.

E-mail address: xavier.alliro@institutpaulbocuse.com (X. Alliro).

situation should be given particular attention (de Graaf et al., 2005).

Considering the above, we designed in our experimental restaurant (Giboreau & Fleury, 2009) a buffet-type meal situation, which was as close to a typical eating situation as possible, in terms of foods choice and eating environment. In a previous paper (Alliot et al., 2011), we highlighted the potential interest of such a tool and the need to validate it. To our knowledge, the validity of an *ad libitum* buffet-type meal trying to preserve the ecological character of the eating situation has never been assessed. In this paper, we also demonstrated how video recording of the meals could allow us to go beyond the single measurement of total energy intake, commonly used in the buffet literature. Through a bite analysis and inspired by the more thorough works on the microstructure of human ingestive patterns (for reviews, see Kissileff, 2000; Westerterp-Plantenga, 2000), we could particularly assess meal mechanics parameters such as cumulative intakes, number of bites, bite size, bite rate, for the whole meal, and for each temporal quarter of the meal, as proposed earlier (Barkeling, Rossner, & Sjoberg, 1995). A bite analysis of a meal could help in terms of better understanding the effects of specific variables on the control of appetite, and the underlying mechanisms. Recent studies assessed for example the effects of bite size on satiation (Zijlstra, de Wijk, Mars, Stafleu, & de Graaf, 2009), or the role played by bite size in the portion size effect (Burger, Fisher, & Johnson, 2011; Orlet Fisher, Rolls, & Birch, 2003).

The aim of the present study was to assess the validity of an ecological buffet-test meal in an experimental restaurant, including not only energy and macronutrient intake, but also meal mechanics parameters assessed through a bite analysis of the meals.

The two specific objectives of the present study were:

- (i) to test the intra-individual reproducibility of energy intake and meal mechanics parameters between two identical sessions;
- (ii) to assess the sensitivity of the above parameters to differences in hunger level induced by a period of food deprivation before the meal.

Indeed, as doubts on sensitivity of buffet-test meal scenario have previously been expressed (Blundell et al., 2010), we aimed at verifying that context effects, such as offering a wide variety of foods, do not overwhelm the effects that the study intends to measure. We took advantage of the present protocol for describing subjects' responses to food deprivation, in terms of energy intake, food choices and meal mechanics.

Methods

Subjects

Fourteen healthy normal-weight men aged between 22 and 33 years (mean \pm SEM = 25.4 \pm 0.9 years) with a mean body mass index (BMI) of 22.6 \pm 0.4 kg/m², were recruited through advertisements. None of the subjects had food allergies. All subjects reported moderate levels of physical activity (less than 4 h of sport per week). All were used to eating at breakfast and lunchtime. Before initiating the protocol, all subjects had to rate the foods served in the test meals on an 8-point Likert scale (1 = "I hate it", 8 = "I love it"). To be eligible, subjects had to indicate liking at least 75% of the test food items and to not detest any of them. Although all subjects gave their written consent to participate in the study, they were not informed of its real purpose.

Design

Subjects were invited to four experimental sessions, each separated by at least 7 days, and consisting of lunch in the experimental

restaurant of the Institut Paul Bocuse Research Centre (Giboreau & Fleury, 2009). They were requested to avoid vigorous activities and to abstain from alcohol consumption the day before each session. Subjects were also asked to select a meal they consume regularly and to eat this same meal the evening before each session.

In the first session (session 1), food consumption was not measured. Instead, the aim was to familiarise subjects with the environment and foods used. In this session, all subjects were invited to the experimental restaurant at 12:30 pm on the same day and were asked to taste all of the food items proposed, during a collective buffet-type meal. A choice of classical hot and cold French food items with varied macronutrient compositions was offered: grated carrots, "pâté de campagne", rice, French beans, fried potatoes, sausages, chicken breast, cottage cheese, cheese ("comté"), stewed fruit, chocolate cake, white bread and sugar. The energy content and macronutrient composition of these food items are described in Table 1. Subjects were instructed to eat *ad libitum*. Their liking for each food item was also recorded in order to verify the responses provided during the screening phase: subjects had to rate their liking of each food item on a 100 mm visual analogue scale (VAS). The mean rating for food items varied from 5.5 \pm 0.7 (for fried potatoes), to 7.0 \pm 0.4 (for chicken breast) (Table 1). Twelve of the fourteen subjects rated at least 75% of food items tasted in the test meals with a score higher than 5. The two remaining subjects did not show a lower consumption than other subjects in number of food items chosen or in energy, for the entire study. Thus, we ensured a good level of homogeneity in food item liking between subjects.

Of the three other sessions, two were identical: sessions A and B (for reproducibility assessment), and for which subjects were instructed to eat their regular breakfast in the morning and to report at 12:30 pm for a lunch in the experimental restaurant. In the other session, (session FAST) (for sensitivity assessment), subjects were instructed to report at 12:30 pm for a lunch in the experimental restaurant, in a fasted state since the evening before. Whether the FAST session occurred before, between or after sessions A and B was randomly assigned for each subject. For these three sessions (A, B and FAST), subjects were invited in groups of five and were offered exactly the same eating situation each time, for which a detailed description and explanation of potential value are available elsewhere (Alliot et al., 2011). A "brasserie" ambiance was created in the experimental restaurant, using brasserie furniture and background music, to construct a pleasant context for eating. Five individual spaces of service (buffet) and consumption were created, using decorative folding screens, where subjects were invited to eat and not to communicate with others. Subjects ate, seated in front of a small table. Each buffet meal was individual and located close to each subject's table. Each food item previously tasted in session 1 was proposed and available in larger quantities (see Table 1) than the expected intake for an average subject. All food items were cut into small pieces, to avoid suggesting an appropriate amount to eat. Subjects were invited to eat as long as they wanted, until comfortably full. They could get up and help themselves to any food item in any quantity freely during the meal. Chafing dishes, commonly used for French buffets, were used in order to keep hot food items at constant temperature all throughout the meal.

Measurements

The same measurements were performed during the three sessions A, B and FAST.

Electronic visual analogue scales were used to assess feelings of hunger just before and immediately after the meal. Each electronic VAS consisted of a 70 mm line (Almiron-Roig et al., 2009), presented on Dell Netbook (Latitude 2100 model, Dell Inc., Round

Table 1

Energy content and macronutrient composition of the food items presented in the buffet meal,^a initial amount of each food item offered to one subject, grouping of food items depending the course of the meal (first course/main course/dessert (including cheese)), the nutritional family of food (vegetables (Veg.)/starchy/meat/cheese/sweet food (Sweet)) and the energy density (ED) (low vs. high ED food item), mean rating (/10) given during session 1 (mean ± SEM).

Food item	Initial amount (g)	Energy (kJ/100 g)	Protein (g/100 g)	Lipid (g/100 g)	Carbohydrate (g/100 g)	Energy density	Course	Nutritional family	Rating/10 (session 1)
Grated carrots ^b	300	597.1	0.7	13.1	5.5	Low	First	Veg.	6.8 ± 0.4
Pâté	200	1222.6	16.5	24.6	1.2	High	First	Meat	5.8 ± 0.6
Rice ^b	400	588.3	2.2	3.0	26.2	Low	Main	Starchy	6.6 ± 0.5
French beans ^b	350	297.1	1.5	4.6	5.9	Low	Main	Veg.	5.6 ± 0.5
Fried potatoes	300	1026.8	2.7	11.4	33.0	High	Main	Starchy	5.5 ± 0.7
Sausages	190	1294.9	19.0	25.5	1.0	High	Main	Meat	6.2 ± 0.5
Chicken breast	240	518.4	22.2	3.9	0	Low	Main	Meat	7.0 ± 0.4
Cottage cheese	270	306.3	7.3	3.2	3.8	Low	Dessert	Cheese	6.4 ± 0.9
Comté	150	1707.1	29.0	32.0	1.0	High	Dessert	Cheese	6.3 ± 0.3
Stewed fruit	300	280.3	0.3	0.2	16	Low	Dessert	Sweet	6.5 ± 0.5
Chocolate cake	300	1681.5	6.4	23.1	42.1	High	Dessert	Sweet	6.4 ± 0.6
White bread	178	986.6	7.4	1.0	49.3	Low	First	Starchy	6.5 ± 0.4
Sugar	30	1673.6	0	0	100.0	High	Dessert	Sweet	Unrated
Water	1000	0	0	0	0	–	–	–	Unrated

^a Energy, protein, lipid and carbohydrate contents were calculated using the CIQUAL Table from ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) and/or information on food labels.

^b Seasoned.

Rock, TX, USA) anchored at the beginning and end by opposing statements: “not hungry at all” and “extremely hungry”, in response to the question: “how hungry do you feel?”. Subjects were requested to click on the line that best matched how they were feeling at the time. FIZZ Sensory Software 2.40 H by Biosystèmes (Couternon, France) was used for automatic data capture and transforming results in a 0–10 score of hunger.

In order to obtain the net amount of each food item eaten by each subject at each session, all food items were weighed before the buffet and foods that were not consumed were weighed again after the end of the meal. To correct the data for the weight loss of food items due to evaporation during the time of the meal, a coefficient of evaporation was calculated for each food item using a control buffet. Energy, protein, lipid, carbohydrate intake and mean energy density of the meal were calculated using the French food composition table CIQUAL 2008, from ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire), and/or information on food labels. Different groupings of food items were created, in order to analyse the meals at the food item level, according to: the meal course (first course/main course/dessert (including cheese)), the nutritional family of food (vegetables/starchy/meat/cheese/sweet food) and the energy density (ED) (low vs. high ED food item). These groupings are described in Table 1.

Subjects were video recorded during the meals thanks to cameras (SONY EVI-D70) located in the ceiling of the experimental restaurant. The following parameters of meal ingestion were assessed from a visual inspection of the tapes: total meal duration (from the first to the last bite), time spent at the buffet choosing food, intake of energy for each temporal quarter of the meal, number and mean energy content of bites during the whole meal and for each temporal quarter of the meal, mean bite rate (bite/min). The determination of the content of each bite allowed us to estimate the energy intake for each minute of each meal of the subjects and cumulative energy intake for each individual meal (Allirot et al., 2011).

Statistical analyses

Intrasubject reproducibility (i.e. the agreement within each individual's data) between the sessions A and B for all variables,

except cumulative energy intake, was evaluated by determining intraclass correlation coefficients (ICC) (Shrout & Fleiss, 1979). An ICC ≥ 0.8 was considered to indicate excellent agreement, 0.7 ≤ ICC < 0.8 indicating good agreement and 0.6 ≤ ICC < 0.7 indicating moderate agreement (Nair et al., 2009; Pong et al., 2005).

To achieve 80% power to detect an ICC of 0.8 under the alternative hypothesis when the ICC under the null hypothesis is 0.3 with a significance level of 0.05, a sample size of 12 subjects was necessary. We included 14 subjects.

For comparison with other studies, tests of reproducibility were also performed for total energy intake, according to Bland and Altman (1986). Thus, the coefficient of repeatability (CR = 2SD) for the mean difference between session B and session A was calculated. The CR indicates the absolute variability of the method. The within-subject coefficient of variation (CV) which indicates the relative variability of the method was calculated as (Gregersen et al., 2008):

$$CV = \left\{ \sqrt{[\sum (EI_B - EI_A)^2 / (2n)]} \right\} / EI_{\text{meanAB}}$$

where EI_B is energy intake in session B, EI_A is energy intake in session A and EI_{meanAB} is the mean energy intake for sessions A and B.

To test for differences between session FAST and the two other ones, we compared the mean value of sessions A and B to the value in session FAST by using Student's *t*-test, for all variables that revealed at least a moderate agreement between sessions A and B. For cumulative energy intake, we used mixed models to integrate data for all subjects. The dependent variable was cumulative energy intake in kJ (one data per minute of meal). Session, time, time squared and the interaction between the time and the session were considered as fixed effects; subjects were considered as random effects. The reproducibility was assessed considering data from session A vs. session B; the sensitivity was assessed considering data from session FAST vs. sessions A and B.

A random effect regression model was used for assessing the part of the variability of energy intake explained by the level of hunger (within subjects and between subjects). A mixed model in which the dependent variable was the energy intake in kJ, with an adjustment on subjects (random effect) was used for assessing

any order effect for total energy intake: for sessions A + B, and for the whole three sessions.

All tests were two-sided and differences were considered significant at $P < 0.05$. Values are expressed as Mean \pm Standard Error of Mean (SEM). Stata Version 11 statistical software (Stata Corp., College Station, TX) was used for all statistical analysis.

Results

Intrasubject reproducibility of energy and food items intake

Responses to VAS showed an excellent reproducibility of the feeling of hunger just before the beginning of the meal (5.6 ± 0.4 for session A vs. 6.2 ± 0.6 for session B; ICC = 0.81), and immediately after the meal (0.9 ± 0.2 for session A vs. 0.9 ± 0.3 for session B; ICC = 0.80).

Energy consumption for each session and ICC for energy intake are shown in Table 2. Total energy intake (kJ), total amount of food consumed (g) and mean energy density (kJ/g) showed excellent intra-individual reproducibility between visits A and B. Reproducibility between visits was excellent for carbohydrate and lipid intakes (in kJ and in percents of total energy), good for protein intakes (kJ) and moderate for the percents of energy from protein.

The within-subject coefficient of variation (CV) for total energy intake was 10.3% and the correlation between total energy intake on sessions A and B was $r = 0.828$ ($R^2 = 0.686$, $P = 0.0003$; Fig. 1). To illustrate the reproducibility, a Bland–Altman plot for mean total energy intake values is shown in Fig. 2 (CR = 1748 kJ).

The inter-individual differences for total energy intake are shown in Fig. 3. Eleven of the 14 subjects ate more at the first session (A) compared with the second (B), but we did not find any order effect between these two sessions in terms of total energy intake ($P = 0.512$). Mean energy intake for sessions A and B was 5917 ± 372 kJ, which represents more than 47% of total daily energy needs of the subjects as calculated with the Harris and Benedict equation for men who have a moderate physical activity (Van Way, 1992).

For 50% of the food items contained in the buffet, there was an excellent reproducibility (bread (0.83), chicken breast (0.82)) or good (sausages (0.77), chocolate cake (0.76), rice (0.74), "pâté de campagne" (0.71), French beans (0.70)), while for approximately 21% of food items (stewed fruit (0.68), grated carrots (0.68), water (0.60)), there was a moderate reproducibility between sessions. The reproducibility was low for four food items (cottage cheese (0.54), sugar (0.52), cheese ("comté") (0.45) and fried potatoes (0.43)).

Regarding groupings of food items (cf. Table 3), we found an excellent reproducibility for energy intake from low ED food items and from high ED food items. According to the course of the meal, energy intake from the grouping of first course food items was highly reproducible, while reproducibility for energy from dessert

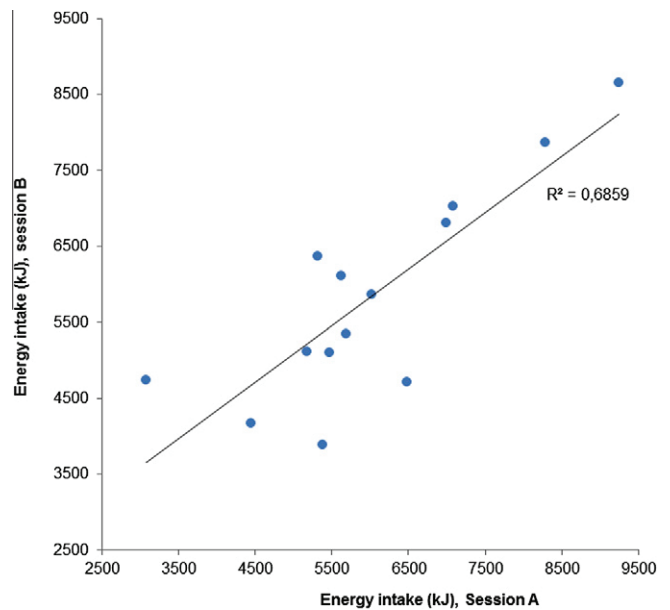


Fig. 1. *Ad libitum* total energy intake on session B plotted against *ad libitum* total energy intake on session A.

food items (including cheese) was good. Reproducibility for energy intake from main course food items was moderate. According to the nutritional family of food, reproducibility was excellent for energy intake from sweet food, and moderate for energy intake from vegetables, starchy, meat and cheese.

Intrasubject reproducibility of meal mechanics

Reproducibility for total meal duration was good ($24'17'' \pm 1'09''$ for session A vs. $23'43'' \pm 1'00''$ for session B; ICC = 0.72), as for the time spent at the buffet choosing food ($3'15'' \pm 0'10''$ for session A vs. $3'06'' \pm 0'7''$ for session B; ICC = 0.77). Total number of bites (100 ± 6 for session A, 101 ± 6 for session B; ICC = 0.85), mean energy content per bite (60.7 ± 2.9 kJ for session A, 58.6 ± 3.8 kJ for session B; ICC = 0.82) were highly reproducible. Reproducibility between sessions for bite rate (4.2 ± 0.2 bites/min for A, 4.3 ± 0.3 bites/min for B; ICC = 0.72) was good.

The mixed model estimation including cumulative energy intake data from sessions A and B showed neither an effect of session ($P = 0.80$) nor an interaction between time and session ($P = 0.87$). This suggests a good reproducibility for cumulative energy intake between sessions. An effect of time ($P < 0.0001$) was found, while there was no effect of time squared ($P = 0.57$).

Analysis by temporal quarter of meal showed an excellent to good intra-individual reproducibility between sessions A and B,

Table 2

Total energy intake, amount of food eaten, energy density and macronutrient intakes (in kJ and % of energy intake) for sessions A, B and FAST (mean \pm SEM), reproducibility between sessions A and B (intraclass correlation coefficient, ICC); P values are results for the Student's t -test comparing the mean of sessions A and B to session FAST.

	Session A	Session B	ICC	Mean A and B	Session FAST	P
Total energy intake (kJ)	6021 \pm 397	5812 \pm 356	0.82	5917 \pm 372	6669 \pm 443	0.02*
Amount of food eaten (g)	800 \pm 55	802 \pm 52	0.88	801 \pm 53	883 \pm 70	0.09
Energy density (kJ/g)	7.50 \pm 0.25	7.24 \pm 0.29	0.80	7.37 \pm 0.25	7.57 \pm 0.25	0.28
Carbohydrate intake (kJ)	2228 \pm 167	2174 \pm 163	0.83	2201 \pm 163	2506 \pm 205	0.03*
Carbohydrate intake (%)	37.0 \pm 1.3	37.4 \pm 1.1	0.73	37.2 \pm 1.2	37.6 \pm 1.7	0.50
Lipid intake (kJ)	2800 \pm 218	2714 \pm 192	0.81	2757 \pm 205	3146 \pm 234	0.02*
Lipid intake (%)	46.5 \pm 1.3	46.7 \pm 1.5	0.84	46.6 \pm 1.4	47.2 \pm 1.7	0.58
Protein intake (kJ)	993 \pm 63	924 \pm 67	0.79	959 \pm 63	1017 \pm 84	0.24
Protein intake (%)	16.5 \pm 0.6	15.9 \pm 0.8	0.64	16.2 \pm 0.7	15.2 \pm 0.6	0.01*

* $P < 0.05$.

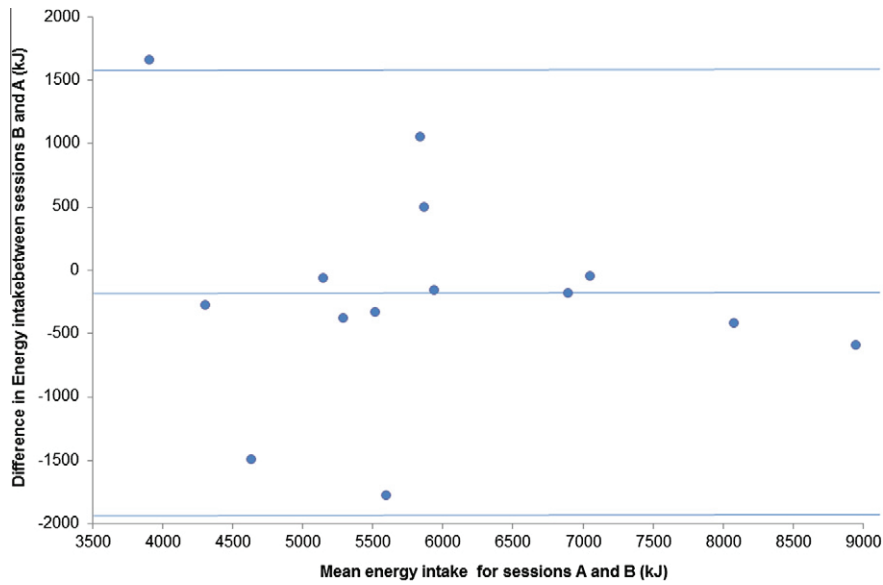


Fig. 2. Bland–Altman diagram of total energy intake. Individual differences between total energy intake on session B and session A are plotted against individual mean values for sessions A and B. The horizontal lines show the mean differences between session B and session A (−179 kJ), and the mean ± 2SD (−1927 and 1569 kJ).

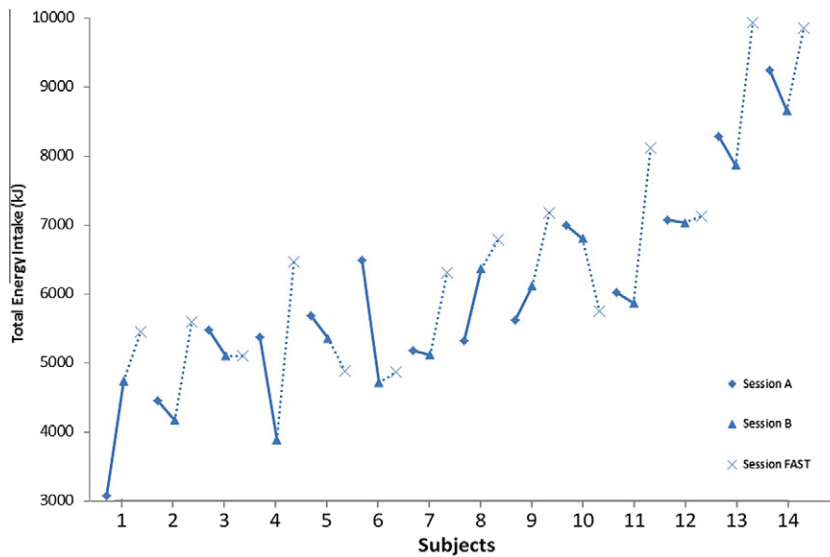


Fig. 3. Individual data for total energy intake in kJ for each of the sessions A, B and FAST.

Table 3

For sessions A, B and FAST, energy intake (kJ) from each group of food items depending the course of the meal, the energy density and the nutritional family of food, reproducibility between sessions A and B (intraclass correlation coefficient, ICC); *P* values are results for the Student’s *t*-test comparing the mean of sessions A and B, to session FAST.

	Session A	Session B	ICC	Mean A and B	Session FAST	<i>P</i>
First course	1919 ± 171	1687 ± 184	0.83	1803 ± 176	1996 ± 230	0.26
Main course	2262 ± 180	2284 ± 134	0.60	2273 ± 155	2452 ± 213	0.18
Dessert	1840 ± 188	1841 ± 192	0.79	1840 ± 192	2171 ± 63	0.04*
High ED food	3104 ± 318	2982 ± 318	0.80	3043 ± 318	3565 ± 305	0.01*
Low ED food	2917 ± 230	2830 ± 255	0.95	2874 ± 243	3050 ± 326	0.37
Vegetables	792 ± 96	859 ± 71	0.61	826 ± 84	916 ± 96	0.29
Starchy	1783 ± 142	1704 ± 126	0.60	1744 ± 134	1950 ± 163	0.06
Meat	1603 ± 176	1411 ± 126	0.66	1507 ± 151	1577 ± 222	0.57
Cheese	599 ± 92	603 ± 109	0.65	601 ± 100	674 ± 109	0.23
Sweet products	1244 ± 163	1235 ± 159	0.78	1240 ± 159	1498 ± 188	0.09

* *P* < 0.05.

for the first three quarters, for the following parameters: total energy intake, energy intake from carbohydrates and lipids (Fig. 4), number of bites, mean energy content of bite (not shown). For all these parameters, reproducibility was lowest in the last quarter of the meal: moderate for total energy intake, energy intake from lipids, number of bites and mean energy content of bite; low for energy intake from carbohydrates. Reproducibility for energy intake from proteins was excellent for the last quarter, good for the second, moderate for the first and low for the third quarter.

Sensitivity of energy and food items intake to differences in hunger level

Responses to VAS confirmed that the feeling of hunger just before the beginning of the meal was higher for session FAST (7.5 ± 0.3) than for the mean of session A and B (5.9 ± 0.5) ($P = 0.025$). No difference was found in the levels of hunger immediately after the meal ($P = 0.22$).

As shown in Table 2, subjects consumed significantly more energy at the buffet during session FAST (6669 ± 443 kJ) compar-

tively to the mean of sessions A and B (5917 ± 372 kJ), $P = 0.02$. In Fig. 3, we can observe that 10 of the 14 subjects ate more at session FAST than at sessions A and B. We did not find any order effect between the three sessions in terms of total energy intake ($P = 0.411$).

For the whole three sessions (A, B and FAST), we found that 25.7% of the inter-individual variability for energy intake (between subjects) was explained by the level of hunger just before the meal ($r = 0.507$). The level of hunger explained 35.2% of the intra-individual variability for energy intake (within subjects) ($r = 0.593$) ($P < 0.0001$).

We did not find a significant difference in the total amount of food eaten and mean energy density. During session FAST, subjects consumed significantly more energy from carbohydrates ($P = 0.03$), and from lipids ($P = 0.02$). Subjects ate the same quantity of protein during all sessions, but, due to the increase in carbohydrate and lipid intake, the percent of energy from protein was significantly lower in session FAST ($P = 0.01$). During session FAST, subjects consumed significantly more energy from high ED food items ($P = 0.01$) and from dessert food items ($P = 0.04$). We did not show

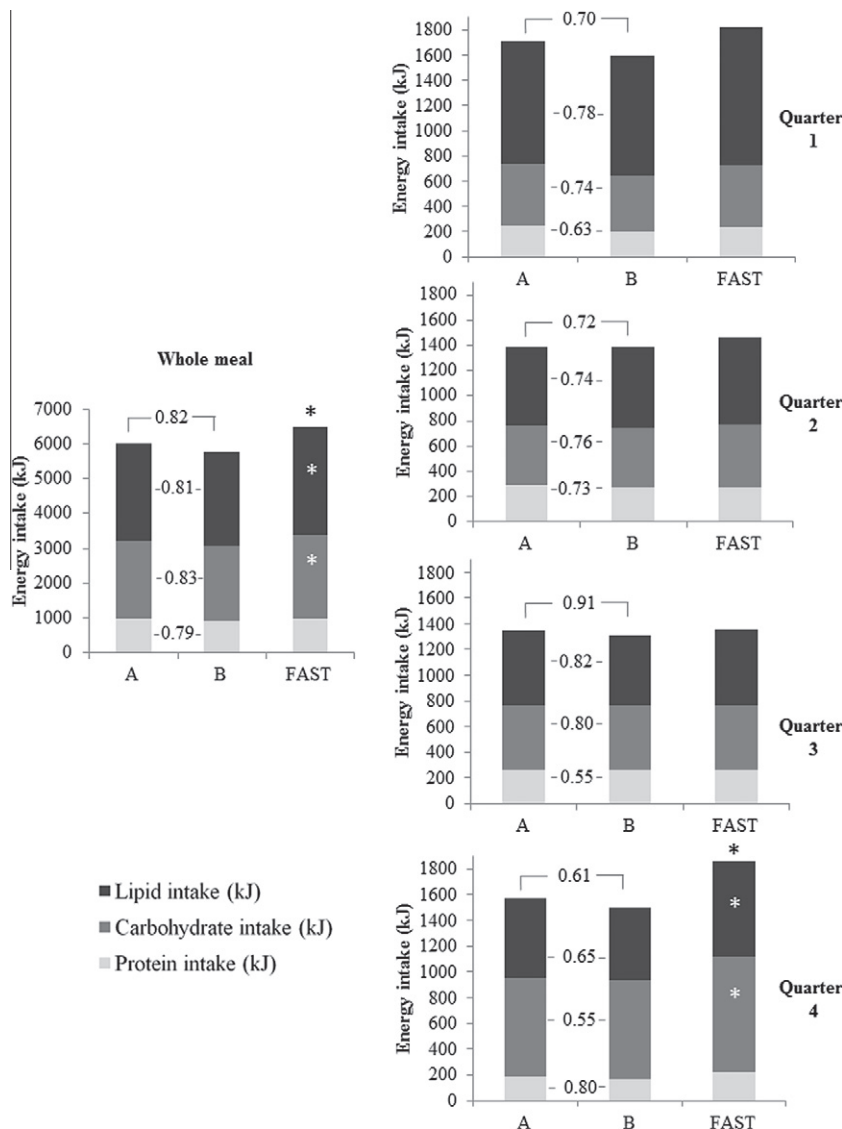


Fig. 4. Mean macronutrient intake (kJ) – for the whole meal and for each temporal quarter of the meal – for sessions A, B and FAST; values between columns A and B are ICC for total, lipid, carbohydrate, and protein intake between sessions A and B; * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the Student's t -test comparing the mean of sessions A and B, to session FAST for each parameter during each temporal quarter or during the whole meal.

any difference in energy consumption from all other groups of food items (Table 3).

Sensitivity of meal mechanics to differences in hunger level

Neither total meal duration of session FAST ($24'19'' \pm 1'00''$) ($P = 0.71$) nor time spent at the buffet choosing food ($3'17'' \pm 0'13''$) ($P = 0.82$) were different compared to the mean of sessions A and B. No difference was found between session FAST and the other two, in the total number of bites ($P = 0.42$), the mean energy content of bites ($P = 0.28$) and the mean bite rate ($P = 0.80$).

The estimation of a mixed model including cumulative energy intake data from session FAST vs. sessions A and B showed an effect of the session ($P = 0.046$) and of the interaction between time and session ($P < 0.0001$). An effect of time ($P < 0.0001$), but no effect of time squared ($P = 0.62$), were found.

Analysis by temporal quarter of meal (Fig. 4) showed significant differences between session FAST and others, only for the last quarter of the meal. Over the last quarter, subjects consumed more energy during session FAST ($P = 0.02$), and particularly more energy from lipids ($P = 0.03$) and from carbohydrates ($P = 0.04$). No difference in energy intake from proteins was found ($P = 0.09$). In this quarter of the meal, total number of bites was not different ($P = 0.29$), but mean energy content of bites was significantly higher for session FAST (70.3 ± 6.3 kJ vs. 62.8 ± 5.4 kJ, $P = 0.04$).

Discussion

The results of the present study provide evidence that the use of a buffet-type meal in an experimental restaurant setting is a reproducible method to assess energy intake and meal mechanics. We also demonstrated that this tool is sensitive to differences in hunger levels induced by food deprivation. This suggests that it is adequate for assessing the effects of dietary interventions, assumed to modify the level of hunger, on energy intake and underlying behavioural mechanisms.

In the current study, we found a positive correlation between the level of hunger before the meal and subsequent energy intake. This result is in line with some other studies (Flint, Raben, Blundell, & Astrup, 2000) but contrasts with others (Stubbs et al., 2000). This discrepancy could partially be explained by differences in the statistical relationships that are calculated in the different studies (de Graaf, 1993). We found a higher correlation using a within-subject compared to a between subject analysis. This confirms that appetite ratings using VAS are best used in within-subject comparisons (Stubbs et al., 2000) even in studies with subjects quite close in terms of energy requirement.

Energy, macronutrient and food items intake

Our results of reproducibility for total energy intake are in line with results from other reproducibility studies using *ad libitum* single-course meals. Gregersen et al. (2008) gave a homogeneous mixed hotpot lunch to normal-weight men with or without standardisation of energy intake before the study. They found respectively a CV = 8.9% and a CR = 1478 kJ or a CV = 14.5% and a CR = 1831 kJ. Lara et al. (2010) gave a pasta with cheese and tomato sauce lunch to overweight subjects. They found a CV = 4.5% ($R^2 = 0.94$) or a CV = 11.5% ($R^2 = 0.57$), respectively, after a non-energy or a whey protein preload.

The reproducibility of energy intake, amount of food consumed and macronutrient intake are consistent with two previous studies conducted in a laboratory setting using a standardised buffet-test meal (Arvaniti et al., 2000; Nair et al., 2009). This confirms that a buffet-test meal is an adapted tool to assess macronutrient choice, as suggested by Arvaniti et al. (2000). In the two former studies

that have assessed the validity of buffet-type meals (Arvaniti et al., 2000; Nair et al., 2009), a cold buffet was served to the subjects in a laboratory setting, and physiological measurements taken during the sessions, such as indirect calorimetry (Arvaniti et al., 2000), blood collection and measurement of the gastric emptying (Nair et al., 2009). In the present study, the focus was placed on eating context, the absence of concomitant measurements, the type of food given, in order to allow the subjects to eat a regular meal with cold and hot dishes, and with several courses. To our knowledge, the present study is the first to demonstrate the reproducibility of food choices during a buffet-type meal in such a realistic context.

At the food item level, the results are in accordance with those of the only study (Nair et al., 2009) which has assessed the reproducibility of intake at this level. In this study, the authors found an excellent or good consistency between sessions for approximately 50% of the 18 food items proposed, and a moderate agreement for 16%.

The excellent reproducibility for groupings of high and low ED foods suggests that energy intake from high and low ED food tends to remain stable from one session to another when a buffet meal is offered with *ad libitum* consumption. The results at the meal course level indicate that between two identical buffet meal sessions, subjects tend to consume the same amount of energy from first course and dessert food items; more variation was observed in energy intake from main course food items. Concerning the nutritional family of food items, a greater variation was also observed.

The increased energy intake in session FAST is consistent with other studies using a homogeneous single-course meal (Yeomans, Gray, Mitchell, & True, 1997) or solid food units (Spiegel, 2000) in a laboratory setting. Doubts on sensitivity of buffet-test meal scenario have previously been expressed (Blundell et al., 2010). The present study demonstrates that a buffet-test meal is a sensitive tool for assessing the effect of a specific intervention on subsequent energy intake and that a wide variety of foods and context effects do not overwhelm the effects that the study intends to measure. We also demonstrated that after food deprivation, the increased total energy intake at the buffet meal was explained by an increased consumption of high ED and dessert food items. Such observations at the food group level could present a major interest, especially in the study of research questions directed at public health interventions, in a context where nutritional recommendations target products, and food categories, rather than total daily energy intake (Hercberg, Chat-Yung, & Chauillac, 2008).

We observed, as in other studies (Arvaniti et al., 2000) a spontaneous overfeeding. It may be explained by the wide variety of food offered, that is known to enhance food intake by delaying the development of satiation (Hetherington, Foster, Newman, Anderson, & Norton, 2006). Sensory-specific satiety seems to play a key role in this mechanism (Brondel et al., 2009). This overconsumption could be a limitation associated with using buffet test-meals in a context where the measurement of representative daily energy intake is important (Arvaniti et al., 2000). The other methodologies used to assess food intake, including choices, in experimental contexts, such as vending machine systems (Venti, Votruba, Franks, Krakoff, & Salbe, 2010) also led to overconsumption compared to free living conditions. Free *ad libitum* access to a wide variety of "ready-to-eat" food seems to necessarily lead to overeating. A potential way to reduce overconsumption with this kind of protocol could be to introduce an economic incentive by asking subjects to pay for their foods, as it has been successfully implemented in experimental economic studies (Smith & Walker, 1993). This may involve subjects more in their food choices and be closer to real life where dietary decision are based on physiological, psychological but also economic considerations (Nestle et al., 1998). This hypothesis should be tested in further research.

We made the choice not to include social aspects of eating in this study, but we think that efforts should be done in order to take into account such parameters, as already proposed in a few studies (Reinbach, Martinussen, & Møller, 2010; Weber, King, & Meiselman, 2004). Another limitation of the present study concerns the study sample, which consisted only of normal weight men. Even if other authors have found that gender and dietary restraint did not influence the consistency of food intake (Martin et al., 2005), we cannot extend our results to women and restrained or obese subjects.

Meal mechanics

In the present study, we demonstrated a good to excellent reproducibility for all meal mechanics parameters investigated. We also found that cumulative energy intake was sensitive to differences in hunger level. The other meal mechanics parameters and particularly the mean energy content of bites and bite rate were stable in food deprivation conditions.

Authors who have assessed the stability of eating rates have mostly used a Universal Eating Monitor (UEM) (Barkeling et al., 1995; Hubel, Laessle, Lehrke, & Jass, 2006) which continuously monitors eating from a plate placed on a scale built into a table and connected to a computer. Westerterp-Plantenga et al. (1990) found consistent cumulative food intake curves over 3–6 repeated meals consisting in a single-course homogeneous meal. More recently, Martin et al. (2005) assessed the reproducibility of cumulative energy intake curves using a meal that consisted of sandwich squares presented in a plate. They concluded that microstructure parameters across sessions were fairly stable, suggesting that these eating variables could be used in studies aiming to test the effects of manipulations with within-subjects designs (Barkeling et al., 1995). These authors used homogeneous meals which was also the case for most of the studies involving UEM. Some authors have used the UEM in a buffet situation (Haynes, Lee, & Yeomans, 2003) and in an elegant four-course meal design (Westerterp-Plantenga, Wouters, & Ten Hoor, 1991) but it implies several experimental constraints which may hardly be compatible with maintaining the ecological character of the eating situation.

To our knowledge, reproducibility of parameters describing mechanics of a meal had never been assessed with a buffet-test meal design. Thus, the results of the present study extend the use of these parameters (cumulative intake, bite rate, mean energy content of bites) to research protocols using a buffet meal design, which is more representative of the usual way to eat than a unique liquid, semi-solid or solid food item.

Our design allowed the assessment of cumulative intake using a more naturalistic meal than in a laboratory setting, but visual inspection did not permit the same precision as would be achieved with a UEM. Indeed, in the current study, cumulative intakes were assessed by using a bite analysis rather than a gram analysis. The main limit of a bite analysis is the lack of consistency from one bite to another and the potential differences between individuals. However, bite analysis has been used in earlier studies (Hill & McCutcheon, 1984) and more recent ones (Burger et al., 2011; Li et al., 2011; Orlet Fisher et al., 2003; Ruijschop et al., 2011; Spiegel, 2000; Zijlstra et al., 2009). It should not be recommended for a specific in-depth meal microstructure study, but it is quite informative for assessing eating rates without specific device in a normal eating environment.

In the current study, we aimed to have a global overview of the whole process of an *ad libitum* multi-course meal, including both periods of eating and periods of service at the buffet table. Thus, we made the choice not to use the classical analytic procedures, such as coefficient or area under curve approaches, which are specifically used for analysing cumulative energy intake data of

homogeneous one-course meals and may potentially offer different interpretations of the same data (Dovey, Clark-Carter, Boyland, & Halford, 2009). The mixed models we estimated allowed us to consider subjects as random effects, while also accounting for the different sessions and the interaction between time and session. Thanks to these models, we demonstrated the reproducibility of cumulative energy intake between sessions and their sensitivity to food deprivation.

This cumulative intake analysis, completed by the food groups and the temporal quarters approach, allowed an in-depth understanding of the behavioural mechanisms leading to an increase or a decrease in total energy intake. As an illustration, we could demonstrate that food deprivation increased energy intake by increasing consumption at the end of the meal and particularly high density foods and dessert consumption. This increased energy intake in the last temporal quarter was not explained by a higher number of bites but by a higher mean energy content of each bite. Furthermore, we demonstrated a good stability even in food deprivation conditions, for total meal duration, time spent at the buffet choosing food, total number of bites, mean energy content per bite and bite rate for the whole meal. Other authors had previously shown that food deprivation significantly affected initial ingestion rates of solid food units (Spiegel, 2000). We did not confirm this result with a buffet-test meal design. This confirms that the choice of test meal may influence meal parameters as already demonstrated by Bellisle, Guy-Grand, and Le Magnen (2000). Thus, results on the effects of interventions such as deprivation may be different while using different test meals. Using a more realistic test meal that allows the subjects to compose their own meal instead of the experimenter choose for them should be encouraged in order to assess the effect of specific interventions on subsequent intakes.

Conclusion

The present study, still in an experimental context, tends to refocus more human eating research on people eating real foods in real eating situations, as recommended by Meiselman (1992). We created and validated a more naturalistic catering situation than commonly employed in experimental studies exploring interventions on the short-term regulation of food intake. We demonstrated the reproducibility and sensitivity to differences in hunger level, of energy intake and eating behaviours, including meal mechanics, during a buffet-type meal proposed in an experimental restaurant. This study provides support for the use of buffet-type meals in normal eating environments to test the efficacy of interventions or strategies designed to modify food intake, better control of satiety and body weight. Furthermore, a behavioural exploration of the meals, inspired by meal microstructure literature, and characterised by meal mechanics parameters, as proposed in this study should be encouraged in order to better understand the effects of such interventions and to move towards public health recommendations.

References

- Alliot, X., Saulais, S., Disse, E., Nazare, J. A., Cazal, C., & Laville, M. (2011). Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety. *Food Quality and Preference*. doi:10.1016/j.foodqual.2011.05.005.
- Almiron-Roig, E., Green, H., Virgili, R., Aeschlimann, J. M., Moser, M., & Erkner, A. (2009). Validation of a new hand-held electronic appetite rating system against the pen and paper method. *Appetite*, 53(3), 465–468.
- Arvaniti, K., Richard, D., & Tremblay, A. (2000). Reproducibility of energy and macronutrient intake and related substrate oxidation rates in a buffet-type meal. *British Journal of Nutrition*, 83(5), 489–495.
- Barkeling, B., Rossner, S., & Sjoberg, A. (1995). Methodological studies on single meal food intake characteristics in normal weight and obese men and women. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 19(4), 284–290.
- Bellisle, F., Guy-Grand, B., & Le Magnen, J. (2000). Chewing and swallowing as indices of the stimulation to eat during meals in humans. Effects revealed by the

- edogram method and video recordings. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(2), 223–228.
- Bellissimo, N., Thomas, S. G., Pencharz, P. B., Goode, R. C., & Anderson, G. H. (2008). Reproducibility of short-term food intake and subjective appetite scores after a glucose preload, ventilation threshold, and body composition in boys. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 33(2), 326–337.
- Bland, J. M., & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1(8476), 307–310.
- Blundell, J. E., de Graaf, C., Hulshof, T., Jebb, S., Livingstone, B., Lluch, A., et al. (2010). Appetite control. Methodological aspects of the evaluation of foods. *Obesity Reviews*, 11(3), 251–270.
- Brondel, L., Romer, M., Van Wymelbeke, V., Pineau, N., Jiang, T., Hanus, C., et al. (2009). Variety enhances food intake in humans. Role of sensory-specific satiety. *Physiology & Behavior*, 97(1), 44–51.
- Burger, K. S., Fisher, J. O., & Johnson, S. L. (2011). Mechanisms behind the portion size effect. Visibility and bite size. *Obesity (Silver Spring)*, 19(3), 546–551.
- de Graaf, C. (1993). The validity of appetite ratings. *Appetite*, 21(2), 156–160.
- de Graaf, C., Cardello, A. V., Matthew Kramer, F., Leshner, L. L., Meiselman, H. L., & Schutz, H. G. (2005). A comparison between liking ratings obtained under laboratory and field conditions. The role of choice. *Appetite*, 44(1), 15–22.
- Dovey, T. M., Clark-Carter, D., Boyland, E. J., & Halford, J. C. (2009). A guide to analysing Universal Eating Monitor data. Assessing the impact of different analysis techniques. *Physiology & Behavior*, 96(1), 78–84.
- Flint, A., Raben, A., Blundell, J. E., & Astrup, A. (2000). Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 24(1), 38–48.
- Giboreau, A., & Fleury, H. (2009). A new research platform to contribute to the pleasure of eating and healthy food behaviors through academic and applied Food and Hospitality research. *Food Quality and Preference*, 20(8), 533–536.
- Gregersen, N. T., Flint, A., Bitz, C., Blundell, J. E., Raben, A., & Astrup, A. (2008). Reproducibility and power of ad libitum energy intake assessed by repeated single meals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87(5), 1277–1281.
- Haynes, C., Lee, M. D., & Yeomans, M. R. (2003). Interactive effects of stress, dietary restraint, and disinhibition on appetite. *Eating Behaviors*, 4(4), 369–383.
- Hercberg, S., Chat-Yung, S., & Chauillac, M. (2008). The French national nutrition and health program: 2001–2006–2010. *International Journal of Public Health*, 53(2), 68–77.
- Hetherington, M. M., Foster, R., Newman, T., Anderson, A. S., & Norton, G. (2006). Understanding variety. Tasting different foods delays satiation. *Physiology & Behavior*, 87(2), 263–271.
- Hill, S. W., & McCutcheon, N. B. (1984). Contributions of obesity, gender, hunger, food preference, and body size to bite size, bite speed, and rate of eating. *Appetite*, 5(2), 73–83.
- Hill, A. J., Rogers, P. J., & Blundell, J. E. (1995). Techniques for the experimental measurement of human eating behaviour and food intake. A practical guide. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 19(6), 361–375.
- Hubel, R., Laessle, R. G., Lehrke, S., & Jass, J. (2006). Laboratory measurement of cumulative food intake in humans. Results on reliability. *Appetite*, 46(1), 57–62.
- Kissileff, H. R. (2000). Ingestive behavior microstructure, basic mechanisms and clinical applications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(2), 171–172.
- Lara, J., Taylor, M. A., & Macdonald, I. A. (2010). Is ad libitum energy intake in overweight subjects reproducible in laboratory studies using the preload paradigm? *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(9), 1028–1031.
- Larson, N., & Story, M. (2009). A review of environmental influences on food choices. *Annals of Behavioral Medicine*, 38(Suppl. 1), S56–S73.
- Li, J., Zhang, N., Hu, L., Li, Z., Li, R., Li, C., et al. (2011). Improvement in chewing activity reduces energy intake in one meal and modulates plasma gut hormone concentrations in obese and lean young Chinese men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 94(3), 709–716.
- Low, S., Chin, M. C., & Deurenberg-Yap, M. (2009). Review on epidemic of obesity. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 38(1), 57–59.
- Martin, C. K., Williamson, D. A., Geiselman, P. J., Walden, H., Smeets, M., Morales, S., et al. (2005). Consistency of food intake over four eating sessions in the laboratory. *Eating Behaviors*, 6(4), 365–372.
- Meiselman, H. L. (1992). Methodology and theory in human eating research. *Appetite*, 19(1), 49–55.
- Meiselman, H. L. (2007). The impact of context and environment on consumer food choice. In L. Frewer & H. van Trijp (Eds.), *Understanding consumers of food products* (pp. 67–92). Cambridge, UK: Woodhead.
- Nair, N. S., Brennan, I. M., Little, T. J., Gentilecore, D., Hausken, T., Jones, K. L., et al. (2009). Reproducibility of energy intake, gastric emptying, blood glucose, plasma insulin and cholecystokinin responses in healthy young males. *British Journal of Nutrition*, 101(7), 1094–1102.
- Nestle, M., Wing, R., Birch, L., DiSogra, L., Drewnowski, A., Middleton, S., et al. (1998). Behavioral and social influences on food choice. *Nutrition Reviews*, 56(5, Pt. 2), S50–S74.
- Orlet Fisher, J., Rolls, B. J., & Birch, L. L. (2003). Children's bite size and intake of an entrée are greater with large portions than with age-appropriate or self-selected portions. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(5), 1164–1170.
- Pong, S., Seto, W., Abdolell, M., Trope, A., Wong, K., Herridge, J., et al. (2005). 12-Hour versus 24-hour creatinine clearance in critically ill pediatric patients. *Pediatric Research*, 58(1), 83–88.
- Reinbach, H., Martinussen, T., & Møller, P. (2010). Effects of hot spices on energy intake, appetite and sensory specific desires in humans. *Food Quality and Preference*, 21(6), 655–661.
- Ruijschop, R. M., Zijlstra, N., Boelrijk, A. E., Dijkstra, A., Burgering, M. J., Graaf, C., et al. (2011). Effects of bite size and duration of oral processing on retro-nasal aroma release. Features contributing to meal termination. *British Journal of Nutrition*, 105(2), 307–315.
- Shrout, P. E., & Fleiss, J. L. (1979). Intraclass correlations. Uses in assessing rater reliability. *Psychological Bulletin*, 86(2), 420–428.
- Smith, V. L., & Walker, J. M. (1993). Monetary rewards and decision cost in experimental economics. *Economic Inquiry*, 31(2), 245–261.
- Spiegel, T. A. (2000). Rate of intake, bites, and chews. The interpretation of lean-obese differences. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(2), 229–237.
- Stroebele, N., & De Castro, J. M. (2004). Effect of ambience on food intake and food choice. *Nutrition*, 20(9), 821–838.
- Stubbs, R. J., Hughes, D. A., Johnstone, A. M., Rowley, E., Reid, C., Elia, M., et al. (2000). The use of visual analogue scales to assess motivation to eat in human subjects. A review of their reliability and validity with an evaluation of new hand-held computerized systems for temporal tracking of appetite ratings. *British Journal of Nutrition*, 84(4), 405–415.
- Stubbs, R. J., Johnstone, A. M., O'Reilly, L. M., & Poppitt, S. D. (1998). Methodological issues relating to the measurement of food, energy and nutrient intake in human laboratory-based studies. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 57(3), 357–372.
- Tucker, K. L. (2007). Assessment of usual dietary intake in population studies of gene-diet interaction. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 17(2), 74–81.
- Van Way, C. W. 3rd, (1992). Variability of the Harris-Benedict equation in recently published textbooks. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 16(6), 566–568.
- Venti, C. A., Votruba, S. B., Franks, P. W., Krakoff, J., & Salbe, A. D. (2010). Reproducibility of ad libitum energy intake with the use of a computerized vending machine system. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(2), 343–348.
- Wansink, B. (2004). Environmental factors that increase the food intake and consumption volume of unknowing consumers. *Annual Review of Nutrition*, 24, 455–479.
- Weber, A. J., King, S. C., & Meiselman, H. L. (2004). Effects of social interaction, physical environment and food choice freedom on consumption in a meal-testing environment. *Appetite*, 42(1), 115–118.
- Westerterp-Plantenga, M. S. (2000). Eating behavior in humans, characterized by cumulative food intake curves. A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(2), 239–248.
- Westerterp-Plantenga, M. S., Westerterp, K. R., Nicolson, N. A., Mordant, A., Schoffelen, P. F., & ten Hoor, F. (1990). The shape of the cumulative food intake curve in humans, during basic and manipulated meals. *Physiology & Behavior*, 47(3), 569–576.
- Westerterp-Plantenga, M. S., Wouters, L., & Ten Hoor, F. (1991). Restrained eating, obesity, and cumulative food intake curves during four-course meals. *Appetite*, 16(2), 149–158.
- Yeomans, M. R., Gray, R. W., Mitchell, C. J., & True, S. (1997). Independent effects of palatability and within-meal pauses on intake and appetite ratings in human volunteers. *Appetite*, 29(1), 61–76.
- Zijlstra, N., de Wijk, R. A., Mars, M., Stafleu, A., & de Graaf, C. (2009). Effect of bite size and oral processing time of a semisolid food on satiation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(2), 269–275.

5.3 Bilan de l'étude de validation

Cette étude a permis de valider l'utilisation du buffet individuel *ad libitum* proposé au restaurant expérimental du Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse pour investiguer les effets à court terme sur le comportement alimentaire au repas suivant, de paramètres susceptibles de modifier l'appétit.

En plus des paramètres classiquement mesurés dans les études sur l'appétit (énergie totale ingérée, voire énergie provenant de chaque macronutriment), nous avons démontré que l'utilisation d'autres paramètres décrivant la mécanique et/ou la cinétique du repas était valide dans ce contexte. Nous avons en particulier démontré la bonne reproductibilité des courbes cumulatives de consommation de l'énergie, qui informe sur le « chemin » parcouru par un sujet pour atteindre l'énergie totale qui est ingérée pendant le repas. Nous avons également évalué la reproductibilité des courbes cumulatives de chaque macronutriment (données non présentées). Cette analyse a mis en évidence que, contrairement à l'énergie totale ingérée, les consommations cumulatives de glucides, lipides et protéines sont différentes entre deux venues identiques au buffet. En d'autres termes, entre deux venues identiques au buffet *ad libitum*, les sujets suivent globalement le même « chemin » (ou la même cinétique d'ingestion) pour l'énergie totale, mais les cinétiques concernant les différents macronutriments ne sont, elles, pas reproductibles. L'analyse par quart (temporels) de repas permet de décrire plus explicitement les évolutions des consommations de chaque macronutriment au cours de ce repas. Dans le contexte proposé, c'est le dernier quart de repas qui semble le plus soumis à des variations entre deux venues identiques ; c'est aussi pendant ce dernier quart de repas que les différences d'appétit expérimentalement induites se sont exprimées par une modification du comportement, dans l'étude que nous venons de présenter.

Après avoir validé cet outil, nous allons présenter dans la partie suivante comment celui-ci a été intégré au protocole SAFRAN (SAtiété, FRéquence des repas et ASpects Nutritionnels), dans l'objectif d'étudier chez des sujets de poids normal et chez des sujets obèses, les effets de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit, la balance énergétique et le métabolisme.

Chapitre 6 : Application de cette méthodologie à l'étude du fractionnement alimentaire : le projet SAFRAN.

6.1 Schéma de l'étude

Le protocole du projet SAFRAN a été imaginé pour répondre au second objectif de ce travail de thèse, à savoir : évaluer les effets d'une augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires :

- sur l'appétit, en considérant à la fois les approches subjective (via des EVA), comportementale en milieu écologique (via l'utilisation du buffet *ad libitum* à l'IPB) et physiologique (via le dosage d'hormones de l'appétit) ;
- sur la dépense énergétique (via des mesures de calorimétrie indirecte) ;
- sur des paramètres métaboliques : utilisation des substrats (par calorimétrie indirecte) + cinétiques plasmatiques de glucose, insuline, AGNE et TG.

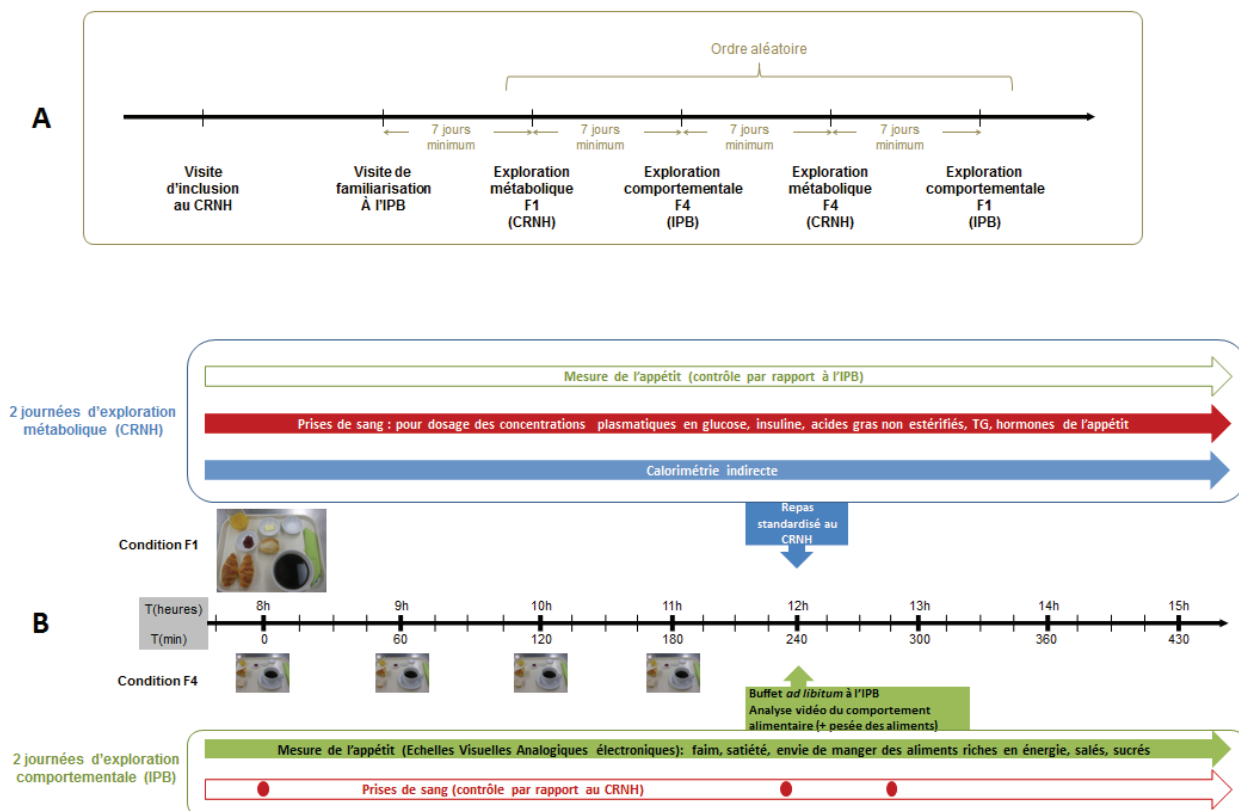


Figure 22 : Etude SAFRAN : schéma général (A) et mesures réalisées durant les explorations métaboliques au CRNH et les explorations comportementales à l'IPB (B). F1 : petit déjeuner en 1 prise ; F4 : petit déjeuner en 4 prises.

Pour répondre à cet objectif, nous avons chez un groupe de sujets de poids normal et un groupe de sujets obèses, évalué l'effet de la prise d'un petit déjeuner fractionné en 4 prises identiques à 8h, 9h, 10h et 11h (**condition F4**), vs. la prise du même petit déjeuner (non fractionné) consommé en une seule prise à 8h (**condition F1**). Chaque sujet a expérimenté deux fois chacun des petits déjeuners : une fois au CRNH Rhône-Alpes pour l'exploration des paramètres physiologiques, au cours des

journées dites « d'exploration métabolique », une fois à l'Institut Paul Bocuse pour l'exploration des paramètres comportementaux, au cours des journées dites « d'exploration comportementale ». L'ordre des quatre journées d'exploration a été randomisé. La figure 22 propose une représentation schématique du protocole de l'étude (cf. Fig. 22A) et des différentes mesures réalisées au cours des journées d'exploration métabolique et comportementale (cf. Fig. 22B).

Entre la visite d'inclusion (décrite ci-après) et la première journée d'exploration, les sujets étaient invités à un repas de midi au restaurant expérimental du Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, afin de se familiariser à l'environnement et aux aliments proposés pendant l'étude. Chaque sujet était face au buffet individuel *ad libitum* décrit dans les Articles 1 et 2. L'objectif de cette visite de familiarisation était de limiter les biais liés à la découverte de l'environnement lors de la première journée d'exploration comportementale (surconsommation liée à la découverte du buffet *ad libitum*, sous ou surconsommation liée au stress d'arriver dans un environnement inconnu). Au cours de cette visite, les sujets étaient invités à donner une note d'appréciation à chacun des aliments du buffet, via des EVA.

6.2 Population

6.2.1 Procédures de recrutement et d'inclusion des sujets

Les sujets ayant participé à l'étude SAFRAN ont été recrutés par le biais d'annonces dans les médias ainsi qu'à partir des bases de données de volontaires disponibles au sein du CRNH. Tous les sujets ont participé à une visite d'inclusion avant leur recrutement dans l'étude. Lors de cette visite, les sujets ont été informés de la nature du protocole, de son déroulement et de son but général. Les sujets ont été informés qu'ils pouvaient être filmés au sein du Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, mais ils n'ont pas été informés de la nature des mesures comportementales réalisées au cours du buffet *ad libitum*. Le médecin investigateur en charge de la visite d'inclusion a recueilli leur consentement éclairé et signé. Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique de Lyon et était en accord avec la déclaration d'Helsinki II et la loi française Huriet-Serusclet.

La visite d'inclusion s'est déroulée pour chaque sujet en deux temps : un temps médical (avec le médecin investigateur) et un temps diététique (avec une diététicienne). Le temps médical comportait un interrogatoire sur les antécédents personnels et familiaux, les traitements en cours ; ainsi qu'un examen médical standard (mesure du poids, de la taille, du tour de taille, tour de hanche, et prise de la tension artérielle et du pouls) et les prélèvements sanguins nécessaires pour vérifier les critères d'inclusion. Le temps diététique comprenait une évaluation de la consommation alimentaire

habituelle (prise d'un petit déjeuner et d'un repas de midi, consommation habituelle de 3 ou 4 prises alimentaires par jour, aspects qualitatif et quantitatif du comportement alimentaire, préférences, dégoûts, allergies ou interdits alimentaires). Il a été demandé à chaque sujet de compléter le « Dutch Eating Behaviour Questionnaire » (DEBQ) (Van Strien *et al.*, 1986; Lluch *et al.*, 1996) (cf. Annexe 1). Ce questionnaire permet en trente-trois questions d'évaluer trois facteurs distincts du comportement alimentaire : la restriction alimentaire, l'émotivité alimentaire et l'externalité. Les sujets devaient également compléter le « Three-Factor Eating Questionnaire » (TFEQ), qui mesure lui aussi trois facteurs : la restriction, la désinhibition et la faim (Lluch *et al.*, 1996) (cf. Annexe 2).

Les sujets ont été inclus dans l'étude s'ils répondaient aux critères d'inclusion suivants. Nous avons choisi de ne recruter que des hommes, étant donné qu'au cours du cycle menstruel, la femme est susceptible de présenter des variations de comportement alimentaire qui pourrait jouer le rôle de facteur confondant (Lissner *et al.*, 1988). Nous avons choisi de recruter des hommes dont l'âge était compris entre 20 et 40 ans. Le choix de cet intervalle a été fait pour ne pas observer trop de diversité entre les participants (on a vu par exemple que le rassasiement sensoriel spécifique pourrait décliner avec l'âge (Rolls *et al.*, 1991)), tout en ne réduisant pas trop l'intervalle afin de parvenir à recruter un nombre suffisant de sujets obèses, toujours plus difficiles à recruter malgré l'augmentation des prévalences d'obésité. Les sujets devaient avoir un IMC compris entre 20 et 25 kg/m² (bornes incluses) pour les sujets de poids normal ; entre 30 et 35 kg/m² (bornes incluses) pour les sujets obèses. Ils devaient également être non-fumeurs et non claustrophobes (indispensable pour les mesures de calorimétrie indirecte), déclarer pratiquer une activité physique modérée (maximum 4 heures de sport par semaine) et être en poids stable au cours des trois derniers mois. Par ailleurs, les personnes travaillant de nuit ont été exclues ; les sujets devaient prendre habituellement un petit déjeuner et un repas de midi, ne présenter ni allergie, ni intolérance alimentaire et déclarer apprécier la majorité des aliments proposés pendant l'étude. Les sujets devaient présenter des scores normaux au DEBQ et au TFEQ, en particulier pour éviter les personnes présentant une restriction cognitive. Enfin, seules les personnes ayant une glycémie à jeun normale (< 7mmol/l), une cholestérolémie totale ≤ 6,8 mmol/l, une triglycéridémie ≤ 2.5 mmol/l, et ne présentant aucune pathologie particulière ou d'antécédent médical les rendant inaptes à la participation à l'étude (diabète, insuffisance rénale chronique,...), ont été incluses.

Une fois chaque sujet inclus, il lui a été remis un questionnaire alimentaire (cf. annexe 3), afin qu'il rapporte l'ensemble de ses consommations alimentaires (qualité, quantité et type de prise) sur une durée de 6 jours (non consécutifs) choisis avec la diététicienne : 4 jours de semaine et 2 jours de week-end. Chaque sujet inclus, et ayant participé à l'intégralité de l'étude a reçu une indemnité de 400 Euros après la dernière journée d'exploration.

6.2.2 Calcul du nombre de sujets nécessaires

Deux critères de jugement ont été utilisés pour calculer le nombre de sujets nécessaires. Le premier était la concentration en ghréline juste avant le repas de midi.

Le calcul du nombre de sujets nécessaires, d'après les données d'une étude (Nazare *et al.*, 2011) réalisée au CRNH Rhône-Alpes, a indiqué que 19 sujets seraient suffisants pour observer une différence significative de la concentration plasmatique de ghréline avant le repas suivant, suite à l'ingestion de 2 petits déjeuners différents (avec une diminution de 40 % de l'excursion glycémique du petit déjeuner), avec un risque α de 0,05 et une puissance de 80 %, pour un test bilatéral (entre les deux petits déjeuners : différence de 200pg/ml pour la concentration de ghréline avant le déjeuner (déviatoin standard de 345pg/ml)).

Nous avons également réalisé ce calcul avec un second critère de jugement : l'énergie totale ingérée au cours du buffet *ad libitum*. Le calcul du nombre de sujets nécessaires, d'après les travaux réalisés par Speechly *et al.* (1999b), chez des sujets de poids normal, a indiqué que 14 sujets seraient suffisants pour observer une différence significative de la quantité d'énergie consommée au cours d'un second repas *ad libitum*, suite à l'ingestion d'un petit déjeuner en 1 prise ou en 5 prises, avec un risque α de 0,05 et une puissance de 80 %, pour un test bilatéral (différence de 324 kcal pour l'énergie consommée entre les deux petits déjeuners, déviatoin standard de 286 kcal).

Le même calcul, toujours d'après les travaux de Speechly *et al.* (1999a) chez des sujets obèses, a indiqué que 20 sujets seraient suffisants (différence de 358 kcal pour l'énergie consommée entre les deux petits déjeuners, déviatoin standard de 392 kcal).

Aussi, nous avons choisi de fixer notre échantillon à 20 sujets de poids normal et 20 sujets obèses. Si l'objectif des 20 sujets a été tenu pour les sujets de poids normal, la difficulté à recruter des sujets obèses respectant les critères d'inclusion cités précédemment ne nous a pas permis de recruter plus de 17 sujets obèses. Nous verrons néanmoins dans la présentation des résultats que ce paramètre ne semble pas avoir impacté les conclusions pour cette catégorie de sujets.

6.3 Petits déjeuners

Les petits déjeuners proposés aux sujets étaient composés de 40g de pain blanc, 80g de croissants, 30g de confiture de fraise, 10g de beurre, 10g de sucre, 120ml de jus d'orange et 400ml de café ou thé. En condition F1, tous ces items étaient consommés à 8h, en une seule prise de 20 minutes

maximum, ce qui représentait une prise de 674,8 kcal. En condition F4, chaque item alimentaire était coupé en quatre, de façon à proposer quatre prises identiques de 168,7 kcal, consommées en 10 minutes maximum, à 8h, 9h, 10h et 11h (cf. Fig. 23). La composition nutritionnelle détaillée de chaque élément des petits déjeuners est disponible dans la Table 1 de l'Article 3. La part des glucides dans l'énergie apportée par le petit déjeuner était de 56,6 %, celle des lipides de 37,2 %, alors que les protéines constituaient 6,2 % de cette énergie totale. Il était demandé aux sujets de consommer l'intégralité des aliments du petit déjeuner (incluant les boissons) qui leur étaient proposés à chaque occasion, ainsi que de ne consommer pendant la durée de l'exploration, aucun autre aliment que ceux fournis par l'équipe de recherche.

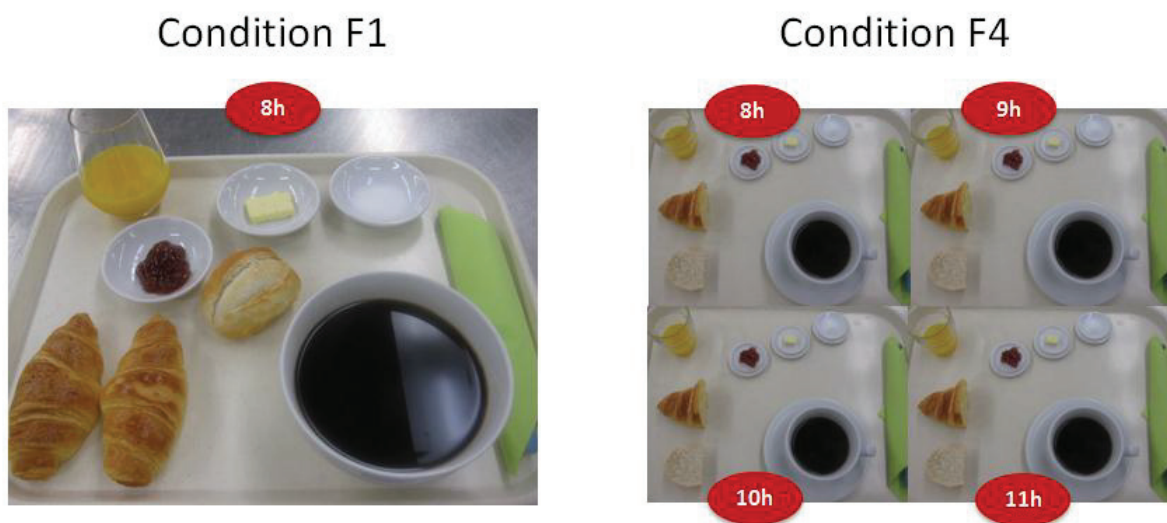


Figure 23 : Petits déjeuners proposés aux sujets participant à l'étude SAFRAN, en condition F1 non fractionnée (1 prise de 674,8 kcal) et en condition F4 (4 prises de 168,7 kcal).

6.4 Les journées d'explorations

La veille de chacune des quatre journées d'exploration, les sujets ont reçu l'instruction de consommer exactement le même dîner devant être terminé à 21h au plus tard, (chaque sujet choisissant un dîner qu'il avait l'habitude de consommer, afin de standardiser pour chacun d'entre eux le repas de la veille, sans modifier ses habitudes alimentaires). Il a également été demandé aux sujets de ne pas consommer d'alcool et de ne pas pratiquer d'activité physique intense la veille des journées d'explorations, afin de ne pas induire par ces biais, de modifications d'ordre métabolique ou liées à l'appétit, le lendemain matin.

6.4.1 Explorations comportementales

Chaque sujet a été invité au cours de sa participation à l'étude à deux journées d'exploration comportementale au Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse : une fois pour tester l'effet du petit déjeuner en condition F1, une fois en condition F4.

Les sujets étaient invités à se rendre à l'IPB par groupe de cinq, à partir de 7h du matin. Les petits déjeuners étaient servis à 8h (T = 0 ou T0) en condition F1 ; à 8h, 9h, 10h et 11h en condition F4. Les 5 sujets présents n'étaient pas tous soumis le même jour à la même condition F1 ou F4. Les sujets suivant la même condition le même jour consommaient leurs prises de petits déjeuners ensemble. En revanche, les sujets en condition F1 ne prenaient jamais leur petit déjeuner en compagnie de ceux en condition F4 et vis-versa, afin de ne pas apporter de biais dans leurs sensations de faim, qui aurait pu être lié à la comparaison de leur petit déjeuner avec celui des autres. Il leur était aussi demandé de ne pas parler entre eux de leur ressenti sur l'étude en cours, de leurs sensations de faim, ou d'alimentation en générale. Tout au long de la journée d'exploration comportementale, les sujets étaient libres de pratiquer l'activité statique de leur choix parmi lesquelles : lecture, travail sur ordinateur, film, musique. Les sujets étaient installés (non confinés) dans une salle de repos confortable au sein du Centre de Recherche de l'IPB. Trois types de mesures étaient réalisés durant les explorations comportementales, présentés ci-après.

A des temps prédéfinis (T0, T20, T80, T140, T200, T240 *i.e.* juste avant le repas de 12h, T270 *i.e.* juste après le repas de midi, T330, T390 *i.e.* à la fin de la journée d'exploration autour de 14h30), il était demandé à chacun des sujets de rapporter au moyen d'EVA électroniques (cf. Fig. 24) sur mini-PC individuels, leurs sensation de faim, de satiété, leur envie de manger des aliments « riches en énergie », des aliments salés, des aliments sucrés, ainsi que la quantité d'aliments qu'ils pensaient pouvoir ingérer au moment de la question (quantité prospective). La définition de ces termes était précisée à chacun des sujets en début d'étude. La satiété étant rapportée à leur sentiment de plénitude gastrique, les aliments « riches en énergie » à des aliments plutôt riches en lipides, les aliments salés ne faisant pas référence à des aliments « trop » salés de type chips, mais au salé en général par opposition au sucré. La quantité prospective étant la quantité globale que le sujet pensait pouvoir consommer au moment où la question lui était posée, se situant entre une « très petite » et une « très grande » quantité d'aliments.

A 12h (T240), les sujets étaient invités à rentrer dans le restaurant expérimental et à s'installer pour le repas de midi pour lequel chacun disposait du même buffet *ad libitum* qui a été présenté dans les chapitres 4 et 5. Les consignes et procédures expérimentales étaient les mêmes que celles de l'étude

de validation du buffet. Les sujets étaient filmés pendant le repas et les aliments pesés avant et après le repas, de façon à pouvoir analyser le comportement alimentaire comme déjà présenté précédemment.

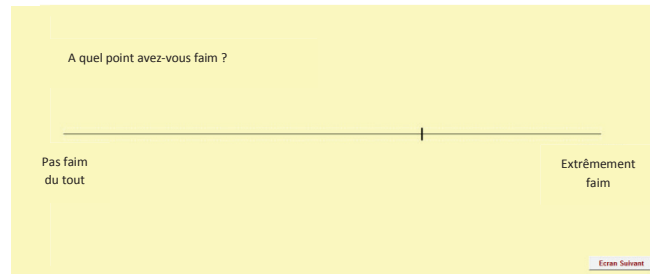


Figure 24 : Exemple d'une échelle visuelle analogique (EVA) utilisée lors du projet de thèse.

Enfin, dans l'objectif de contrôler que les sujets étaient dans le même état physiologique dans les deux lieux de recherche (IPB et CRNH) et de valider le fait de dupliquer le même protocole dans deux centres différents, nous avons réalisé trois prises de sang par sujet et par journée d'exploration comportementale à T0, T240 et T310. Ces prises de sang ont été réalisées pour doser les mêmes éléments sanguins qu'au CRNH (cf. ci-après). Elles ont été effectuées par une infirmière du CRNH. Les échantillons sanguins ont été centrifugés sur place au laboratoire du Centre de Recherche de l'IPB, puis stockés à -20°C avant analyse.

A la fin de chaque journée d'exploration comportementale, il a été demandé aux sujets d'enregistrer, depuis la sortie du centre de recherche, jusqu'au coucher, leurs consommations alimentaires pour la fin de journée (qualité, quantité et heure), sur un questionnaire adapté (sur le modèle de celui présenté en Annexe 3).

6.4.2 Explorations métaboliques

Chaque sujet a été invité au cours de sa participation à l'étude à deux journées d'exploration métabolique au CRNH Rhône Alpes : une fois pour tester l'effet du petit déjeuner en condition F1, une fois en condition F4.

A son arrivée au CRNH (7h), un cathéter veineux était placé dans l'avant-bras du sujet, de façon à pouvoir réaliser facilement l'ensemble des prélèvements sanguins, tout au long de la journée. Les sujets étaient invités à rester sur un lit en position semi-allongée pendant toute la durée des explorations, sauf pour la consommation des petits déjeuners à 8h (T0) en condition F1 et à 8h, 9h,

10h et 11h en condition F4 ; pour la consommation du repas standardisé de midi (T240) décrit ci-après, ainsi que pour aller aux toilettes. Il était demandé aux sujets de ne pas s'endormir pendant la durée de l'exploration. En dehors des mesures de calorimétrie indirecte (cf. ci-dessous), les sujets étaient libres de lire, travailler sur ordinateur, regarder des films ou écouter de la musique. A midi, un déjeuner standardisé (cf. Fig. 25), d'un apport énergétique de 1041 kcal, réparties en 53,1 % de glucides, 30,6 % de lipides et 16,3 % de protéines, était servi aux sujets. La composition nutritionnelle de ce repas est décrite dans le tableau 5. Il était demandé aux sujets de consommer l'intégralité des aliments présentés, pendant une durée de 20 minutes maximum.

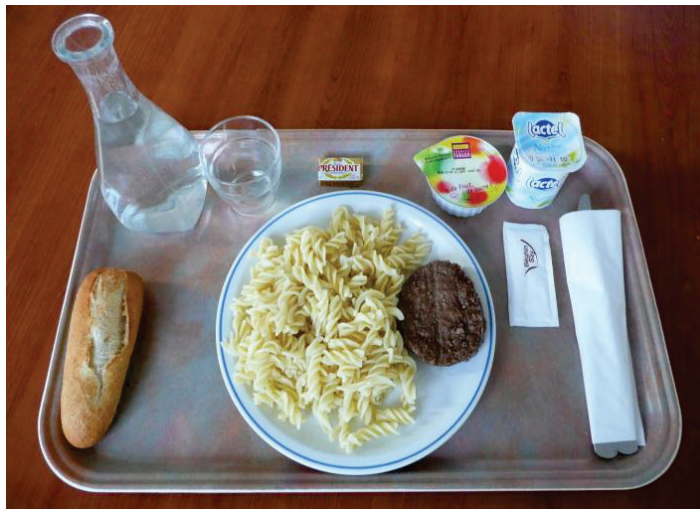


Figure 25 : Photographie du repas de midi standardisé servi aux sujets lors des journées d'explorations métaboliques de l'étude SAFRAN.

Tableau 5 : Composition nutritionnelle du repas de midi standardisé servi aux sujets lors des journées d'explorations métaboliques de l'étude SAFRAN.

Aliments	Quantité ingérée (g)	Protéines (g)	Lipides (g)	Glucides (g)
Steak haché 15% MG*	90	20,0	16,2	0
Pâtes cuites	300	11,8	1,7	70,5
Beurre	10	0,1	8,3	0
Yaourt nature	125	5,9	4,2	7,0
Sucre	10	0	0	10
Compote de pomme	100	0,3	0,1	22,0
Pain blanc	50	4,3	0,7	28,7
Quantité totale (g)	685	42	35	138
Energie (kcal)	1041	170	318	553
% de l'énergie totale	100	16,3	30,6	53,1

*MG : Matière Grasse

Trois types de mesures ont été réalisés durant les explorations métaboliques, présentés ci-après.

A des temps prédéfinis (T0 *i.e.* juste avant la prise de 8h, T10, T20, T40, T60, T70, T80, T100, T120, T130, T140, T160, T180, T190, T200, T220, T240 *i.e.* juste avant le repas de midi, T250, T260, T270 ; T290, T310, T350 et T430 *i. e.* à la fin de la journée d'exploration autour de 15h10), des prélèvements sanguins étaient réalisés, dans l'objectif de doser les éléments sanguins suivants : glucose, insuline, TG, AGNE (sauf aux temps 70, 80, 120, 130, 160, 190, 200), ghréline acylée, GLP-1 (forme totale). Les prises de sang étaient effectuées par une infirmière du CRNH. Les échantillons sanguins étaient centrifugés sur place au CRNH, puis stockés à -20°C avant analyse.

En plus de tous ces éléments sanguins précités, trois autres potentiels biomarqueurs de l'appétit ont été considérés dans l'étude SAFRAN : CCK, PYY et leptine.

La CCK a été dosée chez les cinq premiers sujets de poids normal participant à l'étude. Devant la difficulté à doser la CCK (technique utilisée : ELISA, kit Gentaur) (cette difficulté ayant déjà été évoquée dans la littérature (cf. Chapitre 1)), les profils plasmatiques cinétiques peu convaincants obtenus chez ces cinq sujets, les résultats préliminaires prometteurs des autres biomarqueurs de l'appétit (ghréline et GLP-1), et la quantité importante (et le coût élevé !) de l'ensemble des dosages réalisés, nous avons décidé d'arrêter de doser la CCK pour le restant des sujets de poids normal et pour l'ensemble des sujets obèses.

Pour des raisons semblables (profils plasmatiques cinétiques assez plats, très grands écarts types observés, coût élevé, résultats plus prometteurs des autres hormones), nous avons arrêté le dosage du PYY (technique utilisée : ELISA, kit Biovendor) après l'avoir réalisé chez les 16 premiers sujets de poids normal.

Enfin, nous avons dosé la leptine (technique utilisée : ELISA, kit Biovendor) chez les cinq premiers sujets de poids normal, pour les mêmes 17 temps de prélèvements que pour les AGNE. Les cinétiques plasmatiques de leptine étant parfaitement plates pour ces sujets, nous n'avons conservé que trois dosages de leptine pour les 15 autres sujets de poids normal, en basal (T0), juste avant le repas de midi (T240) et environ 1h après la fin de ce repas (T310). Les profils étant tout aussi aplatis pour les 20 sujets de poids normal, nous n'avons pas conservé le dosage de la leptine pour les sujets obèses.

En plus des prélèvements sanguins, des mesures de calorimétrie indirecte ont été réalisées en continu, avant la première prise du petit déjeuner (de T-30 à T0), entre T0 et T240, puis après le repas de midi, jusqu'à la fin de l'exploration à T430. En cas de gêne ou d'agitation anormale d'un sujet, du fait de la cloche en plexiglas qui entourait la tête (cf. Fig. 26), un arrêt des mesures de

quelques minutes était possible pour permettre un retour au calme. Ces mesures permettent de calculer l'oxydation des différents substrats, la dépense énergétique et la thermogénèse induite pas le repas (cf. calculs ci-après). La réalisation de ces calculs nécessite la mesure de l'excrétion azotée urinaire. Afin de pouvoir la calculer, les urines des sujets ont été recueillies à trois reprises pendant l'expérimentation : en basal (T0), avant le repas de midi (T240) et à la fin de la journée d'expérimentation (T430).



Figure 26 : Photographie d'un sujet pendant des mesures de calorimétrie indirecte au CRNH Rhône-Alpes.

Enfin, dans l'objectif de comparer les sensations de faim mesurées dans les mêmes conditions F1 et F4, mais dans des contextes différents, nous avons demandé aux sujets de répondre aux EVA suivant exactement la même procédure que lors des journées d'exploration comportementale.

A la fin de chaque journée d'exploration métabolique, il était demandé aux sujets d'enregistrer, depuis la sortie du centre de recherche, jusqu'au coucher, leurs consommations alimentaires pour la fin de journée (qualité, quantité et heure), sur un questionnaire adapté (sur le modèle de celui présenté en Annexe 3).

6.5 Méthodes et calculs

Nous allons décrire ci-dessous uniquement les méthodes et calculs utilisés au cours de l'étude, qui ne sont pas décrits par ailleurs. Ainsi, les techniques utilisées pour les dosages biochimiques, les méthodes et logiciels utilisés pour les EVA et les méthodes statistiques utilisées pour l'analyse des résultats sont bien décrites au sein des Articles 3 et 4 ; elles ne seront donc pas répétées ici-même.

6.5.1 Enquêtes alimentaires

Les questionnaires alimentaires (cf. annexe 3) ont été remplis par écrit par les sujets eux-mêmes, pour évaluer aux niveaux qualitatif et quantitatif les aliments ingérés pendant les 6 jours d'enquêtes choisis avec la diététicienne. Le moment de chaque prise alimentaire était aussi rapporté. Les sujets pouvaient s'aider d'un support photographique alimentaire issu de l'étude SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux AntiOxidants) pour évaluer les quantités consommées. De manière systématique, la diététicienne du CRNH a relu les enquêtes en compagnie de chaque sujet afin de les valider. Les calculs de composition en macronutriments ont ensuite été réalisés à l'aide du logiciel GENI ©, commercialisé par la société Micro6 ©.

6.5.2 La calorimétrie indirecte

La calorimétrie indirecte est basée sur l'analyse des échanges gazeux respiratoires qui reflètent la combustion des substrats énergétiques. Quel que soit le substrat énergétique, son oxydation complète implique l'utilisation d'oxygène (O₂) et fournit de l'eau et du dioxyde de carbone (CO₂). Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un appareil Deltatrac IITM (Datex instrument, Helsinki, Finlande) et d'un Quark RMR (Cosmed, Rome, Italie). Une étude effectuée au CRNH a mis en évidence l'équivalence des résultats obtenus à partir de ces deux calorimètres (Blond *et al.*, 2011). L'appareil mesure la consommation d'O₂ (VO₂ en l/min) et la production de CO₂ (VCO₂ en l/min) et calcule le quotient respiratoire (QR = VCO₂/VO₂). Comme les oxydations des glucides, des lipides et des protéines ne nécessitent pas la même quantité d'oxygène en raison de leur composition différente, le QR permet d'estimer le type de substrat utilisé par l'organisme : QR ≈ 0,7 lorsque ce sont des lipides qui sont oxydés, QR ≈ 0,8 lorsque ce sont des protéines et QR ≈ 1 pour les glucides.

La quantité d'azote urinaire (N en g) excrété par minute (mesuré par chimioluminescence (Antek 7000, Alytek, Juvisy, France) (Arock *et al.*, 1985)) permet de calculer **l'oxydation des protéines en g/min : P = 6,25×N** (car chaque gramme d'azote urinaire excrété résulte de l'oxydation de 6,25 g de protéines). A partir de cette valeur, il est possible de calculer le quotient respiratoire non protéique (QRNP) qui correspond au QR, amputé des quantités d'O₂ consommé et de CO₂ produit par l'oxydation des protéines : $QRNP = (VCO_2 - 0,774 \times P) / (VO_2 - 0,966 \times P)$. Le QRNP permet de déterminer le pourcentage d'énergie tiré des glucides et des lipides, sachant que 100 % de l'énergie consommée est tirée des lipides lorsque QRNP = 0,7 et 100 % de l'énergie consommée est tirée des

glucides lorsque QRNP = 1. Par des calculs appropriés (Ferrannini, 1988), nous avons calculé précisément les **oxydations lipidiques (g/min)** : $L = 1,67 \times VCO_2 - 1,67 \times VO_2 - 1,92 \times N$ et **oxydations glucidiques (g/min)** : $G = 4,55 \times VCO_2 - 3,21 \times VO_2 - 2,87 \times N$. En cas de lipogénèse, c'est-à-dire lorsque le QRNP est supérieur à 1, les mêmes équations sont utilisées, excepté pour déterminer l'oxydation glucidique (Simonson *et al.*, 1990) : $G_{lipogénèse} = 1.34 \times (VCO_2 - (4,88 \times N))$.

La calorimétrie indirecte permet également de calculer la **dépense énergétique des sujets en kcal/min** : $EE = 3,913 \times VO_2 + 1,093 \times VCO_2 - 3,341 \times N$. Ainsi, la mesure de la dépense énergétique en période basale (de T-30 à T0) nous a permis de déterminer la dépense énergétique de repos (Resting Metabolic Rate : RMR). La mesure de la dépense énergétique effectuée en période post-prandiale (Post Prandial Metabolic Rate : PPMR) (de T0 à T240 après le petit déjeuner, puis de T240 à T430 après le déjeuner) nous a permis de calculer l'élévation de la dépense énergétique au-dessus de la dépense énergétique de repos, et ainsi la **thermogénèse induite par l'alimentation** (exprimée en % du contenu énergétique du repas (Energy Content of the Meal : ECM)) : $DIT = [\sum(PPMR - RMR) \times t] / ECM$ où t est le temps de mesure en minutes et ECM le contenu énergétique du repas en kcal.

PARTIE C - Résultats

Chapitre 7 : Effets du fractionnement alimentaire chez des sujets de poids normal

7.1 Introduction

Par la proposition d'une méthodologie d'étude de l'appétit en contexte écologique, sa validation et son intégration dans un protocole de recherche expérimentale, nous avons répondu à notre premier objectif qui était d'ordre méthodologique. Nous allons désormais répondre à notre second objectif qui consistait à étudier les effets à court terme de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires, sur l'appétit et plus globalement la balance énergétique, ainsi que sur des paramètres d'ordre métabolique. L'article présenté ci-dessous présente l'étude réalisée chez 20 sujets de poids normal, qui a constitué la première étape du projet SAFRAN.

7.2 **ARTICLE 3 : Increasing eating frequency contributes to a better control of appetite in lean men**

Article en revision (Physiology & Behavior)

TITLE: Increasing eating frequency contributes to a better control of appetite in lean men.

AUTHORS: Xavier Alliot^{a,b,c,*}, Laure Saulais^{a,c}, Kevin Seyssel^{b,c}, Julia Graepi-Dulac^{b,c}, Hubert Roth^{b,d}, Anne Charrié^{b,c,e}, Jocelyne Draï^e, Joelle Goudable^{c,e}, Emilie Blond^{b,c,e}, Emmanuel Disse^{b,c}, Martine Laville^{b,c}

^a Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, 69130 Ecully, France

^b Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, Centre Hospitalier Lyon Sud, 69310 Pierre Bénite, France

^c Centre Européen de Nutrition pour la Santé, Lyon, France

^d Pôle Recherche, CHU Grenoble - Inserm U1055-Bioénergétique, Université J. Fourier, Grenoble, France

^e Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud-Charles Mérieux-F69495 Pierre-Bénite
CarMeN-INSERM U1060-Université Claude Bernard Lyon 1

* Corresponding author. Tel.: +33 472 18 54 66; fax: +33 472 18 54 69

E-mail address: xavier.alliot@institutpaulbocuse.com (X. Alliot).

ABSTRACT

The effects of increasing eating frequency on human health are unclear. This study used an integrated approach to assess the short-term consequences on appetite and metabolism. Twenty normal-weight men participated in: (i) two sessions consisting of a breakfast consumed in one intake at T0 (F1), or in four isocaloric intakes at T0, T60, T120, T180 min (F4), and followed by an ecological *ad libitum* buffet meal (T240) designed in an experimental restaurant. Intakes were assessed for the whole buffet meal and for each temporal quarter of the meal. (ii) two sessions consisting of the same two breakfasts F1 and F4 in a Clinical Investigation Center. Blood sampling was performed to study the kinetics of ghrelin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), glucose, insulin, Triglyceride and non-esterified fatty acids (NEFA). Substrate oxidation was measured by indirect calorimetry. During each of the 4 sessions, participants rated their appetite throughout the experiment. After F4, at T240 min, GLP-1 concentration was higher ($P = 0.006$) while ghrelin concentration and hunger ratings were lower ($P < 0.001$). We showed a trend for subjects to consume less energy ($- 88 \pm 61$ kcal, $P = 0.08$) at the buffet after F4, explained by a decrease in lipid intake ($P = 0.04$). Marked differences in consumption were observed during the last temporal quarter of the meal for total energy and lipid intake ($P = 0.03$). Mixed models highlighted differences between F1 and F4 for the kinetics of glucose, insulin and NEFA ($P < 0.001$). The area under the curve was lower for insulin ($P < 0.001$) and NEFA in F4 ($P = 0.03$). Diet induced thermogenesis was reduced in F4 ($P < 0.05$). This study demonstrated the beneficial short-term effect of increasing eating frequency on appetite in lean men considering subjective, physiological and behavioral data, but the reduction of diet induced thermogenesis and the inhibition of lipolysis, reflected by NEFA profiles, require attention in a long run perspective.

KEYWORDS

Eating frequency

Appetite control

Satiety

Ghrelin

Food intake

Metabolism

1. INTRODUCTION

Overweight and obesity are explained by an imbalance between energy intake and energy expenditure [1]. Many genetic, environmental, cultural, socioeconomic and behavioral factors may influence energy intake. Among behavioral factors, the number of eating occasions we have in a day is a fundamental aspect of our dietary habits but there is no scientific consensus as to the optimum number of meals we should have for weight management and speculations regarding this are often contradictory [2]. Nevertheless, the consumption of small and frequent meals is often advised despite the lack of clear scientific evidence to justify it [3].

Fabry *et al.* [4] were the first to demonstrate an inverse relationship between meal frequency and body weight in humans. However, this relationship shown in other epidemiological studies [5-7] is likely to be an artifact produced by underreporting of eating frequency concurrent with underreporting of energy intake [8, 9]. When implausible energy intake reporting is taken into account, the association between eating frequency and body weight is even found to be positive in some studies [10]. Because of these methodological issues, the epidemiological evidence about the relationship between eating frequency and health appears to be very weak.

Experimental studies may help to better understand the effect of eating frequency on health and particularly body weight, via the assessment of metabolic and appetite (mainly hunger and satiety) parameters. It has been shown for example that irregular eating frequency could lead to a decrease in diet induced thermogenesis (DIT) [11], an increase in the release of insulin [12] and an increase in energy intake [13]. The effect of adding a snack between meals has also been explored experimentally and has been shown to have poor satiating effect if consumed in a nonhungry state [14, 15]. Eating frequency can easily be experimentally manipulated, but habitual eating frequency of subjects has also to be taken into account, as differences in energy compensation and intake regulation [16, 17] or metabolic responses [18] have been observed between habitual nibblers and habitual gorgers. Moreover, hunger and satiety are psycho-physiological constructs, making them complex phenomena to study and measure [19]. They can be measured directly via a behavioral assessment (food intake), indirectly via ratings of subjective sensations, or through the measurement of biomarkers of satiation and satiety [20], such as ghrelin which appears to act as a meal initiator [21] or glucagon-like peptide-1 (GLP-1) which is likely to be a causal factor in the process of satiation [22].

To date, experimental studies assessing the short-term consequences of an isocaloric increase of eating frequency have only partially considered these parameters. These studies led to conflicting

results regarding the effect of frequent eating on subjective appetite and subsequent *ad libitum* intakes [23-26], on appetite hormones [27, 28] and on metabolic consequences such as diet induced thermogenesis (DIT) or substrate oxidation [29-31].

Considering the above, it appears necessary to conduct more studies in order to clarify the effect of increasing eating frequency on energy balance, taking into consideration multiple approaches: appetite exploration with subjective data, behavioral assessment and physiological approach (ghrelin, GLP-1) and investigation of metabolic parameters and substrate oxidation. One issue of such an integrated approach is that the implementation of physiological measurements implies that the experiments have to be carried out in a hospital-based laboratory, which may generate contextual or emotional biases to the behavioral measurements. In such a context, it is difficult to reproduce an ecological eating situation. Such designs may thus be incompatible with the realization of accurate behavioral measurements [32]. Indeed, it has already been shown that it is highly important to take care of context and environment when studying eating behaviors and food intake [33, 34].

The interest in satiety research of an integrated approach was demonstrated in a previous paper [32]. The present study was based on this proposal to combine an in-depth behavioral approach to physiological measurements in two specific and adequate places. The objective was to assess the short-term consequences of an isocaloric increase of eating frequency:

- on appetite, through the assessment of:
 - o subjective (Visual Analog Scales) and physiological (ghrelin, GLP-1) data before the subsequent meal,
 - o food intake and behavioral data during the subsequent meal designed in a normal-eating context,
- on metabolism, through the assessment of metabolic kinetics, substrate oxidation and diet induced thermogenesis.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Subjects

Twenty healthy normal-weight men with a mean age of 27.1 ± 1.3 years (mean \pm SEM) and a mean body mass index (BMI) of 22.0 ± 0.3 kg/m² were recruited through advertisements. Subjects were eligible for the study if they were considered healthy at the medical examination. They should have normal fasting plasma glucose (< 7 mmol/l), cholesterol (≤ 6.8 mmol/l) and triglycerides (≤ 2.5 mmol/l) concentrations. All subjects reported moderate levels of physical activity (less than 4 hours

of sport per week), and were non-smokers. They were all habitual 3 or 4 meals eaters and were used to eating at breakfast and lunchtime. None of them were night workers. None of the subjects had food allergies. To be eligible, subjects had to declare liking at least 75% of the test food items given during the study and to not dislike any of them. Before being included, all subjects were asked to fill in a validated French translation of the Dutch Eating Behavior Questionnaire [35, 36] and of the Three Eating Factor Questionnaire [37, 38] and should present normal scores.

All subjects gave their written consent to participate in the study. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon Sud Est II and AFSSAPS (French health products safety agency) and complied with both the French Huriet-Serusclat law and the Second Declaration of Helsinki. The study was registered at Clinical Trials (registration number: NCT01573988).

2.2. Study design

The study was conducted following a randomized crossover design from September 2010 to May 2011. Explorations were conducted at the Rhône-Alpes Research Center for Human Nutrition (CRNH) and at the Institut Paul Bocuse Research Center (IPB).

After being included, subjects had a first visit to the experimental restaurant of IPB [39] for lunch. The aim of this first visit was to familiarize subjects with the environment and foods used during the study. During this visit, subjects were invited to the experimental restaurant at 12:00 and were asked to taste all of the food items offered, during an individual buffet-type meal. A choice of classical hot and cold French food items with varied macronutrient compositions was offered: grated carrots, “pâté de campagne”, rice, French beans, fried potatoes, sausages, chicken breast, cottage cheese, cheese (“Comté”), stewed fruit, chocolate cake, white bread and sugar. The energy content and macronutrient composition of these food items are described in a previous validation study [40]. Subjects were instructed to eat *ad libitum*. Their liking for each food item was also recorded in order to verify the acceptability of all food items. Subjects had to rate their liking of each food item on a 100 mm electronic visual analogue scale (VAS). The mean rating of food items varied from 5.6 ± 0.1 (for grated carrots), to 7.5 ± 0.1 (for cottage cheese).

After this first visit, subjects were invited to four other experimental sessions, each separated by at least 7 days: two of these sessions were conducted in IPB for behavioral explorations, while the two others took place in CRNH for metabolic explorations. The interest of duplicating the same protocol in two sites, one specialized in clinical nutrition (CRNH), the other equipped for studying with precision eating behaviors during a meal (IPB), was described in a previous paper [32].

The order of these four sessions was randomized across the participants to prevent any order effect. Subjects were requested to avoid vigorous activities and to abstain from alcohol consumption the day before each session. Subjects were also asked to select a dinner they consume regularly and to eat this same meal the evening before each session.

For the four sessions, subjects were invited to report at 7:00 am. Either in CRNH or in IPB, they were instructed to be in a fasted state since the evening before (9:00 pm). They were given each time the same 674.8 kcal breakfast, either in one - 20 minutes long - intake at T0 (8:00 am) (F1 condition) or in four - 10 minutes long - 168.7 kcal identical intakes provided every hour at T0, T60, T120 and T180 minutes (F4 condition) (Table 1). Subjects were asked to eat all the food given for breakfast. Thus, total energy intake for breakfast was the same in the two conditions F1 and F4. Each of the subjects received the breakfast in one intake (F1) on two occasions: once in IPB for behavioral exploration, once in CRNH for metabolic exploration. They received the breakfast in four intakes (F4) on two occasions: once in IPB for behavioral exploration, once in CRNH for metabolic exploration.

Table 1: Nutritional composition of the 674.8 kcal breakfast in F1 condition. For each intake of the F4 condition, values should be divided by 4.

	Quantity (g)	Carbohydrate (g)	Lipid (g)	Protein (g)	Total Energy (kcal)
White bread	40	23.0	0.6	3.3	110.6
Croissant	80	35.35	18.7	5.5	331.7
Strawberry Jam	30	16.33	0.1	0.1	66.6
Unsalted butter	10	0.15	8.3	0.1	74.8
Orange juice	120	10.75	0.2	0.8	48.0
White sugar	10	10.0	0	0	40.0
Black coffee (or tea)	400	0	0.08	0.6	3.1

2.3. Appetite profiles

Electronic visual analogue scales (VAS) were used to assess feelings of hunger, satiety, prospective food consumption and desire to eat savory, sweet food and food rich in energy. VAS were completed both in IPB and CRNH at T0, T20, T80, T140, T200, T240 minutes. Each electronic VAS consisted of a 70 mm line [41], presented on Dell Netbook (Latitude 2100 model, Dell Inc., Round Rock, TX, USA)

anchored at the beginning and end by opposing statements such as: “not hungry at all” and “extremely hungry”, in response to the question: “how hungry do you feel?”. Subjects were requested to click on the line that best matched how they were feeling at the time. FIZZ Sensory Software 2.40 H by Biosystèmes (Couternon, France) was used for automatic data capture and transforming results in a 0 to 10 score.

2.4. Behavioral explorations (IPB)

Subjects came twice to IPB in groups of five subjects for behavioral explorations. From 7:00 am to the end of the experiment, they were free to practice the sedentary activity of their choice such as reading books or magazines, watching movies, listening to music or working on a computer.

For lunch at T240 min (12:00), subjects were offered exactly the same eating situation each time, identical to the first familiarization visit and for which a detailed description is available elsewhere [32]. A “brasserie” ambiance was created in the experimental restaurant, using brasserie furniture and background music, to construct a pleasant environment for eating. Five individual spaces for service (buffet) and consumption were created, using decorative folding screens, where subjects were invited to eat without communicating with others. Subjects ate, seated in front of a small table. Each buffet meal was individual and located close to each subject’s table. Each food item previously tasted in the first visit was offered and available in larger quantities than the expected intake for an average subject. All food items were cut into small pieces, to avoid suggesting an appropriate amount to eat. Subjects were invited to eat as long as they wanted, until comfortably full. They could get up and help themselves to any food item in any quantity freely during the meal. Chafing dishes, commonly used for French buffets, were used in order to keep hot food items at constant temperature throughout the meal.

It was demonstrated in a previous study that this tool was valid for assessing the effects of interventions on food intakes. Good reproducibility was found between two identical sessions for total energy and macronutrient intake for the whole meal and for each temporal quarter of the meal. These parameters were also found to be sensitive to differences in hunger level induced by a period of food deprivation [40].

Video recordings during the buffet meal and weighing of food before and after the meal enabled us to collect behavioral data such as: meal duration, mean energy density of the meal, energy, carbohydrate, lipid and protein intake for the whole meal. Total energy intake has been expressed in kcal and in % of the individual daily energy requirement (DER) of the subjects, based upon their basal metabolic rate measured in the CRNH (mean of F1 and F4 condition) multiplied by a 1.375 coefficient

which corresponds to a moderate physical activity level. The determination of the content of each bite also enabled us to estimate the energy intake for each minute of each meal of the subjects and to determine intakes for each temporal quarter of the meal.

2.5. Metabolic explorations (CRNH)

Each subject came twice to CRNH for metabolic explorations. When the subjects arrived, an i.v. catheter was inserted into the antecubital vein for blood sampling for measurement of plasma ghrelin, glucose-like peptide-1 (GLP-1), glucose, insulin, non-esterified fatty acid (NEFA) and Triglyceride (TG) concentrations. Subjects stayed in a bed during all the experiment as continuous indirect calorimetry measurements were performed but they were not allowed to sleep. In the interval between consecutive measurements, subjects were allowed to read, watch movies, listen to music or work on a computer. Venous blood sampling were collected into serum or EDTA tubes 17 times (T0, 10, 20, 40, 60, 70, 80, 100, 120, 130, 140, 160, 180, 190, 200, 220, 240 min). TG and NEFA concentrations were only measured 10 times at (T0, 10, 20, 40, 60, 100, 140, 180, 220, 240 min). For TG, NEFA, glucose and insulin analysis, blood samples were collected into serum tubes. For acylated ghrelin, blood samples were collected in tubes containing EDTA; para-hydroxymercuribenzoic acid in HCl (1mM in the final sample volume) was immediately added to plasma to prevent degradation of acylated ghrelin by protease. Vacutainer EDTA-plasma tubes with dipeptidyl peptidase IV inhibitor were used for GLP-1 collection. After collection, all blood samples were centrifuged for 10 min at 4°C at 4500 rpm. Plasma samples were immediately stored at -23°C until analysis. For each metabolic exploration day, a total of 115 ml of blood was sampled.

Plasma glucose concentrations were measured using an enzymatic method (Hexokinase) and TG concentrations were determined using spectrophotometric methods, both on a AU2700 Beckman Coulter® (O'Callaghan's Mills Ireland), NEFA concentrations were determined via an enzymatic method (Wako® Chemicals GmbH Neuss, Deutschland). We measured acylated plasma ghrelin concentration by enzyme immunoassay kits (ELISA) using a Bertin Pharma SPI-Bio kit (Montigny-le-Bretonneux, France). Insulin concentrations were determined using an immunoreactive method with Bi-Ins-IRMA kit (Cisbio Bioassays, IBA, Gif/Yvette, France).

Total GLP-1 concentrations were determined with *EDI*TM total GLP-1 ELISA kit (Epitope Diagnostics Inc., San Diego, CA92126 USA) distributed by Labodia S.A. (Paris, France).

Indirect calorimetry measurements were performed during the basal period (T-30 to T0), and from T0 to T240 min. We used the DELTATRAC IITM calorimeter (Datex instrumentary corporation, Helsinki, Finland) and the QUARK RMR (Cosmed, Rome, Italy). Data obtained from these two calorimeters

have shown equivalency [42]. From T-30 to T240 min, oxygen consumption (VO_2 in L/min) and carbon dioxide production (VCO_2 in L/min) were recorded every minute for periods of 30 minutes over 4h30. Respiratory quotient (RQ) was assessed as the VCO_2/VO_2 ratio. The non-protein respiratory quotient (NPRQ) was calculated using the formula:

$$NPRQ = (VCO_2 - 0,774 \times P) / (VO_2 - 0,966 \times P)$$

where P is the protein oxidation in g/min: $P = 6.25 \times N$ and N is the urinary nitrogen excretion in g/min. Substrate oxidation (proteins, lipids and carbohydrates), resting metabolism rate (RMR) and energy expenditure (EE) were calculated with Ferrannini's equation [43]. Fat and carbohydrate balance were expressed as g eaten – g oxidized, using data from T0 to T240. All the results were obtained from the average of each 30 min period. Diet induced thermogenesis (DIT), i.e. the increment of EE above basal resting metabolic rate (RMR) was calculated with the formula:

$$\% DIT = [\sum (PPMR - RMR) \times Time] / ECM.$$

with PPMR: postprandial metabolic rate in kcal/min, RMR: resting metabolic rate in kcal/min, Time: time of measure (min), ECM: energy content of meal in kcal).

In order to calculate protein oxidation, urine samples were collected twice during the day (T0, and T240), in order to measure urinary nitrogen content using a chemiluminescence method (Antek 7000, Alytek, Juvisy, France) [44].

2.6. Statistical analysis

The normality of each parameter was checked using Shapiro-Wilk test. To test for the differences between conditions F1 and F4, we used Student's paired *t*-test when the distribution of the variable was normal, and Wilcoxon paired test when the distribution of the variable was not normal. We tested the difference between the two conditions F1 and F4: for total energy and macronutrient intake during the whole meal and each temporal quarter of the meal, for all VAS parameters at T0 and at T240, for biological variables at T0 and at T240. We also tested, for biological variables, the difference between baseline and T240 for the same condition.

We used mixed models to compare kinetics of appetite scores. The dependent variable was the appetite score (hunger, satiety,...). The condition (F1 or F4), the place of measurement (IPB or CRNH), the time and the interaction time \times condition were considered as fixed effects. Subjects were considered as a random effect.

Similarly, mixed models were used to compare kinetics of biological variables. The dependent variable was the biological variable. The condition (F1 or F4), the time and the interaction time × condition were considered as fixed effects. Subjects were considered as a random effect.

Total 240 min area under the curve (AUC) was calculated from the fasting (baseline) time point and the 16 postprandial time points for each biological variable. We further divided the testing day into two segments: from 0 to 120 min, and from 120 to 240 min and calculated individual AUC for each variable for these periods. For carbohydrate and lipid oxidation, incremental area under the curve (IAUC) was calculated. For all AUC and IAUC measurements, the trapezoidal rule was used. [45].

A random effect regression model was used to assess the part of the variability (within subjects and between subjects) of *ad libitum* energy intake explained by hunger score measured prior to the buffet lunch (T240) (F1 and F4 data pooled). Simple regressions were used to assess the relationship between energy intake at lunch and GLP-1, ghrelin concentrations at T240.

All tests were two-sided and differences were considered significant at $P < 0.05$. Values are expressed as Mean ± Standard Error of Mean (SEM). JMP® 9 statistical software (SAS Institute Inc., NC, USA) was used for all statistical analyses except for the random effect regression model for which we used Stata Version 12 statistical software (Stata Corp, College Station, TX).

From a previous study led in our laboratory [46], we calculated that a minimum sample size of 19 subjects was necessary to observe a significant difference in ghrelin concentrations before lunch, after two different breakfasts (control vs. breakfast inducing a 40 % decrease of glycemic excursion), with a significance level of 0.05 and a power of 80 %. Furthermore, according to Speechly *et al.* [23], fourteen subjects were necessary to observe a significant difference in *ad libitum* intake at lunch after a breakfast in one vs. five intakes, with a significance level of 0.05 and a power of 80 %. We included 20 subjects.

3. RESULTS

3.1. Appetite

3.1.1. Subjective appetite

VAS scores are shown in Fig. 1. No baseline difference (T0) was found between the two conditions F1 and F4 either in IPB or in CRNH, for all VAS scores. Over the whole 0-240 period, for all VAS parameters, there was an effect of time ($P < 0.0001$), an effect of the condition ($P < 0.001$) and a time × condition interaction ($P < 0.0001$). There was an effect of the place of measurement (IPB vs. CRNH)

for hunger scores ($P = 0.025$), desire to eat food rich in energy ($P = 0.044$) and desire to eat savory food ($P = 0.029$). Values for these three scores were mostly higher in IPB than in CRNH as shown in Figures 1A, 1D and 1E.

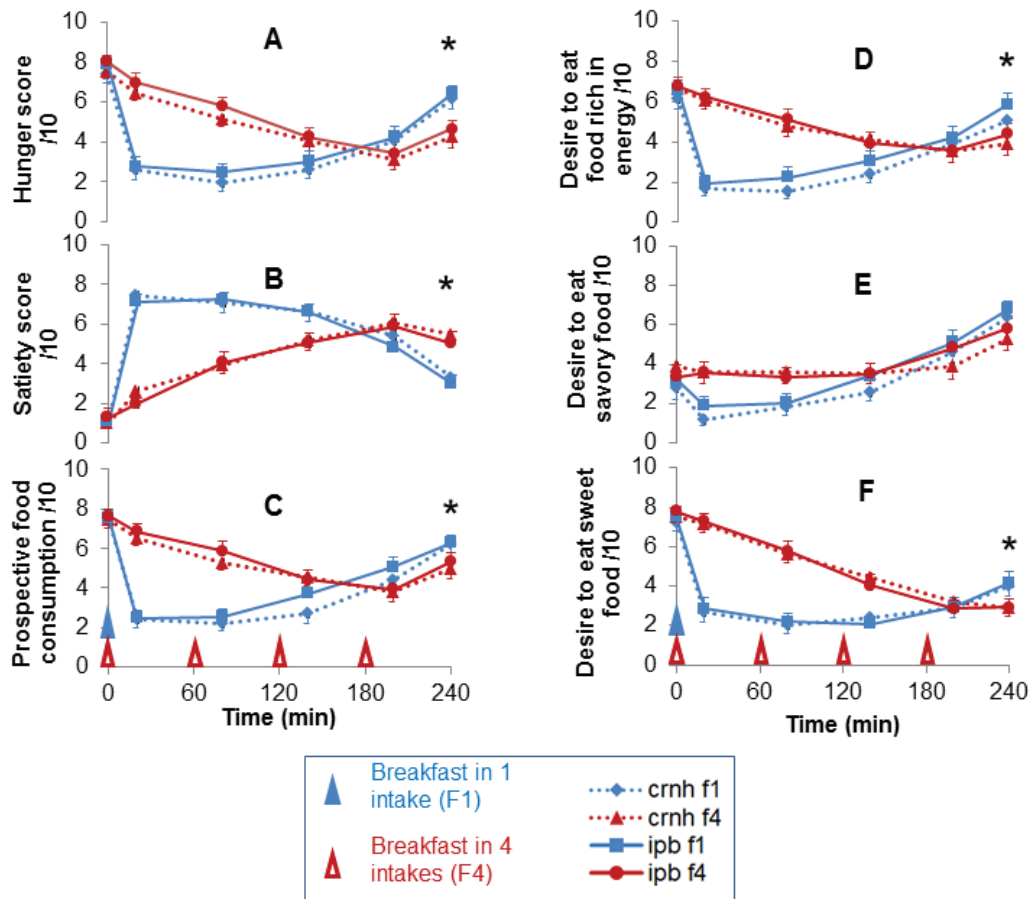


Fig. 1: Appetite scores between T0 and T240. Each value is a 0 to 10 score for hunger (A), satiety (B), prospective food consumption (C), desire to eat food rich in energy (D), savory food (E), and sweet food (F). Measurements have been done in the Research Centre in Human Nutrition Rhône-Alpes (CRNH) and the Institute Paul Bocuse Research Centre (IPB). * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing IPB F1 values vs. F4 at T240.

At T240 (just before lunch), in F4 condition, subjects declared being less hungry (IPB: $P < 0.0001$; CRNH: $P = 0.002$), more satiated (IPB: $P < 0.0001$; CRNH: $P = 0.002$), prospective food consumption was lower (IPB: $P = 0.028$; CRNH: $P = 0.001$), desire to eat sweet food was lower (IPB: $P = 0.004$; CRNH: $P = 0.01$), desire to eat food rich in energy was lower in IPB ($P = 0.005$) but not in CRNH ($P = 0.06$). No differences between conditions were found at T240 for the desire to eat savory food.

When the data for F1 and F4 were pooled, we found that the level of hunger prior to the *ad libitum* buffet lunch explained 35,6 % of the intra-individual variability for total energy intake at lunch (within

subjects), while inter-individual variability (between subjects) was very weakly explained ($R^2 < 0.1$) (overall $P = 0.004$).

Table 2: Food intake during the *ad libitum* buffet lunch. Total energy intake (in kcal and expressed as % of individual daily energy requirement (DER)), amount of food eaten, energy density and macronutrient intakes (in kcal and % of energy intake) for conditions F1 and F4 (mean \pm SEM); P values are results for the test comparing means in F1 condition vs. F4.

	F1 Condition	F4 Condition	P
Total energy intake (kcal)	1355 \pm 69	1267 \pm 82	0.08
Total energy intake (% of DER)	59.2 \pm 12.5	55.2 \pm 14.2	0.13
Amount of food eaten (g)	785 \pm 43	742 \pm 47	0.08
Energy density (kcal /g)	1.75 \pm 0.05	1.72 \pm 0.06	0.65
Carbohydrate intake (kcal)	517 \pm 26	483 \pm 30	0.26
Carbohydrate intake (%)	38.4 \pm 1.0	38.3 \pm 1.0	0.87
Lipid intake (kcal)	614 \pm 36	567 \pm 43	0.04*
Lipid intake (%)	45.1 \pm 0.8	44.5 \pm 1.1	0.47
Protein intake (kcal)	224 \pm 15	216 \pm 15	0.41
Protein intake (%)	16.5 \pm 0.7	17.2 \pm 0.7	0.25

* $P < 0.05$

3.1.2. Behaviors during *ad libitum* buffet meal

No difference was found in meal duration (23' 54" \pm 0' 49" in F1 condition; 22' 45" in F4 condition, $P = 0.15$). Subjects consumed 88 \pm 61 kcal less in F4 condition during the *ad libitum* buffet meal but this difference was not significant ($P = 0.08$) (Table 2). One of the subjects had a lower compliance compared to the others considering the respect of the instructions during the buffet meal. Intake results concerning this subject were found to be numerically distant from the rest of the sample (difference between energy intakes F1-F4 = -550 kcal while the mean \pm SD for the 19 other subjects was 122 \pm 219 kcal). When excluding this subject from the analysis, we found that the 19 subjects consumed a significantly less amount of food (716 \pm 41.2 vs. 779.7 \pm 45.5 g, $P = 0.01$) and less energy in F4 compared to F1 condition ($P = 0.02$). In F4 condition, the 20 subjects consumed less lipid ($P = 0.04$). No differences between conditions were found for carbohydrate, protein intake and for the mean energy density of the meal. The analysis by temporal quarter of the meal (Fig. 2) showed no difference in total energy, lipid, carbohydrate and protein intakes during the first three quarters. During the last temporal quarter of the meal, subjects consumed less energy in F4 condition ($P =$

0.03) and less energy from lipids ($P = 0.03$). For these parameters, the results were the same (with different P-values) with either 20 or 19 subjects.

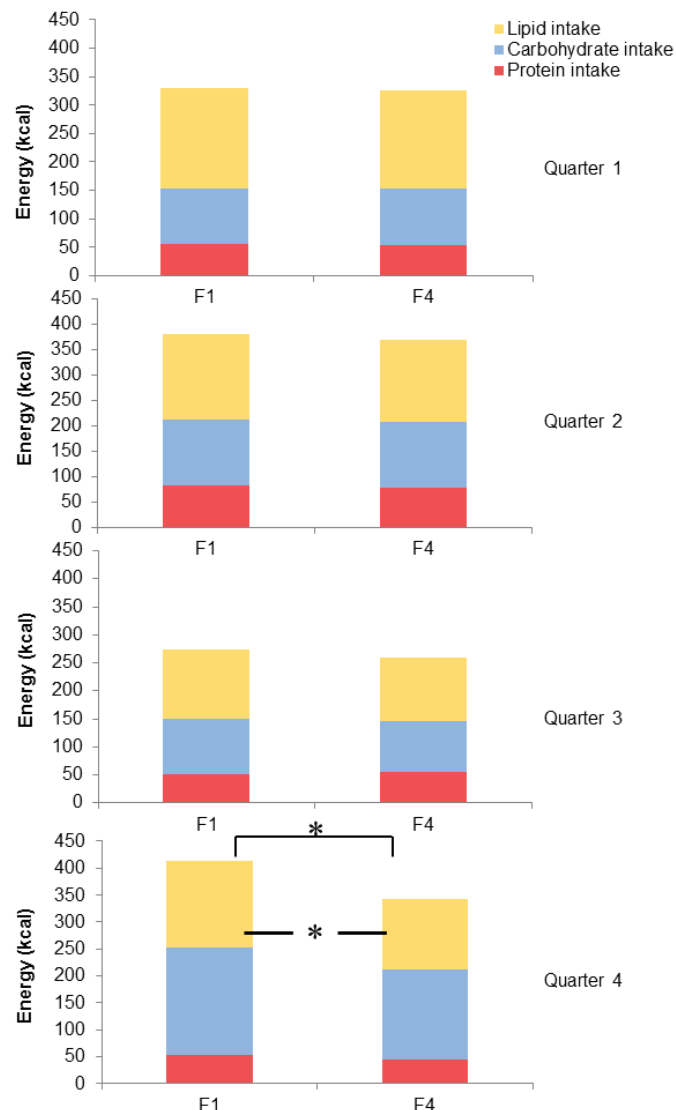


Fig. 2: Intakes for each temporal quarter of the *ad libitum* buffer meal. Mean lipid, carbohydrate and protein intake (kcal) are presented for each temporal quarter of the meal, for sessions F1 and F4. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing between F1 and F4 total energy and each macronutrient intake.

3.1.3. Ghrelin

Acylated ghrelin concentrations are shown in Fig. 3A. Baseline ghrelin concentrations were not different between conditions. Over the whole 0-240 period, there was an effect of the condition ($P = 0.04$) and a time \times condition interaction ($P < 0.0001$). Acylated ghrelin concentration was significantly lower at T240 in F4 condition: 57.94 ± 11.03 pg/ml vs. 91.81 ± 14.90 pg/ml in F1 ($P = 0.0003$). Ghrelin AUC for the 0-120 period was higher in condition F4 ($P = 0.0003$), while no difference was found for

the 120-240 period and for the whole 0-240 period. No significant relationship was found between ghrelin concentrations at T240 and *ad libitum* energy intake at lunch.

3.1.4. GLP-1

GLP-1 concentrations are shown in Fig 3B. Baseline GLP-1 concentrations were not different between conditions. Over the whole 0-240 period, there was an effect of the condition ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P < 0.0001$). GLP-1 concentration was significantly higher at T240 in F4 condition: 2.79 ± 0.51 vs. 2.10 ± 0.37 pmol/l in F1 ($P = 0.0065$). GLP-1 AUC for the 0-120 period was lower in condition F4 ($P < 0.0001$), while no difference was found for the 120-240 period. AUC for the whole 0-240 period was significantly lower in condition F4 (692 ± 84 vs. 1014 ± 102 pmol/l \times min, $P < 0.0001$). GLP-1 concentrations at T240 were related to *ad libitum* energy intake at lunch ($R^2 = 0.18$, $P = 0.02$).

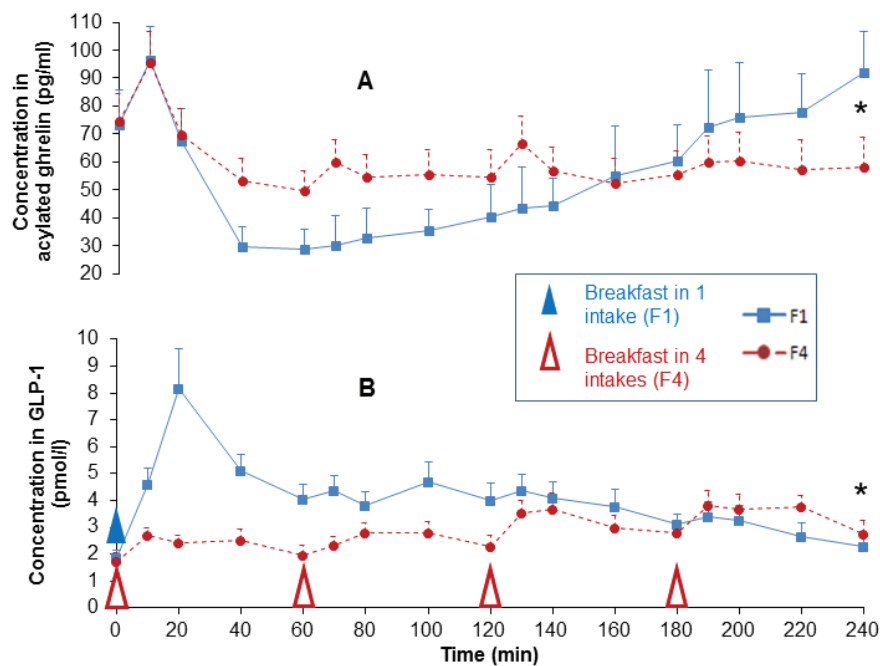


Fig. 3: Kinetics for acylated ghrelin (A) and GLP-1 (B) plasma concentrations between T0 and T240. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

3.2. Metabolism

3.2.1. Glucose

Baseline glucose concentrations were not different between conditions (Fig. 4A). Eating-related oscillations in plasma glucose concentrations were observed following each eating occasion. There was a significant effect of time ($P < 0.0001$) and an interaction time \times condition ($P < 0.0001$). In F4 condition, plasma glucose at T240 was higher than at baseline (5.9 ± 0.1 vs. 5.2 ± 0.1 , $P < 0.0001$) and was significantly higher compared to F1 condition (5.9 ± 0.1 vs. 5.01 ± 0.1 , $P < 0.0001$). Total AUCs

were not statistically different between conditions but we observed a higher glucose AUC in F4 condition over the 120-240 period ($P = 0.01$).

3.2.2. *Insulin*

Baseline insulin concentrations were not different between conditions (Fig. 4B). Eating relating oscillations in plasma insulin concentrations were observed following each eating occasion. There was a significant effect of time ($P < 0.0001$), an effect of the condition ($P = 0.0006$) and an interaction time \times condition ($P < 0.0001$). Similarly to plasma glucose, in F4 condition, plasma insulin concentration was at T240 higher than at baseline (13.9 ± 1.4 mIU/l vs. 3.0 ± 0.3 mIU/l, $P < 0.0001$) and was significantly higher compared to F1 condition (13.9 ± 1.4 mIU/l vs. 4.5 ± 0.8 mIU/l, $P < 0.0001$). Total Insulin AUC was lower in F4 condition (3448 ± 238 vs. 4351 ± 363 mIU/l \times min, $P = 0.0005$). Considering the two periods, insulin AUC in F4 condition was lower over the 0-120 period ($P < 0.0001$) and higher over the 120-240 period ($P = 0.004$).

3.2.3. *Non-esterified fatty acids*

Baseline NEFA concentrations were not different between conditions (Fig 4C). Eating-relating decrease of plasma NEFA was observed in F1 and F4 conditions. But NEFA concentration in F4 condition stayed at a low level during all the morning and was at T240 lower compared to baseline (112.8 ± 8.3 μ mol/l vs. 328.9 ± 27.8 μ mol/l, $P < 0.0001$) and to F1 condition (112.8 ± 8.3 μ mol/l vs. 294.9 ± 35.6 μ mol/l, $P < 0.0001$). There was a significant effect of time ($P < 0.0001$), an effect of the condition ($P < 0.0001$) and an interaction time \times condition ($P < 0.0001$). Total NEFA AUC in F4 condition was statistically lower compared to F1 (31869 ± 1686 vs. 40643 ± 3126 μ mol/l \times min, $P = 0.03$). No difference in NEFA AUC was observed over the 0-120 period while NEFA AUC was lower in F4 over the 120-240 period ($P = 0.001$).

3.2.4. *Triglycerides*

Baseline TG concentrations were not different between conditions (0.91 ± 0.09 mmol/l in both conditions). There was an effect of time ($P < 0.0001$), an effect of the condition ($P = 0.0001$) but no interaction time \times condition ($P = 0.38$). No difference was observed for concentrations at T240 between F1 (1.29 ± 0.15 mmol/l) and F4 (1.38 ± 0.19 mmol/l) and for AUCs.

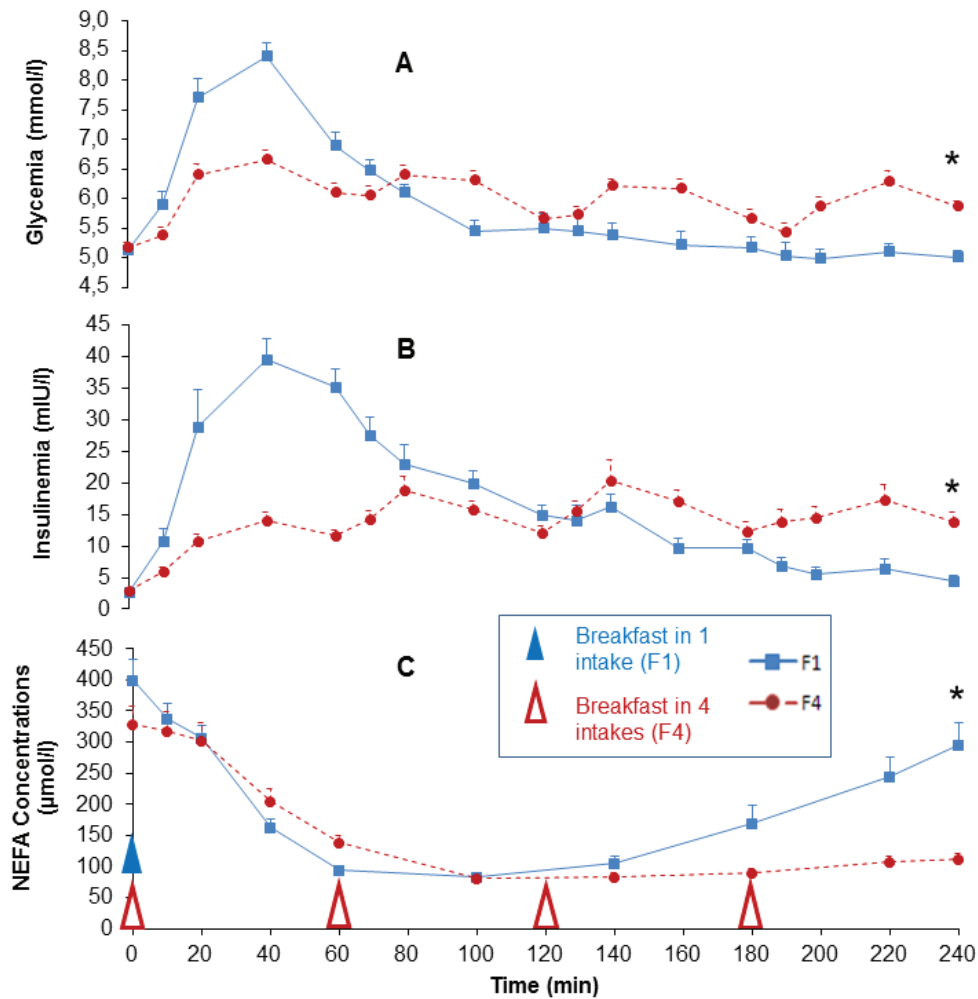


Fig. 4: Kinetics for glucose (A), insulin (B) and NEFA (C) plasma concentrations between T0 and T240. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

3.2.5. Carbohydrate oxidation

No difference was found in baseline carbohydrate oxidation (Fig. 5A). There was an effect of time ($P < 0.0001$) and an interaction time \times condition ($P = 0.0003$). Mean carbohydrate oxidation at T240 was significantly higher in F4 condition than in F1 (2.94 ± 0.15 vs. 2.11 ± 0.16 mg/kg per min, $P < 0.0001$). In F4 condition, total IAUC was significantly lower over the period 0-240 ($P = 0.004$). This difference is explained by a great difference over the period 0-120 ($P < 0.001$). No difference in IAUC was found for carbohydrate oxidation over the period 120-240. We found no difference between conditions for the 4h carbohydrate balance ($P = 0.49$).

3.2.6. Lipid oxidation

No difference was found in baseline lipid oxidation (Fig. 5B). There was an effect of time ($P < 0.0001$) but no interaction time \times condition. Mean lipid oxidation at T240 was significantly lower in F4

condition than in F1 (0.44 ± 0.06 vs. 0.66 ± 0.07 mg/kg per min, $P = 0.004$). We found no difference between F1 and F4 for all lipid oxidation IAUCs and for the 4h fat balance ($P = 0.49$).

3.2.7. RQ and diet induced thermogenesis

Over the T0 to T240 period, no difference between F1 and F4 was found for RQ (4h RQ = 0.87 ± 0.01 for both conditions, $P = 0.44$), and for NPRQ (4h NPRQ = 0.89 ± 0.01 for both conditions, $P = 0.44$). We found a significant decrease of DIT over the 0-240 period, in F4 condition comparing to F1 (4.7 ± 0.5 % vs. 6.2 ± 0.6 % of the ECM, $P < 0.05$).

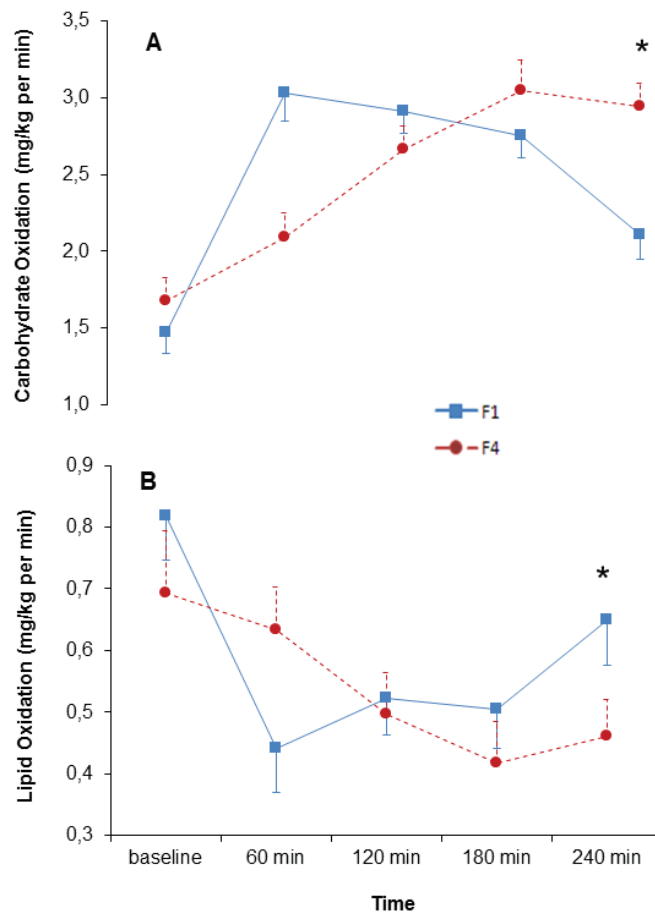


Fig. 5: Carbohydrate and lipid oxidation between baseline and T240. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

4. DISCUSSION

The results of this study provide some evidence that an isocaloric increase of the number of eating occasions has a short-term positive impact on appetite control in normal-weight young men, considering subjective, behavioral and physiological aspects of appetite. We also demonstrated an impact on metabolic kinetics and a decrease in DIT.

4.1. Effect on appetite

We found that a breakfast in four identical intakes consumed hourly in the morning, compared to the same breakfast consumed in one intake induced a decrease of hunger and desire to eat just before lunch, particularly for food rich in energy and sweet food. This decrease of subjective appetite was corroborated by physiological measurements, as ghrelin and GLP-1 were both affected in the sense of decreasing hunger and increasing satiety before the next meal.

Eating behaviors during the subsequent *ad libitum* meal were also different: subjects consumed less, more precisely less lipids, after the breakfast in four intakes. There are a very limited number of experimental studies which have previously assessed the effect of increasing eating frequency on subjective appetite and energy intake in normal-weight subjects. Speechly *et al.* [23], compared subjective appetite and *ad libitum* intake of cottage pie and orange juice in eight lean males, after having consumed a breakfast in five vs. one intake. After the breakfast in five intakes, they found that subjects ate significantly less during this single-course meal. Subjective appetite scores were also in line with our results even if the difference before lunch was not significant, certainly because of the small number of subjects [47]. A study by Lemmens *et al.* [28] corroborates our findings, showing a lower level of subjective appetite after a staggered meal eaten in 2 hours, with 3 within-meal pauses, compared to a non-staggered meal ingested in 0.5 hours. However, another study [24] showed no difference in subjective appetite before the subsequent meal after a six-intake vs. a two-intake eating pattern, but in this study *ad libitum* intake was not measured.

To our knowledge, the present study is the first to assess the effect of an experimental increase in eating frequency on eating behaviors beyond the unique measure of total energy intake. The decrease in fat intake that was observed could be beneficial. Nevertheless, it would be necessary to run longer term studies in order to assess if such an effect could be prolonged over a longer period of time.

The effects of spreading out a breakfast over the course of the morning were particularly observed during the last temporal quarter of the subsequent lunch, where a lower energy intake was

observed, due to a significant decrease in lipid consumption. Temporal aspects of the meal have not been assessed in previous experimental studies on the short-term effect of increasing eating frequency on appetite control [23-25]. We think that such an approach should be encouraged for better understanding of how a particular variable of interest can lead to a better control of appetite.

Moreover, in our study, an effort was made to preserve the ecological character of the eating situation. As previously pointed out, the influence of ambiance on eating behavior and the magnitude of its effect, particularly physical surroundings, is generally underestimated or not taken into account in food intake studies [34]. We demonstrated that hunger scores and desire to eat were lower in the Clinical Investigation Center where blood sampling and calorimetric measurements were performed, compared to the experimental restaurant without concomitant measurements, even if the shapes of VAS kinetics were the same. These results confirm the importance of taking care of the context and the environment when studying eating behaviors [33, 48] and particularly in satiety research [32], in order to increase the external validity of studies exploring the effects of specific interventions on appetite and subsequent intakes. We found in this ecological context a positive correlation between the level of hunger before the meal and subsequent *ad libitum* energy intake, using a within-subject analysis. This result is in line with previous studies [40, 49].

Regarding biomarkers of appetite, we found, after the breakfast in four intakes, a decreased concentration in acylated ghrelin and an increased concentration in GLP-1 just before the subsequent meal, compared to the one-intake breakfast. Our findings are in accordance with the study of Lemmens *et al.* which involved, like our study, normal-weight young adults [28]. In line with another study [27], we found no difference in AUC ghrelin response over the whole study period.

Considering the above, the current study provides evidence that increasing eating frequency may help to decrease the level of hunger and the desire to eat of normal-weight adults before a subsequent meal. Subjective and physiological differences before lunch affected intakes during the subsequent meal. In particular, fat intake was decreased. This confirms, as already proposed [50] that increasing eating frequency may be an adequate strategy for better control of appetite and weight management in normal-weight adults.

Nevertheless, one limit of this study is that we only recruited subjects with a habitual 3 or 4 meal pattern. It has been shown previously that habitual nibblers (5-7 eating occasions per day) were more able to regulate their energy intake compared to habitual gorgers (3-4 eating occasions per day [16, 17]. It would be necessary to assess the effect of an isocaloric increase of eating frequency in habitual nibblers. Moreover, we only proposed to our subjects to adjust their energy intake during an *ad libitum* lunch offered at a fixed hour (12:00). This choice was done because all subjects were

habitual lunch eaters, and because in France, for cultural and social reasons, lunchtime is still mainly between 12:00 and 1:00 pm [51]. However, it should be assessed how subjects (habitual gorgers or nibblers) would regulate their intakes with access to additional food apart from the *ad libitum* lunch, such as proposed in other protocols [52], and/or when this *ad libitum* lunch is not time fixed but given on spontaneous request [14, 15].

4.2. Effect on metabolism

Eating small and frequent meals compared to one large meal had a significant effect on glucose and insulin short-term kinetics in our study. A large breakfast induced sharp glucose and insulin excursions that were absent in the four smaller breakfast intakes condition. The AUC for glucose was found to be independent of the condition. In contrast, the insulin AUC decreased when the frequency of eating increased. In response to the same energy intake over the period, less insulin was produced in the high eating frequency condition compared to the low eating frequency condition. This finding is in accordance with most of the previous studies that assessed the short-term effects of different meal frequency on metabolism [53-56]. A recent study [57] found a lower 12-hour insulin AUC in a six-meal condition compared to the isocaloric three-meal condition. In contrast with our results, Solomon *et al.* [27] found no difference in insulin AUC comparing a two-meal vs. a twelve-meal ingestion pattern.

As insulin inhibits lipolysis and promotes lipogenesis [58], it has previously been pointed out that the decrease in plasma insulin associated with increased meal frequency may contribute to decreasing body fat deposition [7]. We found a significant decrease in plasma NEFA AUC when increasing eating frequency. Plasma NEFA concentration reflects lipolysis activity [58]. Thus, the decrease in total insulin production in F4 condition did not lead to a higher lipolysis that would have been reflected by higher NEFA concentrations. We assume that insulin kinetics would be more important than total insulin production. We observed that a ≈ 10 mIU/l increase of insulin concentration in F4 condition induced the same decrease in NEFA concentration than a ≈ 30 mIU/l increase of insulin concentration in F1. It has previously been shown that lipolysis was very sensitive to minor increase in plasma insulin concentration [59]. Furthermore, in our study, the maintenance of insulin concentration at an intermediate level, with no return to baseline, may have been sufficient to inhibit lipolysis during the whole study period. Considering the above, the loss of inter-prandial fast, characterized by the maintenance of insulin concentrations above baseline, and induced by the increase in eating frequency, would have a deleterious effect. The return to baseline concentration for insulin seems to play a key role in order to orientate the organism to a lipolysis pattern.

It has also previously been hypothesized that reduced insulin secretion would induce a switch from carbohydrate oxidation to lipid oxidation in people who eat more frequently [60]. We found a decrease in carbohydrate oxidation in the F4 condition that would confirm this hypothesis but the breakfast eaten in four vs. one intake did not induce any differences in lipid oxidation, 4h RQ, NPRQ, fat and carbohydrate balance. In line with our results, Smeets *et al.* [29] found a significant decrease in 24-hour carbohydrate oxidation in a three-meal condition compared to a two-meal condition. Contrary to the present study, they found an increased 24 h fat oxidation and a decrease in NPRQ in the three-meal condition. Smeets *et al.* studied the effect of eating frequency over a longer period, but in the lower range of meal frequency, thus their subjects did not experiment a loss of inter-prandial fast as we have done in the present study.

It has often been theorized that increased eating frequency may be able to positively influence DIT [61], but experimental studies designed to influence the effect of eating frequency on DIT have yielded contradictory results [60]. Some authors concluded that increasing meal frequency had no effect on DIT [9, 29, 61], a positive effect [30] or a deleterious effect [31]. Smeets *et al.* [29] measured the effect of meal frequency (2 vs.3 meals) on DIT over 24h and found no effect. Such 24h studies should be run in a higher range of meal frequency before concluding on a deleterious effect of increasing eating frequency on DIT. However, even if the decrease in DIT was minor in the present study and measurements were only performed during a 4h period, this should be taken into account considering a longer run perspective.

Overall, the effect of increasing eating frequency on metabolism is debatable: a higher number of intakes decreased global insulin response but we assume that the loss of the inter-prandial fast may be deleterious in the long run by inhibiting lipolysis activity and decreasing energy expenditure.

CONCLUSION

The present study supports the cause that the isocaloric increase of eating frequency may contribute to improving appetite control by reducing hunger, decreasing ghrelin concentration and increasing GLP-1 concentration in normal weight men. We demonstrated that increasing eating frequency could also help to reduce fat intake at the subsequent meal. The inhibition of the lipolysis activity reflected by NEFA profiles, and the reduction of diet induced thermogenesis we observed during the study period, require attention, as they could cause weight gain in a long run perspective. More integrated research should be done in order to better understand the effects of eating frequency on appetite and metabolism, particularly in obese subjects that potentially suffer from metabolic dysregulation or appetite deregulation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Foundation Nestlé France. We thank Agnes Giboreau, research director of the Institut Paul Bocuse Research Center for her support at each step of the study. We are also grateful for the contribution from the members of the Institut Paul Bocuse and of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes.

REFERENCES

- [1] Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* 2003;289:76-9.
- [2] Palmer MA, Capra S, Baines SK. Association between eating frequency, weight, and health. *Nutr Rev* 2009;67:379-90.
- [3] Mattson MP. The need for controlled studies of the effects of meal frequency on health. *Lancet* 2005;365:1978-80.
- [4] Fabry P, Hejl Z, Fodor J, Braun T, Zvolankova K. The Frequency of Meals. Its Relation to Overweight, Hypercholesterolaemia, and Decreased Glucose-Tolerance. *Lancet* 1964;2:614-5.
- [5] Kant AK, Schatzkin A, Graubard BI, Ballard-Barbash R. Frequency of eating occasions and weight change in the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19:468-74.
- [6] Titan SM, Bingham S, Welch A, Luben R, Oakes S, Day N, et al. Frequency of eating and concentrations of serum cholesterol in the Norfolk population of the European prospective investigation into cancer (EPIC-Norfolk): cross sectional study. *BMJ* 2001;323:1286-8.
- [7] Ma Y, Bertone ER, Stanek EJ, 3rd, Reed GW, Hebert JR, Cohen NL, et al. Association between eating patterns and obesity in a free-living US adult population. *Am J Epidemiol* 2003;158:85-92.
- [8] McCrory MA, Howarth NC, Roberts SB, Huang TT. Eating frequency and energy regulation in free-living adults consuming self-selected diets. *J Nutr* 2011;141:148-53.
- [9] Bellisle F, McDevitt R, Prentice AM. Meal frequency and energy balance. *Br J Nutr* 1997;77 Suppl 1:S57-70.
- [10] Huang TT, Roberts SB, Howarth NC, McCrory MA. Effect of screening out implausible energy intake reports on relationships between diet and BMI. *Obes Res* 2005;13:1205-17.
- [11] Farshchi HR, Taylor MA, Macdonald IA. Decreased thermic effect of food after an irregular compared with a regular meal pattern in healthy lean women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:653-60.
- [12] Farshchi HR, Taylor MA, Macdonald IA. Regular meal frequency creates more appropriate insulin sensitivity and lipid profiles compared with irregular meal frequency in healthy lean women. *Eur J Clin Nutr* 2004;58:1071-7.

- [13] Farshchi HR, Taylor MA, Macdonald IA. Beneficial metabolic effects of regular meal frequency on dietary thermogenesis, insulin sensitivity, and fasting lipid profiles in healthy obese women. *Am J Clin Nutr* 2005;81:16-24.
- [14] Marmonier C, Chapelot D, Fantino M, Louis-Sylvestre J. Snacks consumed in a nonhungry state have poor satiating efficiency: influence of snack composition on substrate utilization and hunger. *Am J Clin Nutr* 2002;76:518-28.
- [15] Marmonier C, Chapelot D, Louis-Sylvestre J. Metabolic and behavioral consequences of a snack consumed in a satiety state. *Am J Clin Nutr* 1999;70:854-66.
- [16] Westerterp-Plantenga MS, Kovacs EM, Melanson KJ. Habitual meal frequency and energy intake regulation in partially temporally isolated men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:102-10.
- [17] Westerterp-Plantenga MS, Wijckmans-Duysens NA, ten Hoor F. Food intake in the daily environment after energy-reduced lunch, related to habitual meal frequency. *Appetite* 1994;22:173-82.
- [18] Chapelot D, Marmonier C, Aubert R, Gausseres N, Louis-Sylvestre J. A role for glucose and insulin preprandial profiles to differentiate meals and snacks. *Physiol Behav* 2004;80:721-31.
- [19] Bellisle F. Hunger and satiety, control of food intake [Faim et satiété, contrôle de la prise alimentaire]. *EMC - Endocrinologie* 2005;2:179-97.
- [20] de Graaf C, Blom WA, Smeets PA, Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr* 2004;79:946-61.
- [21] Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992.
- [22] Naslund E, Barkeling B, King N, Gutniak M, Blundell JE, Holst JJ, et al. Energy intake and appetite are suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:304-11.
- [23] Speechly DP, Buffenstein R. Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite* 1999;33:285-97.
- [24] Jackson SJ, Leahy FE, Jebb SA, Prentice AM, Coward WA, Bluck LJ. Frequent feeding delays the gastric emptying of a subsequent meal. *Appetite* 2007;48:199-205.
- [25] Leahy FE, Jebb SA, Moore MS, Prentice AM. Effect of meal frequency and exercise on subsequent energy intake in lean men. *Int J Obes (Lond)* 2000;24(Suppl 1):S15.
- [26] Leidy HJ, Armstrong CL, Tang M, Mattes RD, Campbell WW. The influence of higher protein intake and greater eating frequency on appetite control in overweight and obese men. *Obesity* 2010;18:1725-32.
- [27] Solomon TP, Chambers ES, Jeukendrup AE, Toogood AA, Blannin AK. The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. *Br J Nutr* 2008;100:810-9.
- [28] Lemmens SG, Martens EA, Born JM, Martens MJ, Westerterp-Plantenga MS. Staggered Meal Consumption Facilitates Appetite Control without Affecting Postprandial Energy Intake. *J Nutr* 2011;141:482-8.

- [29] Smeets AJ, Westerterp-Plantenga MS. Acute effects on metabolism and appetite profile of one meal difference in the lower range of meal frequency. *Br J Nutr* 2008;99:1316-21.
- [30] LeBlanc J, Mercier I, Nadeau A. Components of postprandial thermogenesis in relation to meal frequency in humans. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71:879-83.
- [31] Tai MM, Castillo P, Pi-Sunyer FX. Meal size and frequency: effect on the thermic effect of food. *Am J Clin Nutr* 1991;54:783-7.
- [32] Alliot X, Saulais S, Disse E, Nazare JA, Cazal C, Laville M. Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety. *Food Qual Pref* 2011;doi:10.1016/j.foodqual.2011.05.005.
- [33] Meiselman HL. The impact of context and environment on consumer food choice. In: Frewer L, van Trijp H, editors. *Understanding consumers of food products*, Cambridge: Woodhead; 2007, p. 67-92.
- [34] Stroebele N, De Castro JM. Effect of ambience on food intake and food choice. *Nutrition* 2004;20:821-38.
- [35] Van Strien T, Frijters J, Bergers G, Defares P. The Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) for assessment of restrained, emotional, and external eating behavior. *Int J Eat Disord* 1986;5:295-315.
- [36] Lluch A, Kahn J, Stricker-Krongrad A, Ziegler O, Drouin P, Mejean L. Internal validation of a French version of the Dutch eating behaviour questionnaire. *Eur Psychiatry* 1996;11:198-203.
- [37] Stunkard AJ, Messick S. The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J Psychosom Res* 1985;29:71-83.
- [38] Lluch A. Identification des conduites alimentaires par approches nutritionnelles et psychométriques: implications thérapeutiques et préventives dans l'obésité humaine. Nancy: University Henri Poincaré, Nancy 1; 1995.
- [39] Giboreau A, Fleury H. A new research platform to contribute to the pleasure of eating and healthy food behaviors through academic and applied Food and Hospitality research. *Food Qual Pref* 2009;20:533-536.
- [40] Alliot X, Saulais L, Disse E, Roth H, Cazal C, Laville M. Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant. *Appetite* 2012;58:889-897.
- [41] Almiron-Roig E, Green H, Virgili R, Aeschlimann JM, Moser M, Erkner A. Validation of a new hand-held electronic appetite rating system against the pen and paper method. *Appetite* 2009;53:465-8.
- [42] Blond E, Maitrepierre C, Normand S, Sothier M, Roth H, Goudable J, et al. A new indirect calorimeter is accurate and reliable for measuring basal energy expenditure, thermic effect of food and substrate oxidation in obese and healthy subjects. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 2011;6:e7-e15.
- [43] Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 1988;37:287-301.

- [44] Arock M, Desnault H, Viars P, Guillosson JJ. Determination of total nitrogen in biological milieux by chemoluminescence: a comparison with the reference method. *Ann Biol Clin (Paris)* 1985;43:872-4.
- [45] Yeh KC, Kwan KC. A comparison of numerical integrating algorithms by trapezoidal, Lagrange, and spline approximation. *J Pharmacokinet Biopharm* 1978;6:79-98.
- [46] Nazare JA, Sauvinet V, Normand S, Guerin-Deremaux L, Gabert L, Desage M, et al. Impact of a resistant dextrin with a prolonged oxidation pattern on day-long ghrelin profile. *J Am Coll Nutr* 2011;30:63-72.
- [47] Halford JC, Harrold JA. Satiety-enhancing products for appetite control: science and regulation of functional foods for weight management. *Proc Nutr Soc* 2012;1-13.
- [48] Larson N, Story M. A review of environmental influences on food choices. *Ann Behav Med* 2009;38 Suppl 1:S56-73.
- [49] Flint A, Raben A, Blundell JE, Astrup A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:38-48.
- [50] La Bounty PM, Campbell BI, Wilson J, Galvan E, Berardi J, Kleiner SM, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: meal frequency. *J Int Soc Sports Nutr* 2011;8:4.
- [51] de Saint Pol T. Quand est-ce qu'on mange?: Le temps des repas en France (analyse quantitative). *Terrains & travaux* 2005;51-72.
- [52] Taylor MA, Garrow JS. Compared with nibbling, neither gorging nor a morning fast affect short-term energy balance in obese patients in a chamber calorimeter. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:519-28.
- [53] Jenkins DJ, Wolever TM, Ocana AM, Vuksan V, Cunnane SC, Jenkins M, et al. Metabolic effects of reducing rate of glucose ingestion by single bolus versus continuous sipping. *Diabetes* 1990;39:775-81.
- [54] Wolever TM. Metabolic effects of continuous feeding. *Metabolism* 1990;39:947-51.
- [55] Jones PJ, Leitch CA, Pederson RA. Meal-frequency effects on plasma hormone concentrations and cholesterol synthesis in humans. *Am J Clin Nutr* 1993;57:868-74.
- [56] Jenkins DJ, Wolever TM, Vuksan V, Brighenti F, Cunnane SC, Rao AV, et al. Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. *N Engl J Med* 1989;321:929-34.
- [57] Holmstrup ME, Owens CM, Fairchild TJ, Kanaley JA. Effect of meal frequency on glucose and insulin excursions over the course of a day. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 2010;5:e277-e280.
- [58] Dimitriadis G, Mitron P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;93 Suppl 1:S52-9.
- [59] Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM. Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes* 1989;38:1595-601.
- [60] Danone Vitapole. *Eating Frequency and Health (Nutrition and health collection)*. Montrouge: John Libbey Eurotext; 2004.
- [61] Kinabo JL, Durnin JV. Effect of meal frequency on the thermic effect of food in women. *Eur J Clin Nutr* 1990;44:389-95.

7.3 Discussion des résultats chez les sujets de poids normal

L'article précédent a mis en évidence les effets positifs à court terme de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur l'appétit, en considérant à la fois les approches subjectives, physiologiques et comportementales de l'appétit. Les résultats concernant les paramètres d'ordre métabolique, même s'ils ne permettent pas de tirer des conclusions définitives étant donné la courte durée de l'étude, laissent supposer, à long terme, un effet potentiellement négatif de prises alimentaires plus petites et plus fréquentes. En effet, la diminution, même modeste, de la DIT, et surtout les profils cinétiques aplatis des AGNE qui témoignent d'une inhibition prolongée de la lipolyse en cas de perte de jeûne inter-prandial (caractérisé par des glycémies et des insulïnémies qui ne reviennent pas à leur niveau basal), pourraient sur de longues périodes induire un stockage plus important des lipides et une prise de poids.

Dans notre étude, nous avons mis en évidence que le fractionnement alimentaire pendant la matinée avait induit une diminution de la consommation d'énergie au buffet *ad libitum*, non significative chez les 20 sujets ($P = 0,08$). Nous avons également mentionné qu'après exclusion de l'un des sujets, cette différence devenait significative ($P = 0,02$). Nous avons choisi d'exclure ce sujet de l'analyse pour ce qui est de la consommation au buffet, car celui-ci a présenté une faible adhésion aux instructions données pour ce repas. Plus précisément, alors qu'aucun événement n'était à relever lors de sa première exploration comportementale à l'IPB (condition F1, consommation de 1356 kcal), le sujet a semblé vouloir se lancer un défi lors de sa dernière venue. En effet, au moment de donner les instructions avant le repas de midi (la consigne étant de manger jusqu'à être confortablement rassasié, sans se priver et sans excès, pendant le temps souhaité), le sujet a semblé amusé et a marmonné les mots suivants : « vous allez voir ! ». Malgré le renouvellement des consignes, le sujet est resté dans le même état d'esprit au cours du repas (coup d'œil amusé à la caméra en se resservant plusieurs fois du gâteau au chocolat), et a consommé 1905 kcal, soit la quantité la plus élevée sur l'ensemble des repas des 20 sujets (conditions F1 et F4 réunies), pendant plus de 30 minutes soit le repas le plus long observé pendant l'étude. Ainsi, le sujet a consommé 550 kcal de plus en F4 qu'en F1, alors que la moyenne des 19 autres sujets était de -122 ± 219 kcal. Nous avons souhaité conserver le sujet dans l'ensemble de l'analyse, car aucun autre manque d'adhésion n'était à signaler au cours des explorations métaboliques. En revanche, il nous semble pertinent, pour les résultats de consommation au buffet, de retenir le résultat pour 19 sujets qui reflète plus l'effet du fractionnement, car il ne prend pas en compte cet événement, lié à un manque d'adhésion au protocole d'un sujet plutôt qu'à l'effet de notre paramètre d'intérêt. A noter que cet événement est

le seul de ce type à signaler ; aucun autre manque d'adhésion au protocole ou interaction avec les caméras pendant le buffet n'a été relevé chez les autres sujets.

Nous souhaitons également discuter du choix de la méthode d'analyse des résultats obtenus grâce aux EVA. Même si nous avons présenté graphiquement les résultats de faim et de satiété sur la période entre T0 et T240, notre critère principal d'évaluation était le niveau de faim (et de satiété) uniquement à T240, juste avant le repas *ad libitum* de midi et non les aires sous la courbe sur la matinée précédant ce repas de midi. Notre choix est dans la lignée des autres travaux étudiant l'effet de différentes fréquences d'ingestion sur la consommation au repas suivant, qui focalisent en général sur l'état de faim juste avant de commencer la prise *ad libitum* ((Speechly *et al.*, 1999b; 1999a; Mehra *et al.*, 2010; Lemmens *et al.*, 2011), alors que d'autres travaux ne proposent pas de prise *ad libitum* et analysent l'aire sous la courbe des réponses aux EVA pour la faim et la satiété sur une période déterminée (Jackson *et al.*, 2007; Smeets *et al.*, 2008a; Leidy *et al.*, 2010a; Munsters *et al.*, 2012). En fonction des périodes choisies pour le calcul des AUC, les résultats peuvent d'ailleurs varier (Jackson *et al.*, 2007), ce qui rend difficile l'interprétation des résultats. Ces différences méthodologiques posent la question de comment considérer les variables « faim » et « satiété ». Peut-on traiter la variable « faim » comme la variable « insuline » par exemple, et additionner les niveaux de faim sur une période donnée, comme on additionne les quantités d'insuline libérées ? Cette position est discutable, et il nous semble plus pertinent, dans le cas de notre protocole de nous intéresser uniquement au niveau de faim avant midi, qui est le moment habituel du repas pour nos sujets. Ce niveau de faim avant le repas nous semble être un meilleur indicateur des quantités qui vont être ingérées au cours du repas, plutôt que l'intégration de l'ensemble des mesures de faim sur la matinée que constituent les AUC. Un travail récent (Sadoul *et al.*, 2012) présenté au dernier European Congress on Obesity (Mai 2012, Lyon, France) a étudié la relation entre les scores d'appétit mesurés avant un repas *ad libitum* et les quantités consommées au cours de ce repas. Cette analyse, qui se base sur les résultats de 25 études, a mis en évidence une corrélation positive entre les scores de faim et les prises alimentaires qui ont suivi, ce qui va dans le sens de la méthode que nous avons utilisée. Dans le cas des études qui ne se focalisent pas sur un niveau de faim à un moment particulier (car aucune prise *ad libitum* n'est proposée), mais sur l'intégration de la faim sur une période donnée, une solution alternative au calcul global des ASC serait de déterminer pour chaque sujet le niveau de faim seuil à partir duquel une prise alimentaire est susceptible de se déclencher, puis de mesurer le temps passé au-dessus de ce seuil durant la période d'intérêt, voire de calculer les ASC en mesurant uniquement l'aire sous la courbe située au-dessus de cette valeur seuil. Cette méthodologie donnerait plus d'importance à l'augmentation (ou la diminution) des niveaux de faim situés dans un intervalle critique au sein duquel une prise alimentaire est susceptible d'être

déclenchée ; la modification des niveaux de faim en dehors de cet intervalle critique ne présentant à priori que peu d'intérêt. En effet, peut-on considérer comme un bénéfice la diminution du niveau de faim, si ces niveaux sont, de toute façon, insuffisants à déclencher une prise alimentaire et qu'aucune prise alimentaire socialement programmée (repas de midi par exemple) n'est prévue à ce moment-là ? Cette question, à notre connaissance, n'a pas précédemment été soulevée, et cette méthodologie d'analyse n'a pas été testée. Ceci pourrait faire l'objet de travaux méthodologiques futurs.

Dans cet article, étant donnée la quantité importante de résultats déjà présentés, nous avons fait le choix de n'inclure que les données sur la période entre T0 et T240, soit avant le repas de midi. Nous présentons ci-dessous les résultats obtenus pour la période entre T240 et T430, soit après le déjeuner standardisé proposé au CRNH. Les ASC sur la période entre T240 et T430 n'étaient pas différentes entre les conditions F1 et F4, pour la ghréline ($P = 0,18$), le GLP-1 ($P = 0,31$) la glycémie ($P = 0,98$), l'insuline ($P = 0,09$), et les TG ($P = 0,17$). L'ASC pour les AGNE était quant à elle diminuée en condition F4 ($P = 0,002$). Ce dernier résultat est dans la continuité de ceux obtenus pour les AGNE entre T0 et T240. L'inhibition de la lipolyse, reflétée par une diminution de la concentration plasmatique en AGNE, a donc été prolongée après le déjeuner standardisé (T240). Aucune différence n'a été observée entre les deux conditions pour les ASC incrémentales de l'oxydation lipidique ($P = 0,91$), alors que l'oxydation glucidique a été augmentée en condition F4 entre T240 et T430 ($P = 0,02$). Entre T0 et T240, une diminution de l'oxydation glucidique avait été observée ; sur l'ensemble de la période d'étude (de T0 à T430), aucune différence significative n'a été mise en évidence pour ce paramètre ($P = 0,25$). Enfin, la thermogénèse induite par le déjeuner standardisé, mesurée entre T240 et T430, n'était pas différente entre les conditions (F1 : $7,6 \pm 0,6$ vs. F4 : $7,5 \pm 0,5$ % du contenu énergétique du repas, $P = 0,92$). Globalement, aucun effet particulier du second repas (déjeuner standardisé au CRNH) n'a été mis en évidence. On retiendra la prolongation de l'effet du fractionnement sur la baisse de la concentration plasmatique en AGNE. Concernant les scores d'appétit (EVA), aucun effet de la condition n'a été mis en évidence après le repas de midi, que ce soit à l'IPB ou au CRNH. En revanche, nous avons mis en évidence un effet du lieu (IPB vs. CRNH) sur l'ensemble des scores d'appétit mesurés après T240 : les sujets présentaient une faim diminuée et une satiété augmentée après le buffet *ad libitum* consommé à l'IPB comparativement au repas standardisé consommé au CRNH. Ce résultat est logique étant donné que la consommation moyenne au buffet (conditions F1 et F4 confondues) était de 1311 ± 53 kcal, alors que le repas standardisé au CRNH contenait 1041 kcal.

Cette consommation au buffet de midi a représenté $59,2 \pm 2,8$ % en F1 et $55,2 \pm 3,1$ % en F4 des besoins journaliers recommandés des sujets (moyenne \pm SEM = 2289 ± 64 kcal), calculés à partir de leur métabolisme de repos (mesuré au CRNH) et de leur niveau d'activité physique (besoins

journaliers recommandés = métabolisme de repos \times 1,375 ; la valeur 1,375 correspondant à un niveau d'activité physique modéré (Roseblum *et al.*, 2006)). Comme ceci est couramment observé lorsqu'un buffet *ad libitum* est proposé à des sujets (Larson *et al.*, 1995), nous avons constaté une surconsommation au cours de ce repas. Le repas moyen consommé au buffet (1311 ± 53 kcal) était en effet nettement plus copieux ($P < 0,001$), par rapport au repas de midi moyen consommé lors des six jours d'enquête alimentaire (856 ± 39 kcal) (consommation déclarée, non mesurée). En revanche, il est important de préciser que ce même repas moyen consommé au buffet n'était pas différent ($P = 0,76$) du repas de midi le plus copieux (1283 ± 81 kcal) décrit par chacun des sujets au cours des 6 jours de l'enquête alimentaire. Ainsi, la consommation totale d'énergie au cours du buffet *ad libitum* a été bien supérieure à la consommation moyenne habituelle des sujets au cours de leur repas de midi ; en revanche, elle n'a pas été différente de celle observée au cours des repas de midi les plus copieux rapportés par les sujets. L'enquête alimentaire sur 6 jours nous a permis de confirmer les déclarations des sujets au moment de leur inclusion quant à leur nombre habituel de prises alimentaires. Tous les sujets étaient bien des consommateurs habituels de 3 ou 4 repas par jour : le nombre moyen de repas déclarés par jour, par l'ensemble des sujets était de $3,6 \pm 0,06$. Sur les 120 journées alimentaires rapportées par l'ensemble des 20 sujets, 86 % contenaient 3 ou 4 prises alimentaires, 12 % contenaient 5 prises et 2 % contenaient seulement 2 prises. Ces confirmations sont importantes, car il a été montré que le nombre habituel de prises alimentaires de sujets d'études peut jouer un rôle dans la façon dont ceux-ci réagissent à des modifications expérimentales de ce nombre de prises alimentaires. Des sujets habitués à consommer plus de 5 prises par jour semblent par exemple plus susceptibles de réguler avec justesse leur consommation d'énergie, en réponse à des interventions expérimentales, comparativement à des sujets habitués à consommer 2 à 4 prises alimentaires journalières (Westerterp-Plantenga *et al.*, 1994; 2002). Il est donc important que l'homogénéité des sujets sur ce paramètre déclaré en début d'étude, soit confirmée par l'enquête alimentaire.

Nous avons par ailleurs demandé aux sujets de rapporter leurs consommations alimentaires (*via* un questionnaire) après les journées d'explorations comportementales (consommation post buffet) et métaboliques (consommation post déjeuner standardisé). L'objectif était en particulier de déterminer si l'effet du fractionnement du petit déjeuner sur les consommations au repas *ad libitum* se prolongeait sur le reste de la journée. Les résultats post IPB montrent que les sujets, après avoir consommé moins d'énergie au buffet en condition F4 vs. F1, ont compensé cette différence en fin de journée. Ainsi, sur l'ensemble des journées d'explorations à l'IPB, les sujets ont consommé 2750 ± 84 kcal (petit déjeuner + buffet + prises libres en fin de journée) en condition F1 vs. 2750 ± 101 kcal en condition F4 ($P = 0,99$). L'effet bénéfique du fractionnement alimentaire n'a donc pas été prolongé sur les prises alimentaires qui ont suivi le buffet *ad libitum*. De la même façon, aucune différence n'a

été observée sur les consommations totales des journées d'explorations métaboliques (petit déjeuner + déjeuner standardisé + prises libres en fin de journée) ; (F1 : 2563 ± 63 kcal ; F4 : 2576 ± 86 kcal, $P = 0,87$). En moyenne, sur l'ensemble des journées d'exploration comportementale, les sujets ont consommé $121 \pm 3,8$ % de leurs apports quotidiens recommandés, ce qui est supérieur aux $97 \pm 2,9$ % rapportés en moyenne au cours des 6 jours d'enquête ($P < 0,01$) ; en revanche cette valeur n'est pas supérieure à la journée la plus copieuse ($115 \pm 4,4$ %) rapportée au cours de cette même enquête ($P = 0,15$). Sur l'ensemble des journées d'exploration métabolique, les sujets ont consommé $113 \pm 3,3$ % de leurs apports quotidiens recommandés. L'ensemble des prises alimentaires de fin de journée ont été rapportées (questionnaire déclaratif) et non mesurées en laboratoire ; il serait pertinent dans des protocoles futurs de maintenir les sujets en situation contrôlée jusqu'au soir, avec un choix d'aliments disponibles *ad libitum* (prises libres) afin de pouvoir mesurer exactement leurs consommations alimentaires sur l'ensemble de la journée d'exploration.

D'autres données n'ont pas été présentées dans l'article précédent, comme les consommations par catégorie d'aliments et les courbes cumulatives de consommation d'énergie lors du buffet *ad libitum*. Aucune différence n'a été mise en évidence pour l'ensemble de ces paramètres, entre F1 et F4. Nous avons donc focalisé notre attention dans l'article sur les données pour lesquelles des différences significatives ont été démontrées, comme l'analyse temporelle par quart de repas, qui nous a permis de mettre en avant des différences de consommation d'énergie totale et de lipides entre F1 et F4 dans la dernière partie du repas.

Enfin, l'analyse des prises de sang « contrôles » réalisées à l'IPB a permis de mettre en évidence les mêmes différences significatives qu'au CRNH entre les conditions F1 et F4 à T240. Ceci valide le fait de dupliquer le protocole dans deux lieux de recherche distincts : un centre d'exploration des paramètres physiologiques et un centre d'exploration des paramètres comportementaux.

L'ensemble des résultats de cette étude chez des sujets de poids normal nous a permis de mettre en évidence l'effet bénéfique de l'augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires, sur la sensation de faim, les concentrations plasmatiques en ghréline et GLP-1, ainsi que sur la prise alimentaire au repas suivant, même si l'effet sur l'énergie ingérée n'a pas perduré jusqu'à la fin de la journée. Le fractionnement alimentaire semble par ailleurs, via des profils insuliniques maintenus au-dessus de leur niveau basal, entraîner une inhibition prolongée de la lipolyse dont témoignent les concentrations plasmatiques diminuées en AGNE sur l'ensemble de la durée des explorations. Cette perte de la période de jeûne inter-prandial est également associée à une diminution de la dépense énergétique via la thermogénèse induite par l'alimentation. Ces

effets, même modestes, peuvent sur le long terme s'avérer négatifs pour l'équilibre de la balance énergétique, en orientant les voies métaboliques vers un stockage des graisses plutôt que vers leur utilisation. Les résultats obtenus chez des sujets de poids normal rendent pertinent une étude auprès de sujets obèses, susceptibles de présenter une dérégulation métabolique et/ou du comportement alimentaire via le contrôle de l'appétit.

Chapitre 8 : Effets du fractionnement alimentaire chez des sujets obèses

8.1 Introduction

Le chapitre précédent a mis en avant les effets à court terme du fractionnement alimentaire chez des sujets de poids normal. Les personnes obèses étant particulièrement la cible des messages proposant des stratégies de perte de poids basées sur la modification de la fréquence des prises alimentaires, l'étude des effets du fractionnement alimentaire chez des sujets obèses est pertinente d'un point de vue de la santé publique. Par ailleurs, étant données les caractéristiques particulières des personnes obèses, tant sur le plan du métabolisme, que celui du comportement alimentaire, nous avons fait l'hypothèse que le fractionnement pouvait avoir des effets différents chez des sujets obèses, comparativement à des sujets de poids normal. Dans ce chapitre, nous allons présenter la seconde phase expérimentale du projet SAFRAN qui consistait, par l'utilisation de la même méthodologie que précédemment, en l'étude des effets du fractionnement alimentaire sur l'appétit, la balance énergétique et le métabolisme, chez des sujets obèses.

8.2 ARTICLE 4 : Eating smaller and frequent meals do not reduce energy intake in obese men

Article en préparation

TITLE: Eating smaller and frequent meals do not reduce energy intake in obese men.

AUTHORS: Xavier Alliot^{a,b,c,*}, Kevin Seyssel^{b,c}, Laure Saulais^{a,c}, Hubert Roth^{b,d}, Anne Charrié^{b,c,e},
Jocelyne Draï^e, Joelle Goudable^{c,e}, Emilie Blond^{b,c,e}, Emmanuel Disse^{b,c}, Martine Laville^{b,c}

^a Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Château du Vivier, 69130 Ecully, France

^b Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, Centre Hospitalier Lyon Sud, 69310 Pierre
Bénite, France

^c Centre Européen de Nutrition pour la Santé, Lyon, France

^d Pôle Recherche, CHU Grenoble - Inserm U1055-Bioénergétique, Université J. Fourier, Grenoble,
France

^e Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud-Charles Mérieux-F69495 Pierre-Bénite
CarMeN-INSERM U1060-Université Claude Bernard Lyon 1

* Corresponding author. Tel.: +33 472 18 54 66; fax: +33 472 18 54 69

E-mail address: xavier.alliot@institutpaulbocuse.com (X. Alliot).

ABSTRACT

The effects of increasing eating frequency on human health are unclear, particularly in obese subjects. This study assessed the short-term consequences on appetite and metabolism. Seventeen obese men participated in: (i) two sessions consisting of a breakfast consumed in one intake at T0 (F1), or in four isocaloric intakes at T0, T60, T120, T180 min (F4), and followed by an ecological *ad libitum* buffet meal (T240) designed in an experimental restaurant. Subjects rated their appetite throughout the experiment. (ii) two sessions consisting of the same two breakfasts F1 and F4 in a Clinical Investigation Center, followed by a standardized meal. Blood sampling was performed to study the kinetics of ghrelin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), glucose, insulin, triglyceride and non-esterified fatty acids (NEFA). Substrate oxidation and energy expenditure were measured by indirect calorimetry.

After F4, at T240 min, GLP-1 concentration was higher ($P = 0.006$) while ghrelin concentration ($P = 0.03$) and hunger ratings ($P < 0.001$) were lower. In F4, subjects consumed at the buffet, less quantity of food in grams ($P = 0.04$) and significantly less energy from low energy dense foods ($P = 0.01$), but total energy intakes were not different between conditions ($P = 0.29$). Mixed models highlighted differences between F1 and F4 for the kinetics of glucose, insulin and NEFA ($P < 0.01$). The area under the curve was lower for insulin ($P = 0.02$) and NEFA ($P = 0.03$) in F4. In the T0 to T240 period, diet induced thermogenesis was reduced in F4 ($P = 0.03$). Even if subjective and physiological data suggest a beneficial short-term effect of increasing eating frequency on appetite in obese men, no beneficial effect was demonstrated considering intake measurements. The reduction of diet induced thermogenesis and the inhibition of lipolysis, reflected by NEFA profiles could be deleterious on energy balance in the long run.

KEYWORDS

Eating frequency

Appetite control

Obesity

Ghrelin

Food intake

Metabolism

1. INTRODUCTION

Obesity is a major cause of morbidity and mortality in Western societies. Obesity is explained by an energy imbalance that occurs when energy intake exceeds energy expenditure. Investigating dietary patterns that may minimize sensations of hunger and reduce energy intake is relevant in the context of improved control over body energy reserves [1]. Increasing eating frequency has been hypothesized to decrease energy intake, and thereby body weight, through its effect on hunger reduction and satiety improvement.

The relationship between eating frequency and weight has been assessed through epidemiological studies. Cross-sectional surveys reported an inverse relationship between eating frequency and weight [2-5]. However, this relationship has not been found in other studies [6-8]. Some even reported a positive relationship between these variables when taking into account dietary underreporting [9, 10]. Considering these discrepancies between studies, the epidemiological evidence about the relationship between eating frequency and weight appears to be very weak.

Experimental studies may help to better understand the effect of increasing eating frequency on body weight, particularly via the assessment of appetite. Some authors demonstrated a significant decrease in hunger sensations and/or in energy intake while consuming smaller more frequent meals [11-13]; others did not confirm these results [14] or even led to opposite conclusions [15]. It is pertinent to include in experimental eating frequency studies, measurements of potential biomarkers of appetite [16], such as ghrelin which appears to act as a meal initiator [17] or glucagon-like peptide-1 (GLP-1) which is likely to be a causal factor in the process of satiation [18]. For these parameters again, literature is not well documented and is contradictory [15, 19-21]. It is also highly relevant to assess metabolic consequences of increasing eating frequency, as effects on diet induced thermogenesis (DIT) and/or substrate oxidation have already been reported [13, 20, 22-24].

Recently, our research group demonstrated the interest of an integrated approach for assessing the effects of parameters of interest on satiety [25], combining an in-depth behavioral approach to physiological measurements in two specific and adequate places. We particularly showed that assessing behavioral measurements in an experimental but ecological setting was a relevant and a valid way of measuring appetite [26]. Using this methodology, we demonstrated that increasing eating frequency could contribute to better control appetite in lean men, even if the effect on metabolism could be potentially deleterious in the long run [24]. As highlighted in various papers [20, 24, 27], an increase in eating frequency may have different effects in normal weight and obese subjects, considering metabolic [20] and behavioral aspects [27]. Moreover, obese individuals are particularly targeted by dietary guidelines to eat smaller and more frequent meals in order to better control appetite and lose weight, despite the lack of clear scientific evidence to justify it [15, 28].

Considering the above, we designed this study in order to clarify the effect of increasing eating frequency in obese subjects, on appetite and energy balance. The objective of the present study was to assess, in obese men, the short-term consequences of an isocaloric increase of eating frequency:

- on appetite, through the assessment of:
 - subjective (Visual Analog Scales) and physiological (ghrelin, GLP-1) data before the subsequent meal,
 - food intake during the subsequent meal designed in a normal-eating context,
- on metabolism, through the assessment of metabolic kinetics, substrate oxidation and energy expenditure.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Subjects

Seventeen obese men with a mean age of 28.6 ± 1.5 years (mean \pm SEM) and a mean body mass index (BMI) of 31.9 ± 0.4 kg/m² were recruited through advertisements. Subjects were eligible for the study if they were considered healthy at the medical examination. They should have normal fasting plasma glucose (< 7 mmol/l), cholesterol (≤ 6.8 mmol/l) and triglycerides (≤ 2.5 mmol/l) concentrations. All subjects reported moderate levels of physical activity (less than 4 hours of sport per week), were non-smokers and were used to eating at breakfast and lunchtime. None of them were night workers. None of the subjects had food allergies. To be eligible, subjects had to declare liking at least 75 % of the test food items given during the study and to not dislike any of them. Before being included, all subjects were asked to fill in a validated French translation of the Dutch Eating Behavior Questionnaire [29, 30] and of the Three Eating Factor Questionnaire [31, 32] and should present normal scores.

All subjects gave their written consent to participate in the study. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of Lyon Sud Est II and ANSM (French agency for Drug and Health Products Safety) and complied with both the French Huriet-Serusclat law and the Second Declaration of Helsinki. The study was registered at Clinical Trials (registration number: NCT01573988)

2.2. Study design

The study was conducted following a randomized crossover design from September 2011 to May 2012. Explorations were conducted at the Rhône-Alpes Research Center for Human Nutrition (CRNH) and at the Institut Paul Bocuse Research Center (IPB).

After being included, subjects had a first visit to the experimental restaurant of IPB [33] for lunch. The aim of this first visit was to familiarize subjects with the environment and foods used during the

study. During this visit, subjects were invited to the experimental restaurant at 12:00 and were asked to taste all of the food items offered, during an individual buffet-type meal. A choice of classical hot and cold French food items with varied macronutrient compositions was offered. For analysis, these food items have been classified in two categories: high energy density (HED) and low energy density (LED). HED food items were “pâté de campagne”, fried potatoes, sausages, cheese (“Comté”), chocolate cake and sugar. LED food items were grated carrots, rice, French beans, chicken breast, cottage cheese, stewed fruit and white bread. The energy content and macronutrient composition of these food items are described in a previous validation study [26]. Subjects were instructed to eat *ad libitum*. Their liking for each food item was also recorded in order to verify the acceptability of all food items. Subjects had to rate their liking of each food item on a 100 mm electronic visual analogue scale (VAS). The mean rating of food items varied from 4.4 ± 0.4 (for grated carrots), to 7.5 ± 0.4 (for cheese “Comté”).

After this first visit, subjects were invited to four other experimental sessions, each separated by at least 7 days: two of these sessions were conducted in IPB for behavioral explorations, while the two others took place in CRNH for metabolic explorations. The interest of duplicating the same protocol in two sites, one specialized in clinical nutrition (CRNH), the other equipped for studying with precision eating behaviors during a meal (IPB), was described in a previous paper [25].

The order of these four sessions was randomized across the participants to prevent any order effect. Subjects were requested to avoid vigorous activities and to abstain from alcohol consumption the day before each session. Subjects were also asked to select a dinner they consume regularly and to eat this same meal the evening before each session.

For the four sessions, subjects were invited to report at 7:00 am. Either in CRNH or in IPB, they were instructed to be in a fasted state since the evening before (9:00 pm). They were given each time the same 674.8 kcal breakfast, either in one - 20 minutes long - intake at T0 (8:00 am) (F1 condition) or in four - 10 minutes long - 168.7 kcal identical intakes provided every hour at T0, T60, T120 and T180 minutes (F4 condition). The breakfast in F1 condition was composed by white bread (40 g), croissant (80 g), strawberry jam (30 g) unsalted butter (10 g), orange juice (120 g), white sugar (10 g), black coffee or tea (400 ml). For each of the four intakes of the F4 condition, these quantities were divided by 4. For these breakfasts, 56.6 % of the energy was provided by carbohydrates, 37.2 % by lipids and 6.2 % by proteins. Subjects were asked to eat all the food given for breakfast. Thus, total energy intake for breakfast was the same in the two conditions F1 and F4. Each of the subjects received the breakfast in one intake (F1) on two occasions: once in IPB for behavioral exploration, once in CRNH for metabolic exploration. They received the breakfast in four intakes (F4) on two occasions: once in IPB for behavioral exploration, once in CRNH for metabolic exploration.

2.3. Behavioral explorations (IPB)

Subjects came twice to IPB in groups of five subjects for behavioral explorations. From 7:00 am to the end of the experiment, they were free to practice the sedentary activity of their choice such as reading books or magazines, watching movies, listening to music or working on a computer.

Electronic visual analogue scales (VAS) were used to assess feelings of hunger and satiety. VAS were completed at T0, T20, T80, T140, T200, T240, T270, T330 and T390 minutes. Each electronic VAS consisted of a 70 mm line [34], presented on Dell Netbook (Latitude 2100 model, Dell Inc., Round Rock, TX, USA) anchored at the beginning and end by opposing statements such as: “not hungry at all” and “extremely hungry”, in response to the question: “how hungry do you feel?”. Subjects were requested to click on the line that best matched how they were feeling at the time. FIZZ Sensory Software 2.40 H by Biosystèmes (Couternon, France) was used for automatic data capture and transforming results in a 0 to 10 score.

For lunch at T240 min (12:00), subjects were offered exactly the same eating situation each time, identical to the first familiarization visit and for which a detailed description is available elsewhere [25]. A “brasserie” ambiance was created in the experimental restaurant, using brasserie furniture and background music, to construct a pleasant environment for eating. Five individual spaces for service (buffet) and consumption were created, using decorative folding screens, where subjects were invited to eat without communicating with others. Subjects ate, seated in front of a small table. Each buffet meal was individual and located close to each subject’s table. Each food item previously tasted in the first visit was offered and available in larger quantities than the expected intake for an average subject. All food items were cut into small pieces, to avoid suggesting an appropriate amount to eat. Subjects were invited to eat as long as they wanted, until comfortably full. They could get up and help themselves to any food item in any quantity freely during the meal. Chafing dishes, commonly used for French buffets, were used in order to keep hot food items at constant temperature throughout the meal.

Weighing of food before and after the meal enabled us to collect data such as: mean energy density of the meal, energy, carbohydrate, lipid and protein intake for the whole meal, energy intake from HED and LED food. Total energy intake has been expressed in kcal and in % of the individual daily energy requirement (DER) of the subjects, based upon their basal metabolic rate measured in the CRNH (mean of F1 and F4 condition) multiplied by a 1.375 coefficient corresponding to a moderate physical activity level.

2.4. Metabolic explorations (CRNH)

Each subject came twice to CRNH for metabolic explorations. When the subjects arrived, an i.v. catheter was inserted into the antecubital vein for blood sampling for measurement of plasma ghrelin, glucose-like peptide-1 (GLP-1), glucose, insulin, non-esterified fatty acids (NEFA) and triglycerides (TG) concentrations. Subjects stayed in a bed during all the experiment as continuous indirect calorimetry measurements were performed but they were not allowed to sleep. In the interval between consecutive measurements, subjects were allowed to read, watch movies, listen to music or work on a computer.

For lunch at T240 min (12:00), subjects were offered a standardized lunch (1041 kcal; carbohydrate: 53.1 %, lipid: 30.6 %, protein: 16.3 %) composed by white bread (50 g), chopped steak (90 g), pasta (300 g), unsalted butter (10 g), plain yogurt (125 g), stewed fruit (100 g) and sugar (10 g). They were instructed to eat entirely all of these foods.

Venous blood sampling were collected into serum or EDTA tubes 24 times (T0, 10, 20, 40, 60, 70, 80, 100, 120, 130, 140, 160, 180, 190, 200, 220, 240, 250, 260, 270, 290, 310, 350, 430 min). NEFA concentrations were only measured 17 times at (T0, 10, 20, 40, 60, 100, 140, 180, 220, 240, 250, 260, 270, 290, 310, 350, 430 min). For TG, NEFA, glucose and insulin analyses, blood samples were collected into serum tubes. For acylated ghrelin, blood samples were collected in EDTA-plasma tubes; para-hydroxymercuribenzoic acid in HCl (1mM in the final sample volume) was immediately added to plasma to prevent degradation of acylated ghrelin by protease. For GLP-1 collection, EDTA-plasma tubes with dipeptidyl peptidase IV inhibitor were used. After collection, all blood samples were centrifuged for 10 min at 4°C at 4500 rpm. Plasma samples were immediately stored at -23°C until analysis.

Plasma glucose concentrations were measured using an enzymatic method (Hexokinase) and TG concentrations were determined using spectrophotometric method, both on a AU2700 Beckman Coulter® (O'Callaghan's Mills Ireland), NEFA concentrations were determined via an enzymatic method (Wako® Chemicals GmbH Neuss, Deutschland). We measured acylated plasma ghrelin concentrations by enzyme immunoassay kits (ELISA) using a Bertin Pharma SPI-Bio kit (Montigny-le-Bretonneux, France). Insulin concentrations were determined using an immunoreactive method with Bi-Ins-IRMA kit (Cisbio Bioassays, IBA, Gif/Yvette, France).

Total GLP-1 concentrations were determined with *EDI*TM total GLP-1 ELISA kit (Epitope Diagnostics Inc., San Diego, CA92126 USA) distributed by Labodia S.A. (Paris, France).

Indirect calorimetry measurements were performed during the basal period (T-30 to T0), and from T0 to T430 min. We used the DELTATRAC IITM calorimeter (Datex instrumentary corporation, Helsinki, Finland) and the QUARK RMR (Cosmed, Rome, Italy). Data obtained from these two calorimeters have shown equivalency [35]. During all the experimentation, oxygen consumption (VO₂) and carbon

dioxide production (VCO₂) were recorded every minute for periods of 30 minutes over 7h40. Substrate oxidation (proteins, lipids and carbohydrates), resting metabolic rate (RMR) and energy expenditure (EE) were calculated with Ferrannini's equation [36]. All the results were obtained from the average of each 30 min period. Diet induced thermogenesis (DIT), *i.e.* the increment of EE above basal resting metabolic rate (RMR) was calculated with the formula:

$$\% \text{ DIT} = [\sum (\text{PPMR} - \text{RMR}) \times \text{Time}] / \text{ECM}.$$

with PPMR: postprandial metabolic rate in kcal/min, RMR: resting metabolic rate in kcal/min, Time: time of measure (min), ECM: energy content of meal (kcal).

In order to calculate protein oxidation, urine samples were collected three times during the day (T0, T240 and T430), in order to measure urinary nitrogen content using a chemiluminescence method (Antek 7000, Alytek, Juvisy, France) [37].

2.5. Statistical analysis

The normality of each parameter was checked using Shapiro-Wilk test. To test for the differences between conditions F1 and F4, we used Student's paired *t*-test when the distribution of the variable was normal, and Wilcoxon paired test when the distribution of the variable was not normal. We tested the difference between the two conditions F1 and F4: for total energy and macronutrient intake during the *ad libitum* meal, for all VAS parameters at T0 and at T240, for biological variables at T0 and at T240. We also tested, for biological variables, the difference between baseline and T240 for the same condition.

We used mixed models to compare kinetics of appetite scores for the 0-390 period. The dependent variable was the appetite score (hunger and satiety). The condition (F1 or F4), the time and the interaction time × condition were considered as fixed effects. Subjects were considered as a random effect.

Similarly, mixed models were used to compare kinetics of biological variables for the 0-430 min period. The dependent variable was the biological variable. The condition (F1 or F4), the time and the interaction time × condition were considered as fixed effects. Subjects were considered as a random effect.

Total 430 min area under the curve (AUC) was calculated from the fasting (baseline) time point and the 23 postprandial time points for each biological variable (16 for NEFA). We further divided the testing day into two segments: from 0 to 240 min, and from 240 to 430 min and calculated individual AUC for each variable for these periods. For energy expenditure, carbohydrate and lipid oxidation, incremental area under the curve (IAUC) were calculated. For all AUC and IAUC measurements, the trapezoidal rule was used. [38].

All tests were two-sided and differences were considered significant at $P < 0.05$. Values are expressed as Mean \pm Standard Error of Mean (SEM). JMP® 9 statistical software (SAS Institute Inc., NC, USA) was used for all statistical analyses.

3. RESULTS

3.1. Appetite

3.1.1. Subjective appetite

VAS scores are shown in Figure 1. No baseline difference (T0) was found between both conditions (F1 and F4) for all VAS scores. Over the whole 0-390 period, for all VAS parameters, there was an effect of time ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P < 0.02$).

Just before lunch (T240), F4 hunger scores were significantly lower compared to the F1 scores ($P = 0.0004$; Figure 1A), and F4 satiety scores were significantly higher compared to the F1 scores ($P = 0.02$; Figure 1B).

No difference was found between F1 hunger score at T240 and T0. Also, F1 satiety score at T240 and T0 were not different. However, for the F4 condition, hunger score at T240 was significantly lower compared to hunger score at T0 ($P = 0.005$). F4 satiety score at T240 was significantly higher compared to F4 satiety score at T0 ($P = 0.009$).

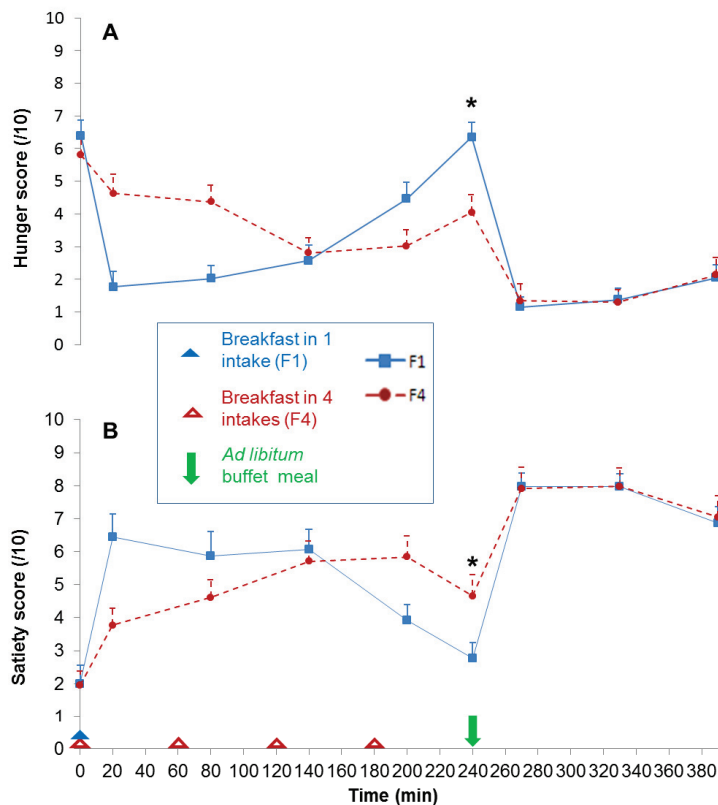


Fig. 1: Hunger and satiety scores between T0 and T390. Each value is a 0 to 10 score for hunger (A) and satiety (B). * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

3.1.2. Food intake during the *ad libitum* buffet meal

Food intake during the *ad libitum* buffet meal is presented in Table 1. No difference in total energy, carbohydrate, lipid and protein intakes and for the mean energy density of food eaten was found between F4 and F1. Nevertheless, subjects consumed a significantly decreased quantity of food in grams, in the F4 compared to the F1 condition ($P = 0.04$). Also, in the F4 condition subjects consumed significantly less energy from LED food items compared to the F1 condition ($P = 0.01$). No difference was found for energy intake from HED food items.

Table 1: Food intake during the *ad libitum* buffet lunch. Total energy intake (in kcal and expressed as % of individual daily energy requirement (DER)), amount of food eaten, energy density and macronutrient intakes (in kcal and % of energy intake), energy intake for LED and HED food items, for conditions F1 and F4 (mean \pm SEM); P values are results for the test comparing means in F1 condition vs. F4.

	F1 Condition	F4 Condition	P
Total energy intake (kcal)	1529 \pm 84	1460 \pm 94	0.30
Total energy intake (% of DER)	50.5 \pm 2.8	47.8 \pm 2.8	0.22
Amount of food eaten (g)	865 \pm 61	799 \pm 67	0.04*
Energy density (kcal /g)	1.82 \pm 0.08	1.88 \pm 0.07	0.11
Carbohydrate intake (kcal)	574 \pm 32	544 \pm 36	0.15
Carbohydrate intake (%)	37.5 \pm 1.2	37.3 \pm 1.0	0.58
Lipid intake (kcal)	670 \pm 47	656 \pm 44	0.75
Lipid intake (%)	43.8 \pm 1.0	44.9 \pm 0.7	0.12
Protein intake (kcal)	285 \pm 16	260 \pm 18	0.15
Protein intake (%)	18.6 \pm 0.6	17.8 \pm 0.7	0.07
Energy intake from LED food items (kcal)	624 \pm 40	547 \pm 41	0.01*
Energy intake from HED food items (kcal)	905 \pm 67	913 \pm 68	0.80

* $P < 0.05$

3.1.3. Ghrelin

Plasma acylated ghrelin concentrations are shown in Figure 2A. Baseline concentrations did not differ between both conditions. There was a time \times condition interaction ($P < 0.0001$).

At T240, acylated ghrelin concentration was significantly lower in the F4 condition compared to the F1 condition (16.5 \pm 3.4 pg/mL vs. 31.5 \pm 6.5 pg/mL respectively; $P = 0.03$). Also, for the F1 condition the acylated ghrelin concentration at T240 was at a level not significantly different with one of T0.

But for the F4 condition, at T240 the acylated ghrelin concentration was significantly lower, compared to baseline ($P = 0.008$).

Ten minutes after all meals for the two conditions, acylated ghrelin concentrations peaked. For the F1 condition, there were two peaks at T10 and T250 (40.4 ± 6.3 pg/mL and 43.5 ± 10.8 pg/mL respectively). For the F4 condition, there were five peaks at T10, T70, T130, T190 and T250 (39.8 ± 4.4 pg/mL, 22.2 ± 3.5 pg/mL, 26.4 ± 4.4 pg/mL, 19.3 ± 3.2 pg/mL and 31.5 ± 6.8 pg/mL respectively). For both conditions, 20 minutes after the beginning of each meal, acylated ghrelin concentrations decreased.

No difference was found for all acylated ghrelin AUCs between both conditions.

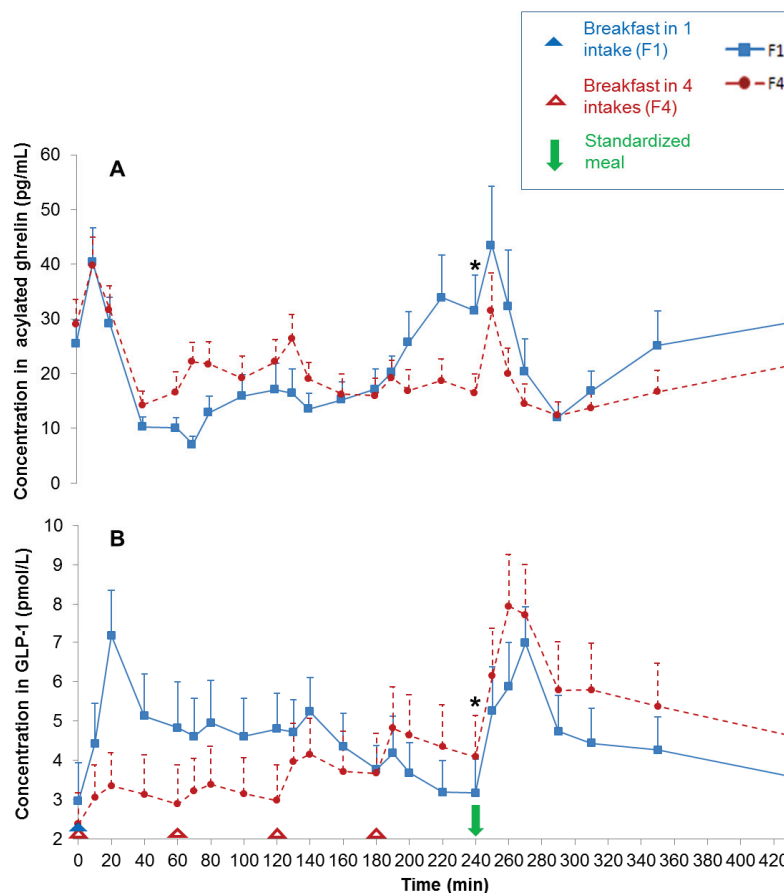


Fig. 2: Kinetics for acylated ghrelin (A) and GLP-1 (B) plasma concentrations between T0 and T430. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

3.1.4. GLP-1

GLP-1 plasma concentrations are shown in Figure 2B. Baseline concentrations did not differ between both conditions. There was an effect of condition ($P = 0.01$), an effect of time ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P < 0.0001$).

At T240, plasma GLP-1 concentration was significantly higher in the F4 compared to the F1 condition (4.1 ± 1.1 vs. 3.2 ± 0.8 pmol/L respectively; $P = 0.006$). Also, for the F1 condition the GLP-1 concentration at T240 was at a level not significantly different with one of T0. But for the F4

condition, at T240 the GLP-1 concentration was significantly higher compared to baseline (4.1 ± 1.1 vs. 2.4 ± 0.8 pmol/L respectively; $P = 0.001$).

GLP-1 AUC for the 0-430 period did not differ between both conditions. Nevertheless, GLP-1 AUC for the 0-240 period was statistically lower in the F4 condition compared to the F1 condition (867 ± 202 vs. 1089 ± 187 pmol.L-1.min-1 respectively, $P = 0.002$). GLP-1 AUC for the 240-430 period was significantly higher in the F4 compared to the F1 condition (1075 ± 190 vs. 858 ± 143 pmol.L-1.min-1 respectively, $P = 0.002$)

3.2. Metabolism

3.2.1. Glucose

Baseline glucose concentrations did not differ between conditions (Figure 3A). Eating-relating oscillations in plasma glucose concentrations were observed following each eating occasion. There was a significant effect of time ($P = 0.0008$) and a time \times condition interaction ($P = 0.008$). In the F4 condition, just before the lunch at T240, plasma glucose concentration was significantly higher compared to the F1 condition (5.6 ± 0.2 vs. 5.2 ± 0.1 mmol/L respectively; $P < 0.03$). There was no difference between baseline and T240 glucose concentrations for both conditions.

No difference was found for all glucose AUCs between both conditions.

3.2.2. Insulin

Plasma insulin concentrations are shown in Figure 3B. No baseline difference was found between both conditions. There was a significant effect of time ($P = 0.0006$), an effect of the condition ($P = 0.005$) and an interaction time \times condition ($P < 0.0001$).

Eating-relating oscillations in plasma insulin concentrations were observed following each eating occasion. Similarly to plasma glucose, in the F4 condition, plasma insulin concentration, at T240, was significantly higher compared to the F1 condition (21.1 ± 2.0 vs. 11.2 ± 2.4 mIU/L respectively; $P = 0.00001$).

Insulin AUC for the 0-430 period was statistically lower in the F4 condition compared to the F1 condition (12759 ± 1021 vs. 14085 ± 1179 mIU.L-1.min-1 respectively, $P = 0.02$). For the 0-240 period, insulin AUC for the F4 condition was significantly lower (6141 ± 525 vs. 7589 ± 659 mIU.L-1.min-1 respectively, $P = 0.00008$) compared to the F1 condition. Insulin AUC for the 240-430 period did not differ between both conditions.

3.2.3. Non-esterified fatty acids

Plasma NEFA concentrations are shown in Figure 3C. Baseline NEFA concentrations did not differ between both conditions. There was a significant effect of time ($P < 0.0001$), an effect of condition ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P < 0.0001$).

Eating-related decrease of plasma NEFA was observed in the F1 and the F4 conditions. But NEFA concentrations in the F4 condition stayed at a low level for the all morning. Indeed, F4 plasma NEFA concentration at T240 was significantly lower compared to the baseline (151.4 ± 8.8 vs. 459.8 ± 24.7 $\mu\text{mol/L}$; $P = 0.0001$). Also, F4 plasma NEFA concentration at T240 was significantly lower compared to F1 NEFA plasma concentration at T240 (151.4 ± 8.8 vs. 306.5 ± 30.5 $\mu\text{mol/L}$; $P = 0.0002$).

Total NEFA AUC in the F4 condition was statistically lower compared to the F1 condition (88048 ± 3015 $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$ vs. 97264 ± 4112 $\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$, $P = 0.03$). No difference in NEFA AUC was observed over the 0-240 period while it was lower over the 240-430 period ($P = 0.001$) in the F4 compared to the F1 condition.

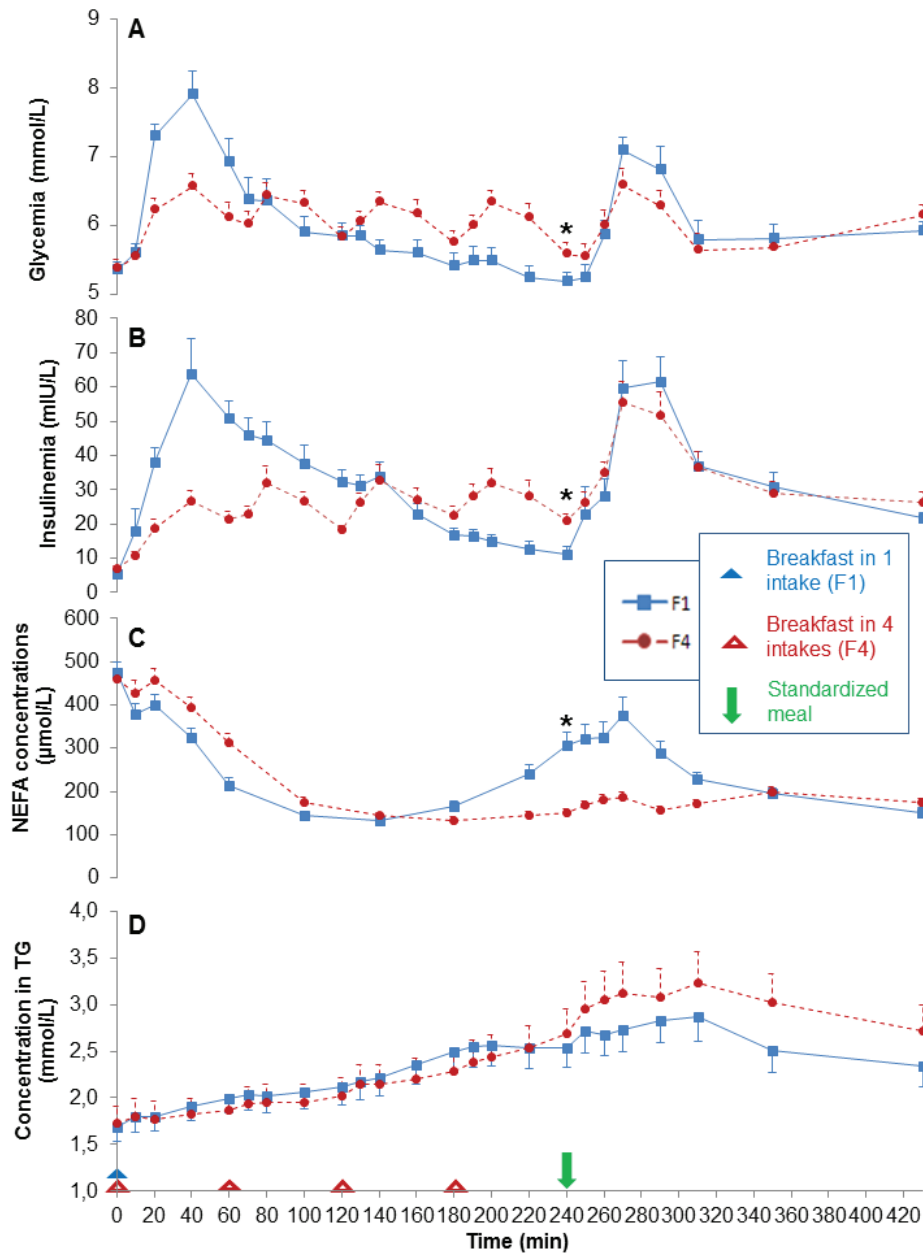


Fig. 3: Kinetics for glucose (A), insulin (B), NEFA (C) and TG (D) plasma concentrations between T0 and T430. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

3.2.4. Triglycerides

Baseline TG concentrations were not different between conditions (F1: 1.69 ± 0.15 mmol/l, F4: 1.73 ± 0.18 mmol/l, $P = 0.73$). There was an effect of time ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P < 0.0001$). No difference was observed for concentrations at T240 between F1 (2.54 ± 0.22 mmol/l) and F4 (2.69 ± 0.27 mmol/l) and for AUCs, even if we showed a trend for TG AUC to be higher in the F4 condition over the 240-430 period ($P = 0.055$) (cf. Figure 3D).

3.2.5. Energy expenditure

Baseline energy expenditures did not differ between both conditions (Figure 4A). There was a significant effect of condition ($P = 0.04$), an effect of time ($P < 0.0001$), and a time \times condition interaction ($P = 0.003$)

F1 condition energy expenditure reached a peak value at T60 (2214 ± 86 (baseline) to 2513 ± 90 kcal/24h (T60)) following consumption of breakfast and then decreased until lunchtime. F4 condition energy expenditure increased slowly to reach a peak value just before lunch (2194 ± 64 (baseline) to 2383 ± 71 kcal/24h (T240)). Nevertheless at T240, energy expenditure did not significantly differ between both conditions.

IAUC energy expenditure of condition F1 for the 0-240 period was significantly higher compared to F4 condition ($P = 0.002$). No significant difference between both conditions was found for the total energy expenditure IAUC and for the 240-430 period IAUC.

3.2.6. Carbohydrate oxidation

Baseline carbohydrate oxidations did not differ between both conditions (Figure 4B). There was a significant effect of time ($P < 0.0001$) and a time \times condition interaction ($P = 0.0002$)

Similarly to the energy expenditure, carbohydrate oxidations followed the same kinetics for the two conditions respectively. For the F1 condition, carbohydrate oxidation reached a peak value at T60 (1.20 ± 0.17 (baseline) to 2.41 ± 0.18 mg.kg⁻¹.min⁻¹(T60)) and decreased until the lunch. For the F4 condition, carbohydrate oxidation increased slowly to reach a peak value just before the lunch (1.25 ± 0.13 (baseline) to 2.00 ± 0.15 mg.kg⁻¹.min⁻¹ (T240)). Carbohydrate oxidation was statistically lower at T240 in F1 compared to F4 condition ($P = 0.0008$).

No difference in carbohydrate oxidation IAUCs was found between the two conditions for the period 0-240. For the 240-430 period, carbohydrate oxidation IAUC for the F1 condition was significantly lower ($P = 0.04$) compared to the F4 condition. Nevertheless total IAUC of carbohydrate oxidation did not statistically differ between conditions.

3.2.7. Lipid oxidation

Baseline lipid oxidations were not different between both conditions (Figure 4C). There was a significant effect of condition ($P = 0.03$).

For the F1 condition, lipid oxidation decreased sharply from 0.82 ± 0.08 (baseline) to 0.50 ± 0.07 mg.kg⁻¹.min⁻¹ (T60) and increased until the lunch. For the F4 condition, lipid oxidation decreased slowly from 0.74 ± 0.07 (baseline) to 0.56 ± 0.07 mg.kg⁻¹.min⁻¹ (T240). Lipid oxidation in the F4 condition was statistically lower at T240 compared to the F1 condition ($P = 0.02$).

No difference was found for all lipid oxidation IAUCs between both conditions.

3.2.8. Diet induced thermogenesis

Diet induced thermogenesis for the 0-240 period in the F4 condition was significantly lower compared to the F1 condition (3.6 ± 0.7 vs. 5.2 ± 0.6 % of ECM respectively; $P = 0.03$). There was no difference between both conditions for the 240-430 period.

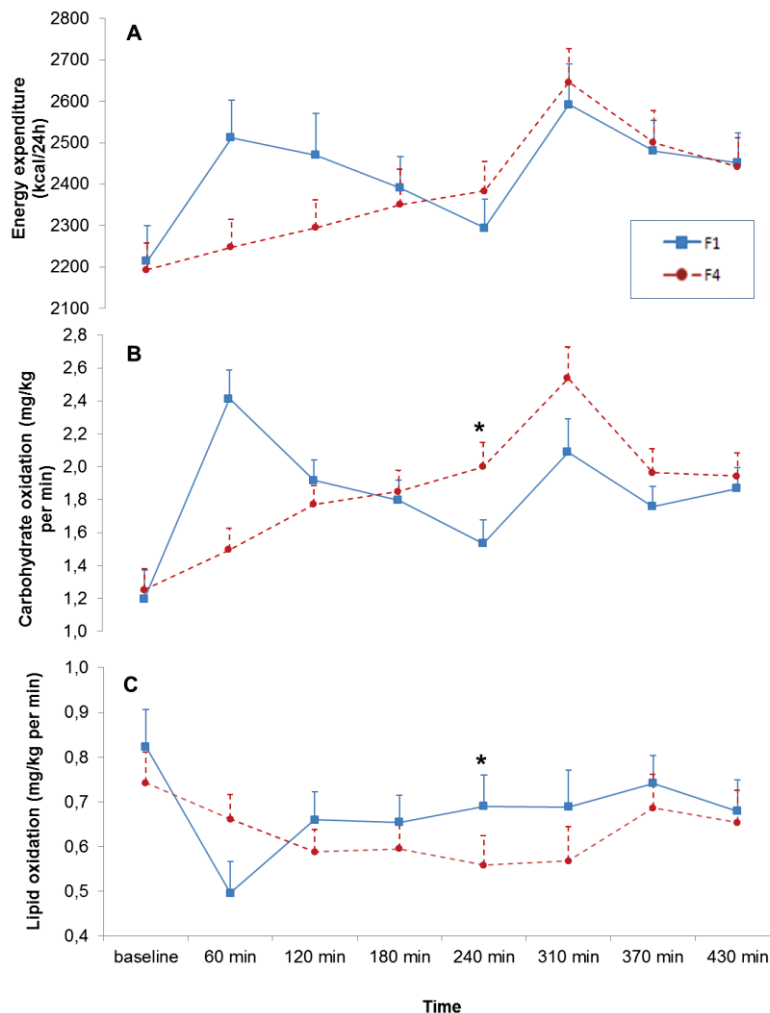


Fig. 4: Energy expenditure, carbohydrate and lipid oxidation between baseline and T430. * indicates that $P < 0.05$ where P values are results for the test comparing F1 vs. F4 values at T240.

4. DISCUSSION

The results of this study provide some evidence that an isocaloric increase of the number of eating occasions do not have a short term positive effect on energy intake in obese men, despite the beneficial impact on appetite sensations and on ghrelin and GLP-1 concentrations. We also demonstrated an effect on metabolic kinetics and a decrease in DIT.

4.1. Effect on appetite

We found that a breakfast in four identical intakes consumed hourly in the morning, compared to the same breakfast consumed in one intake induced a decrease of hunger just before lunch. This decrease of subjective appetite was corroborated by physiological measurements, as ghrelin and GLP-1 were both affected in the sense of decreasing hunger and increasing satiety before the next meal.

Food intake during the subsequent *ad libitum* meal following the breakfast in four intakes was decreased when measured in quantity (grams), but as subjects mainly decreased their intake of LED foods, no difference in total energy intake was found between the two conditions. There are a very limited number of experimental studies which have previously assessed the effect of increasing eating frequency on subjective appetite and energy intake in obese subjects.

Speechly *et al.* [39] compared subjective appetite and *ad libitum* intake of cottage pie and orange juice in seven obese males, after having consumed a breakfast in five vs. one intake. After the breakfast in five intakes, just before the lunch, they found that subjects were less hungry, as in the present study. This decrease in subjective hunger was followed by a decrease in *ad libitum* intakes in grams, as in our study, but also in total energy consumed, contrary to our findings. The discrepancy for the energy intake between this study and our, may be explained by methodological considerations around the choice of the eating situation. Speechly *et al.* proposed a single-course meal in a laboratory setting, while we offered to the subjects a buffet test meal with a large choice of first course, main course, cheese and dessert, designed in an experimental restaurant. We assume that obese subjects may be able to adjust their intakes based on their subjective hunger and satiety, under laboratory conditions, without any choice in food availability. In an ecological setting, with a wide range of foods available (as in the present study, and as in real life), if they are still able to adjust the amount they eat based on their feelings, they do not seem to be able to adjust the total energy they consume. A recent study of Bachman & Raynor [40] also found that obese subjects instructed to “graze” during a 6-month weight loss intervention, reported decreased level of hunger compared to those who were instructed to limit their number of eating occasion to three per day. Eating more frequently was thus related to a reduction in hunger, but in this study, in which food

availability was not reduced by laboratory constraints, eating frequency was not related to a reduction in energy intake, similarly to our study. This highlights the importance of taking care of the choice of the eating situation (test meals, physical surroundings, ambiance) when exploring the impact of parameters of interest on satiety, in experimental contexts, as previously reported [25, 41, 42].

The inability of adjusting their energy intake to subjective hunger, after different eating frequency pattern, seems to be specific to obese subjects. In a recent study following the same design than the present one, but run with normal weight subjects [24], we demonstrated that a breakfast in four intakes was followed by a decrease in hunger and in energy intake, compared to a breakfast in one intake. Mehra *et al.* [27] proposed to lean and obese prepubertal children an isocaloric three or five feedings in random order on separate days, followed by an *ad libitum* ice cream consumption. They found significant correlations between pre-ice cream fullness ratings by the normal weight children and subsequent ice cream consumption, while no such correlation was evident for obese children. They also found that lean children consumed less ice cream after five feedings while obese children consumed more. Mehra *et al.* [27] suggested that appetite in obese children may be influenced more by the number of calories provided at the most recent meal than by the antecedent distribution of the daily caloric supply.

Regarding biomarkers of appetite, we found, after the breakfast in four intakes, a decreased concentration in acylated ghrelin and an increased concentration in GLP-1 just before the subsequent meal, compared to the one-intake breakfast. Our findings are in accordance with two other short term studies that involved normal-weight young adults in a similar design than our [24, 43]. Few eating frequency studies involving obese subjects assessed the effects on biomarkers of appetite. Cameron *et al.* [1] showed that eating frequency (3 meals + 3 snacks vs. 3 meals / day) had no effect on ghrelin and PYY profiles in eighteen obese subjects who were prescribed an 8-week equi-energetic energy-restricted diet, while in another study [15], reduced PYY concentrations were observed with a short term 6-eating occasion vs. 3 eating-occasion eating pattern in a study with 13 overweight and obese men. The results of the present study are not in line with these last studies. More studies are needed for investigating deeper the effect of eating frequency on biomarkers of appetite, particularly in obese subjects.

Considering the above, even if increasing eating frequency may help to increase satiety and GLP-1 concentrations and to decrease the level of hunger and ghrelin concentrations, it does not seem to be an adequate strategy for reducing energy intake in obese subjects.

4.2. Effect on metabolism

Eating small and frequent meals compared to one large meal had a significant effect on glucose and insulin short-term kinetics in our study. A large breakfast induced sharp glucose and insulin excursions that were absent in the four smaller breakfast intakes condition. The AUC for glucose was found to be independent of the condition. In contrast, the insulin AUC decreased when the frequency of eating increased. In response to the same energy intake over the period, less insulin was produced in the high eating frequency condition compared to the low eating frequency condition. This finding is in accordance with a similar study we ran recently with normal-weight subjects [24] and with most of the previous studies that assessed the short-term effects of different meal frequency on metabolism [20, 44-47]. In the study of Leidy *et al.* [15], the authors demonstrated lower insulin concentrations in a 6 vs. a 3-eating occasion, in 13 overweight or obese men.

As insulin inhibits lipolysis and promotes lipogenesis [48], it has previously been hypothesized that the decrease in plasma insulin associated with increased meal frequency may contribute to decreasing body fat deposition [5]. We found a significant decrease in plasma NEFA AUC when increasing eating frequency. Plasma NEFA concentration reflects lipolysis activity [48]. Thus, the decrease in total insulin production in F4 condition did not lead to a higher lipolysis that would have been reflected by higher NEFA concentrations. We assume that insulin kinetics would be more important than total insulin production. We observed that a ≈ 20 mIU/l increase of insulin concentration in F4 condition induced the same decrease in NEFA concentration than a ≈ 60 mIU/l increase of insulin concentration in F1. It has previously been shown that lipolysis was very sensitive to minor increase in plasma insulin concentration [49]. Furthermore, in our study, the maintenance of insulin concentration at an intermediate level, with no return to baseline, may have been sufficient to inhibit lipolysis during the whole study period. Considering the above, the loss of inter-prandial fast, characterized by the maintenance of insulin concentrations above baseline, and induced by the increase in eating frequency, would have a deleterious effect. The return to baseline concentration for insulin seems to play a key role in order to orientate the organism to a lipolysis pattern.

Insulin also regulates the oxidation ratio between carbohydrate and lipid oxidation [48]. In a recent study, Munsters *et al.* [20] suggested that a higher rise and subsequently fall of insulin in a low frequency pattern would result in a higher fat oxidation. However, these authors did not confirm this hypothesis in lean men [20]. They explained this result by arguing that the insulin levels in the high eating frequency pattern (14 vs. 3) eating occasions) did not increase enough to inhibit fat oxidation. In this study, they showed insulin levels between 30 and 40 mU/L in the high eating frequency pattern, and they argued that the threshold for maximal suppression of lipid oxidation was not

reached in these subjects [20]. We showed insulin levels mostly between 25 and 35 mU/L in the pre-lunch period, in the present study and we also argue that this threshold was not reached in our sample of obese subjects.

Increasing eating frequency induced in the present study a decrease in DIT, as already observed in similar conditions with normal weight subject [24], and in other eating frequency studies [20, 23]. However, other authors found no effect of eating frequency on DIT [13, 50, 51], or an opposite effect [22]. Even if the negative effect of increasing meal frequency on DIT was minor in the present study, this should be taken into account considering a longer run perspective.

Overall, the effect of increasing eating frequency on metabolism is debatable: a higher number of intakes decreased global insulin response but we assume that the loss of the inter-prandial fast may be deleterious in the long run by inhibiting lipolysis activity and decreasing energy expenditure.

CONCLUSION

The present study do not support the cause that an isocaloric increase of eating frequency may help to reduce energy intake in obese individuals, even if a decrease in hunger and ghrelin concentrations, and an increase in satiety and GLP-1 concentrations have been observed. Metabolic parameters were negatively affected by a higher number of intakes in the sense of inhibiting lipolysis activity and decreasing diet induced thermogenesis. Considering the above, eating smaller and more frequent meals should not be considered as an adequate strategy to promote weight loss in obese individuals.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Foundation Nestlé France and Thermes de Brides Les Bains. We thank Agnes Giboreau, research director of the Institut Paul Bocuse Research Center for her support at each step of the study. We are also grateful for the contribution from the members of the Institut Paul Bocuse and of the Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes.

REFERENCES

- [1] Cameron JD, Cyr MJ, Doucet E. Increased meal frequency does not promote greater weight loss in subjects who were prescribed an 8-week equi-energetic energy-restricted diet. *Br J Nutr* 2010;103:1098-101.
- [2] Fabry P, Hejl Z, Fodor J, Braun T, Zvolankova K. The Frequency of Meals. Its Relation to Overweight, Hypercholesterolaemia, and Decreased Glucose-Tolerance. *Lancet* 1964;2:614-5.
- [3] Nikolic M, Nikic D, Lazarevic K, Stankovic A, Mladenovic I. Frequency of daily meal consumption and their quantity as risk factors for the development of obesity in workers. *Facta Universitatis* 2005;2:465-70.
- [4] Holmbäck I, Ericson U, Gullberg B, Wirfalt E. A high eating frequency is associated with an overall healthy lifestyle in middle-aged men and women and reduced likelihood of general and central obesity in men. *Br J Nutr* 2010;1-9.
- [5] Ma Y, Bertone ER, Stanek EJ, 3rd, Reed GW, Hebert JR, Cohen NL, *et al.* Association between eating patterns and obesity in a free-living US adult population. *Am J Epidemiol* 2003;158:85-92.
- [6] Summerbell CD, Moody RC, Shanks J, Stock MJ, Geissler C. Relationship between feeding pattern and body mass index in 220 free-living people in four age groups. *Eur J Clin Nutr* 1996;50:513-9.
- [7] Berg C, Lappas G, Wolk A, Strandhagen E, Toren K, Rosengren A, *et al.* Eating patterns and portion size associated with obesity in a Swedish population. *Appetite* 2009;52:21-6.
- [8] Hampl JS, Heaton CL, Taylor CA. Snacking patterns influence energy and nutrient intakes but not body mass index. *J Hum Nutr Diet* 2003;16:3-11.
- [9] Howarth NC, Huang TT, Roberts SB, Lin BH, McCrory MA. Eating patterns and dietary composition in relation to BMI in younger and older adults. *Int J Obes (Lond)* 2007;31:675-84.
- [10] Huang TT, Roberts SB, Howarth NC, McCrory MA. Effect of screening out implausible energy intake reports on relationships between diet and BMI. *Obes Res* 2005;13:1205-17.
- [11] Speechly DP, Buffenstein R. Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite* 1999;33:285-97.
- [12] Leahy FE, Jebb SA, Moore MS, Prentice AM. Effect of meal frequency and exercise on subsequent energy intake in lean men. *Int J Obes (Lond)* 2000;24(Suppl 1):S15.
- [13] Smeets AJ, Westerterp-Plantenga MS. Acute effects on metabolism and appetite profile of one meal difference in the lower range of meal frequency. *Br J Nutr* 2008;99:1316-21.
- [14] Taylor MA, Garrow JS. Compared with nibbling, neither gorging nor a morning fast affect short-term energy balance in obese patients in a chamber calorimeter. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:519-28.
- [15] Leidy HJ, Armstrong CL, Tang M, Mattes RD, Campbell WW. The influence of higher protein intake and greater eating frequency on appetite control in overweight and obese men. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:1725-32.
- [16] de Graaf C, Blom WA, Smeets PA, Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr* 2004;79:946-61.

- [17] Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, *et al.* Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992.
- [18] Naslund E, Barkeling B, King N, Gutniak M, Blundell JE, Holst JJ, *et al.* Energy intake and appetite are suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:304-11.
- [19] Lemmens SG, Martens EA, Kester AD, Westerterp-Plantenga MS. Changes in gut hormone and glucose concentrations in relation to hunger and fullness. *Am J Clin Nutr* 2011;94:717-25.
- [20] Munsters MJM, Saris WHM. Effects of Meal Frequency on Metabolic Profiles and Substrate Partitioning in Lean Healthy Males. *PLoS One* 2012;7:e38632.
- [21] Solomon TP, Chambers ES, Jeukendrup AE, Toogood AA, Blannin AK. The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. *Br J Nutr* 2008;100:810-9.
- [22] LeBlanc J, Mercier I, Nadeau A. Components of postprandial thermogenesis in relation to meal frequency in humans. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71:879-83.
- [23] Tai MM, Castillo P, Pi-Sunyer FX. Meal size and frequency: effect on the thermic effect of food. *Am J Clin Nutr* 1991;54:783-7.
- [24] Alliot X, Saulais L, Seyssel K, Roth H, Charrié A, Draï J, *et al.* Increasing eating frequency contributes to a better control of appetite in lean men. Submitted 2012.
- [25] Alliot X, Saulais S, Disse E, Nazare JA, Cazal C, Laville M. Integrating behavioral measurements in physiological approaches of satiety. *Food Qual Pref* 2011;doi:10.1016/j.foodqual.2011.05.005.
- [26] Alliot X, Saulais L, Disse E, Roth H, Cazal C, Laville M. Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant. *Appetite* 2012;58:889-897.
- [27] Mehra R, Tsalikian E, Chenard CA, Zimmerman MB, Sivitz WI. Feeding frequency and appetite in lean and obese prepubertal children. *Obesity (Silver Spring)* 2010;19:560-7.
- [28] Palmer MA, Capra S, Baines SK. Association between eating frequency, weight, and health. *Nutr Rev* 2009;67:379-90.
- [29] Van Strien T, Frijters J, Bergers G, Defares P. The Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) for assessment of restrained, emotional, and external eating behavior. *Int J Eat Disord* 1986;5:295-315.
- [30] Lluch A, Kahn J, Stricker-Krongrad A, Ziegler O, Drouin P, Mejean L. Internal validation of a French version of the Dutch eating behaviour questionnaire. *Eur Psychiatry* 1996;11:198-203.
- [31] Stunkard AJ, Messick S. The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J Psychosom Res* 1985;29:71-83.
- [32] Lluch A. Identification des conduites alimentaires par approches nutritionnelles et psychométriques: implications thérapeutiques et préventives dans l'obésité humaine. Nancy: University Henri Poincaré, Nancy 1; 1995.
- [33] Giboreau A, Fleury H. A new research platform to contribute to the pleasure of eating and healthy food behaviors through academic and applied Food and Hospitality research. *Food Qual Pref* 2009;20:533-536.

- [34] Almiron-Roig E, Green H, Virgili R, Aeschlimann JM, Moser M, Erkner A. Validation of a new hand-held electronic appetite rating system against the pen and paper method. *Appetite* 2009;53:465-8.
- [35] Blond E, Maitrepierre C, Normand S, Sothier M, Roth H, Goudable J, *et al.* A new indirect calorimeter is accurate and reliable for measuring basal energy expenditure, thermic effect of food and substrate oxidation in obese and healthy subjects. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 2011;6:e7-e15.
- [36] Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 1988;37:287-301.
- [37] Arock M, Desnault H, Viars P, Guillosson JJ. Determination of total nitrogen in biological milieux by chemoluminescence: a comparison with the reference method. *Ann Biol Clin (Paris)* 1985;43:872-4.
- [38] Yeh KC, Kwan KC. A comparison of numerical integrating algorithms by trapezoidal, Lagrange, and spline approximation. *J Pharmacokinet Biopharm* 1978;6:79-98.
- [39] Speechly DP, Rogers GG, Buffenstein R. Acute appetite reduction associated with an increased frequency of eating in obese males. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:1151-9.
- [40] Bachman JL, Raynor HA. Effects of manipulating eating frequency during a behavioral weight loss intervention: a pilot randomized controlled trial. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:985-92.
- [41] Meiselman HL. Environmental factors in eating and obesity. *Appetite* 2006;47:270.
- [42] Larson N, Story M. A review of environmental influences on food choices. *Annals of Behavioral Medicine* 2009;38 Suppl 1:S56-73.
- [43] Lemmens SG, Martens EA, Born JM, Martens MJ, Westerterp-Plantenga MS. Staggered Meal Consumption Facilitates Appetite Control without Affecting Postprandial Energy Intake. *J Nutr* 2011;141:482-8.
- [44] Jenkins DJ, Wolever TM, Ocana AM, Vuksan V, Cunnane SC, Jenkins M, *et al.* Metabolic effects of reducing rate of glucose ingestion by single bolus versus continuous sipping. *Diabetes* 1990;39:775-81.
- [45] Wolever TM. Metabolic effects of continuous feeding. *Metabolism* 1990;39:947-51.
- [46] Jones PJ, Leitch CA, Pederson RA. Meal-frequency effects on plasma hormone concentrations and cholesterol synthesis in humans. *Am J Clin Nutr* 1993;57:868-74.
- [47] Jenkins DJ, Wolever TM, Vuksan V, Brighenti F, Cunnane SC, Rao AV, *et al.* Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. *N Engl J Med* 1989;321:929-34.
- [48] Dimitriadis G, Mitron P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;93 Suppl 1:S52-9.
- [49] Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM. Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes* 1989;38:1595-601.
- [50] Bellisle F, McDevitt R, Prentice AM. Meal frequency and energy balance. *Br J Nutr* 1997;77 Suppl 1:S57-70.
- [51] Kinabo JL, Durnin JV. Effect of meal frequency on the thermic effect of food in women. *Eur J Clin Nutr* 1990;44:389-95.

8.3 Discussion des résultats chez les sujets obèses

L'article précédent met en lumière le fait que le fractionnement alimentaire ne semble pas être une stratégie adéquate chez des sujets obèses dans l'objectif de réduire les consommations alimentaires. La sensation de faim a été diminuée suite à un petit déjeuner fractionné en quatre prises, les concentrations en ghréline ont été diminuées et les concentrations en GLP-1 augmentées (en considérant les mesures à T240, soit juste avant le repas de midi). Pourtant, aucun effet bénéfique sur la consommation d'énergie au cours de ce repas n'a été observé.

D'un point de vue méthodologique, les résultats de cette étude confirment l'intérêt d'associer des mesures subjectives, physiologiques et comportementales, si l'on souhaite obtenir une description la plus complète possible de l'effet d'un paramètre d'intérêt sur l'appétit. En effet, une étude qui aurait fait l'impasse sur des mesures comportementales aurait conclu à un effet bénéfique du fractionnement alimentaire sur l'appétit, à la vue des seuls résultats subjectifs et physiologiques. Par ailleurs, une étude qui n'aurait focalisé l'attention que sur les consommations alimentaires, n'aurait pas permis de comprendre les mécanismes mis en place. Même si nous n'avons pas la prétention de décrire un phénomène dans son intégralité, notre étude permet à la fois de conclure sur l'effet non bénéfique du fractionnement alimentaire chez le sujet obèse, ainsi que de mettre en lumière que cette absence d'effet n'est pas associée à une déficience physiologique liée aux hormones de l'appétit, ou à un manque de sensations liées à l'appétit. C'est bien l'aspect comportemental qui semble présenter un dysfonctionnement : la consommation alimentaire n'ayant pas été régulée de façon adéquate chez ces sujets, par rapport à des différences de niveaux de faim ressentis et des différences de concentrations hormonales.

Les résultats de cette étude montrent également la pertinence d'avoir choisi une population d'obèses. D'un point de vue opérationnel, les personnes obèses sont les plus visées par les messages proposant des stratégies de perte de poids. Le conseil de modifier la fréquence de ses prises alimentaires et en particulier de fractionner son alimentation est souvent donné, malgré le manque de preuves scientifiques (cf. introduction générale). Notre étude va à l'encontre de ce genre de conseils, et si une augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires peut contribuer à mieux contrôler l'appétit chez des sujets de poids normal (cf. chapitre 7), cette stratégie ne semble pas être adaptée à une population obèse. Notre hypothèse initiale était que les sujets obèses, en raison d'une potentielle dérégulation physiologique et/ou comportementale, pourraient présenter des réponses différentes de celles des sujets de poids normal, en réponse au fractionnement

alimentaire, sans présupposer du sens de ces différences. Nous avons confirmé cette hypothèse et mis en avant des différences entre sujets de poids normal et sujets obèses, dans la capacité comportementale à adapter leurs prises alimentaires en réponse à des niveaux de faim subjectifs et physiologiques différents. Nos résultats vont dans le sens de ceux de Mehra *et al.* (2010) qui ont réalisé une étude chez des enfants de poids normal et obèses. Ces auteurs ont montré une bonne corrélation entre les sensations de faim avant une consommation de glace *ad libitum*, chez les enfants de poids normal, mais pas chez les obèses. Par ailleurs, les enfants de poids normal ont diminué leur consommation *ad libitum* de glace après un fractionnement alimentaire en cinq vs. trois prises, alors que les enfants obèses ont présenté des résultats inverses. L'hypothèse des auteurs de cette étude est que les enfants obèses réguleraient leur prise alimentaire *ad libitum*, plus en fonction de la quantité calorique de la prise alimentaire qui précède, qu'en fonction de la façon dont l'apport calorique est distribué précédemment à cette prise *ad libitum*. Dans notre étude, nous avons mis en évidence que les sujets obèses, comme les sujets de poids normal sont capables d'ajuster leur prise alimentaire à des différences de niveau de faim et de satiété, en volume (ou en quantité d'aliment). Mais, si la sensibilité au volume alimentaire ne semble pas altérée chez les sujets obèses, c'est leur capacité à ajuster la quantité calorique ingérée à leur niveau de faim, qui est déficiente, dans notre étude, comparativement aux sujets de poids normal.

Les sujets obèses ont consommé en moyenne au buffet (condition F1 et F4 confondues) 1494 ± 84 kcal. Cette quantité est en valeur absolue supérieure à la quantité qui avait été consommée par les sujets de poids normal (1310 ± 70 kcal), mais la différence de consommation moyenne au buffet entre sujets de poids normal et obèses n'est pas significative ($P = 0.11$). En revanche, les sujets obèses ont consommé au buffet en moyenne $49,1 \pm 2,4$ % de leurs besoins quotidiens en énergie (moyenne \pm SEM = 3030 ± 95 kcal), contre $57,2 \pm 2,7$ % pour les sujets de poids normal ($P = 0.039$). Cette quantité consommée au buffet par les obèses est très nettement supérieure ($P < 0,001$) à la taille de leur repas de midi moyen déclaré au cours des 6 jours d'enquête alimentaire (820 ± 55 kcal) ou même à la taille du repas de midi le plus copieux déclaré au cours de cette même enquête (1150 ± 84 kcal, $P < 0,001$). Si ces résultats laissent supposer une surconsommation au cours du buffet chez les sujets obèses, ils mettent surtout en lumière une sous-déclaration importante des consommations rapportées par les enquêtes alimentaires. En effet les sujets obèses ont déclaré, au cours de l'enquête alimentaire, consommer en moyenne uniquement $73,3 \pm 3,4$ % de leurs besoins quotidiens en énergie, soit 2191 ± 85 kcal, ce qui correspond à quelques unités près à la valeur du métabolisme de repos de ces sujets, mesuré au CRNH par calorimétrie indirecte (2204 ± 69 kcal). Or, pour des personnes sédentaires en équilibre énergétique, les besoins quotidiens en énergie sont au minimum égaux au métabolisme de repos multiplié par un coefficient de 1,2 (Roseblum *et al.*,

2006). Quinze sujets sur les dix-sept ont déclaré des consommations inférieures à cette valeur. Pour mémoire, les sujets de poids normal avaient déclaré, au cours de cette même enquête de 6 jours, consommer en moyenne 97 % de leurs besoins énergétiques quotidiens. Ces données confirment les résultats déjà obtenus dans d'autres études qui mettent en avant une sous-déclaration plus importante chez les personnes obèses que chez celles présentant un poids normal (Prentice *et al.*, 1986; Lichtman *et al.*, 1992; Black *et al.*, 1993). Les déclarations du nombre de prises alimentaires au cours de l'enquête sont assez proches de celles obtenues avec les sujets de poids normal, avec une moyenne de $3,5 \pm 0,08$ prises par jour. Sur les 102 journées alimentaires rapportées par les sujets obèses, 83 % contenaient 3 ou 4 prises alimentaires, 11 % contenaient 5 prises et 4 % contenaient seulement 2 prises. Etant donnée la sous-déclaration avérée des sujets obèses d'un point de vue de l'énergie totale ingérée, le nombre total de prises alimentaires déclarées doit également être considéré avec précaution, les prises alimentaires hors repas étant les plus sujettes à être non rapportées dans les études déclaratives (Livingstone *et al.*, 1990; Poppitt *et al.*, 1995), et les répondants à des enquêtes alimentaires ayant tendance à se rapprocher dans leurs déclarations de la norme de trois repas par jour, même s'ils en ont effectué plus (Fischler, 1990; de Saint Pol, 2005). Les sujets obèses ont également rapporté leurs consommations alimentaires jusqu'au soir, à la suite des journées d'exploration comportementale (consommations post-buffet) et métabolique (consommations post déjeuner standardisé). Aucune différence entre conditions n'a été mise en évidence ni pour l'ensemble des journées d'exploration comportementale (3055 ± 104 kcal en F1; 3101 ± 135 kcal en F4, $P = 0,88$), ni pour l'ensemble des journées d'exploration métabolique (2709 ± 86 kcal en F1; 2565 ± 85 kcal en F4, $P = 0,27$).

Les aspects temporels du repas *ad libitum* n'ont pas été présentés dans l'article précédent. Aucune différence entre conditions n'a été mise en évidence dans les consommations au cours de chaque quart de repas, ni dans les courbes cumulatives de consommation d'énergie. Une des limites de ce résultat provient du fait que nous n'avons pas réalisé d'étude de validation de ces procédures d'analyse avec des sujets obèses. Il serait bon de s'assurer, comme nous l'avons fait pour les sujets de poids normal, de la reproductibilité de nos paramètres d'intérêt et de leur sensibilité à des interventions. La bonne reproductibilité de l'apport énergétique *ad libitum*, au cours de deux sessions expérimentales identiques a été mise en évidence chez des sujets obèses dans une seule étude (Lara *et al.*, 2010). Celle-ci s'est déroulée dans un contexte de laboratoire, le repas test utilisé était un plat unique de pâtes et seulement 8 sujets avaient participé à l'étude. Aussi, il serait pertinent d'évaluer la reproductibilité, et la sensibilité à des interventions, des comportements alimentaires (au-delà de la simple consommation totale d'énergie) de sujets obèses, dans une

situation plus écologique de restauration, en particulier avec un repas test permettant aux sujets de faire des choix, et avec un échantillon plus important que dans l'étude de Lara *et al.* (2010).

Le nombre de sujets constitue également une limite de notre étude. Le calcul du nombre de sujets nécessaire (cf. paragraphe 6.2.2) avait indiqué que 20 sujets obèses étaient nécessaires pour mettre en évidence une différence dans l'énergie ingérée au cours du repas *ad libitum*, or seulement 17 sujets ont participé à l'ensemble de l'étude. Deux autres sujets avaient été inclus mais ont abandonné dès le début de l'étude. Etant donnée la quantité importante de critères d'inclusion qui a rendu difficile le recrutement de sujets obèses, et les paramètres logistiques inhérents à la réalisation des expérimentations, nous n'avons pas atteint le seuil des 20 sujets obèses. Néanmoins, aucune tendance ne s'est dégagée dans les résultats sur l'énergie totale ingérée ($P = 0,3$) qui aurait pu laisser supposer un manque de puissance dû à un effectif trop petit. Aussi, le fait de n'avoir que 17 sujets ne semble pas avoir affecté les conclusions pour ce paramètre, ni pour l'autre critère de jugement : la concentration plasmatique de ghréline mesurée juste avant le repas de midi, qui était, avec 17 sujets, significativement différente entre les conditions.

Nous avons mis en avant les spécificités des sujets obèses, par rapport à des sujets de poids normal sur le plan de leur comportement alimentaire en réponse à un fractionnement. Sur le plan physiologique, les différents paramètres sanguins étudiés (ghréline, GLP-1, insuline, glucose, AGNE, TG) ont présenté des cinétiques similaires chez le sujet obèse et celui de poids normal, suite à un fractionnement alimentaire. Les différences observées entre conditions juste avant le repas de midi pour la ghréline et le GLP-1 chez les obèses, avaient été également mises en évidence chez les sujets de poids normal.

Néanmoins, les concentrations de ghréline mesurées chez les sujets obèses étaient dans l'ensemble très abaissées comparativement à celles obtenues chez les sujets de poids normal. La figure 27A met en perspective les cinétiques de ghréline dans les deux groupes de sujets. Les valeurs obtenues chez les sujets obèses dans les mêmes conditions que chez les sujets de poids normal présentent une diminution comprise entre $\approx 50\%$ et $\approx 65\%$. Ces résultats vont dans le sens des données de la littérature (Tschöp *et al.*, 2001b; Shiiya *et al.*, 2002). Malgré ces diminutions importantes des concentrations plasmatiques de ghréline chez l'obèse, la figure 27A met bien en lumière que le pic de ghréline observé avant un repas est toujours présent chez l'obèse, ainsi que la chute des concentrations de ghréline après le repas. Le profil sécrétoire circadien de la ghréline est donc toujours bien corrélé au rythme des repas chez l'obèse. Nos résultats confirment que seule la quantité de ghréline libérée dans la circulation sanguine est altérée en situation d'obésité, comme déjà mis en évidence par exemple par Bowen *et al.* (2006).

Les concentrations plasmatiques de GLP-1 obtenues chez les sujets obèses n'étaient globalement pas différentes de celles obtenues chez ceux de poids normal. Les résultats de la littérature sont contradictoires sur cette question. Certains auteurs ont déjà rapporté une diminution des concentrations de GLP-1 chez des sujets obèses (Verdich *et al.*, 2001), alors que d'autres (Bowen *et al.*, 2006) ont montré des résultats inverses. Enfin, d'autres études n'ont pas mis en évidence de différence dans la sécrétion de GLP-1 entre sujets obèses et de poids normal (Feinle *et al.*, 2002).

Les résultats obtenus dans notre étude pour la réponse insulinique chez les sujets obèses montrent, comme démontré depuis longtemps (Bagdade *et al.*, 1967), des concentrations plus élevées que chez les sujets de poids normal (cf. Fig. 27B).

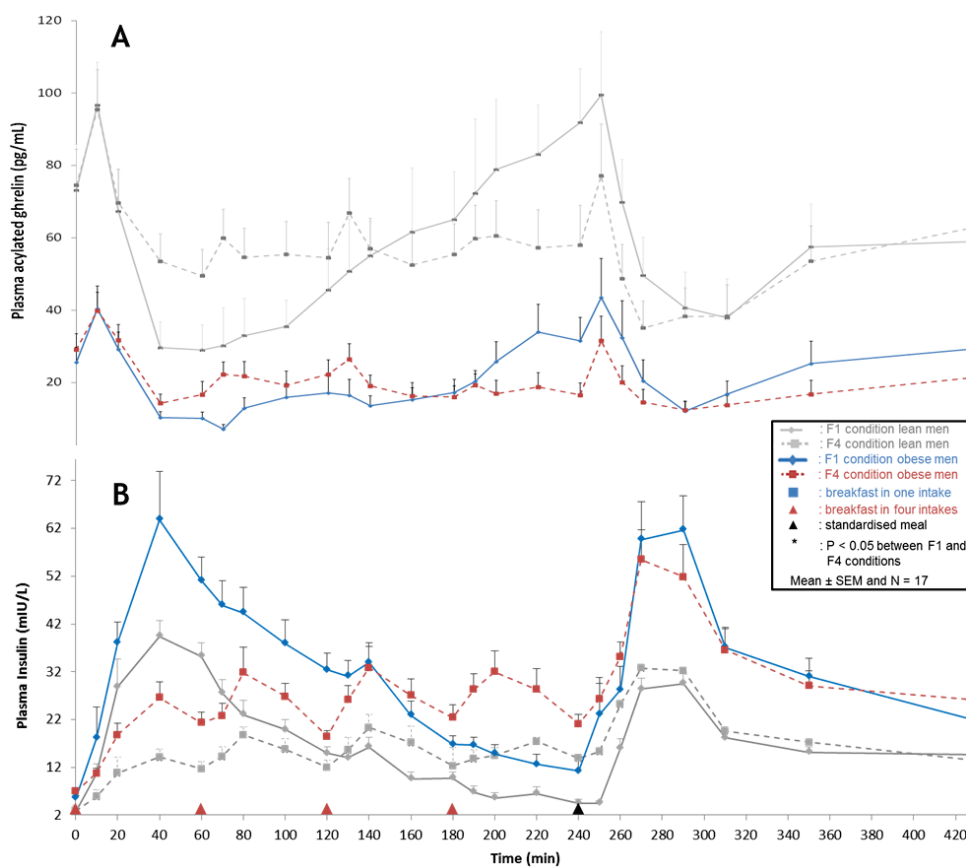


Figure 27 : Cinétiques de ghréline (A) et d'insuline (B) chez les sujets de poids normal (« lean men ») et les sujets obèses de l'étude SAFRAN.

Nous avons mis en évidence chez les sujets obèses une diminution de la thermogénèse induite par l'alimentation dans la condition F4 (petit déjeuner fractionné en quatre prises). Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus chez les sujets de poids normal. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les sujets de poids normal et obèses dans la DIT en considérant séparément les périodes T0-T240 et T240-T430, ni en condition F1, ni en condition F4. Les données

de la littérature sont contrastées sur cette question. Si quelques études, dans la lignée de nos résultats, ne montrent pas de spécificité des sujets obèses par rapport à la DIT, beaucoup d'autres auteurs ont mis en évidence une diminution de la DIT chez des personnes obèses (de Jonge *et al.*, 1997; 2002; Granata *et al.*, 2002). Cette question fait débat dans la communauté scientifique ; Granata *et al.* (2002), dans une revue de littérature, concluent à l'impossibilité de trancher sur la question, étant donnés les différentes méthodologies utilisées et les résultats contradictoires observés. De Jonge *et al.* (2002) ont répondu par une lettre aux éditeurs du journal, intitulée « The thermic effect of food is reduced in obesity » dans laquelle ils argumentent en faveur de cette hypothèse. Nos résultats, quant à eux, ne viennent pas confirmer cette hypothèse.

L'ensemble des résultats de notre étude ne vient pas supporter la thèse d'un effet bénéfique du fractionnement alimentaire sur le contrôle de l'appétit chez les personnes obèses. En effet, malgré une diminution de la sensation de faim et de la concentration plasmatique en ghréline avant le repas, et l'augmentation de la sensation de satiété et de la concentration plasmatique en GLP-1 à ce même instant, aucun effet positif du fractionnement alimentaire sur l'apport énergétique n'a été mis en évidence au cours du repas suivant. Les sujets obèses ont adapté la quantité en grammes d'aliments consommés en fonction de leurs sensations de faim et de satiété, mais aucune différence dans l'énergie ingérée n'a été observée. Ceci s'explique par les choix alimentaires réalisés durant le repas : après un petit déjeuner fractionné, les sujets ont consommé une quantité moindre d'énergie provenant d'aliments de faible densité énergétique. Cette caractéristique comportementale n'avait pas été observée chez des sujets de poids normal. Concernant les effets du fractionnement alimentaire sur les paramètres métaboliques, aucune spécificité n'a été observée chez les sujets obèses : comme chez ceux de poids normal, la perte du jeûne inter-prandial a entraîné une diminution de la dépense énergétique via la thermogénèse induite par l'alimentation, ainsi qu'une inhibition prolongée de la lipolyse caractérisée par des concentrations plasmatiques diminuées en acides gras non estérifiés durant la période d'expérimentation. Cet effet n'a pas été amplifié chez les sujets obèses. Comme chez les sujets de poids normal, nous concluons à un effet potentiellement négatif du fractionnement alimentaire sur l'orientation des voies métaboliques, même si des études sur des périodes plus longues sont nécessaires.

PARTIE D - Discussion générale

Chapitre 9 : Bilan et perspectives méthodologiques

La question méthodologique est centrale dans ce travail de thèse. Notre premier objectif a consisté à proposer une méthodologie expérimentale qui permette une étude, la plus complète possible, du concept complexe qu'est l'appétit. Dans cette démarche, nous avons tout particulièrement pris soin à la validité externe de la méthode, dans l'optique d'obtenir des résultats de recherche extrapolables à la vie réelle. Dans ce chapitre, nous allons faire le bilan des apports méthodologiques de ce travail et proposer en perspective des améliorations possibles, en considérant d'abord la question de la complexité de l'appétit, puis celle de la validité externe.

9.1 Vers une approche intégrée de l'appétit

Nous avons proposé une méthode qui consiste à dupliquer le même protocole dans deux lieux de recherche différents : un centre clinique permettant une investigation clinique approfondie des facteurs physiologiques liés à la régulation de l'appétit et au métabolisme, et un centre d'investigation comportementale permettant de mesurer les sensations de faim et d'observer les comportements alimentaires dans un contexte de consommation écologique mais contrôlé. La réalisation de prises de sang « contrôles » au sein du centre d'investigation comportementale a permis de montrer que les réponses physiologiques ne variaient pas entre les deux centres d'étude, et ainsi de valider la duplication du protocole sur le plan physiologique. Les journées d'exploration au CRNH ont permis d'avoir **une approche physiologique élargie de l'appétit** en considérant non seulement les cinétiques plasmatiques des métabolites et des hormones liées à la régulation de l'appétit, mais encore la façon dont les substrats étaient utilisés ou comment variait la dépense énergétique, grâce à l'usage de la calorimétrie indirecte. L'originalité de notre méthode consiste à associer l'ensemble de ces mesures à une étude approfondie du comportement alimentaire. En effet, la réalisation des journées d'exploration à l'Institut Paul Bocuse, par l'utilisation du restaurant expérimental et des caméras vidéo, nous a offert la possibilité d'étudier le comportement alimentaire de façon beaucoup plus approfondie que ce que l'on observe habituellement.

Nous avons présenté dans ce manuscrit **comment nous avons dépassé la simple mesure de l'énergie totale ingérée, par une analyse qualitative et temporelle du repas**. Nous avons en particulier étudié les choix au cours du buffet *ad libitum*, en fonction de différentes catégories d'aliments (entrées/plats/fromages/desserts ou aliments de haute/basse densité énergétique). Par ailleurs, nous avons proposé des courbes cumulatives de consommation d'énergie à partir des repas au restaurant expérimental, à l'image de ce qui est fait dans la littérature étudiant la microstructure des repas (Kissileff, 2000; Westerterp-Plantenga, 2000; Kissileff *et al.*, 2001). Alors que cette littérature

utilise des repas composés le plus souvent d'un seul item alimentaire, dans des environnements purement expérimentaux, nous avons, pour la première fois, proposé ce type d'analyse pour des repas de type buffet varié, en contexte écologique de restauration. Nous avons, dans notre étude de validation, démontré la bonne reproductibilité intra-individuelle de ce paramètre, entre deux repas pris dans des situations identiques. Nous avons également mis en évidence que ce paramètre était sensible à des modifications expérimentales. Les courbes cumulatives de consommation d'énergie offrent une vision globale de la cinétique d'ingestion d'un repas et leur comparaison entre différentes conditions permet d'évaluer l'effet d'un paramètre d'intérêt sur ces cinétiques. Néanmoins, leur interprétation reste difficile et l'analyse des différentes fractions temporelles du repas (comme les quarts de repas dans les études présentées dans ce manuscrit) peut s'avérer plus parlante. Nous avons démontré en particulier que, dans le contexte expérimental proposé, les consommations lors du dernier quart de repas étaient les plus soumises à des variations. Ces résultats suggèrent que des différences d'appétit observées en début de repas chez des sujets de poids normal vont entraîner plus particulièrement des modifications dans les apports alimentaires de fin de repas (fromage ou dessert). De tels résultats peuvent avoir un intérêt en termes de santé publique, afin d'identifier les paramètres pouvant aider à limiter les consommations de fin de repas qui sont souvent de haute densité énergétique (fromages, desserts). L'évaluation des caractéristiques temporelles du repas est novatrice dans les études sur l'appétit, et le travail d'analyse de ces données, obtenues par le biais des enregistrements vidéo, mérite d'être encore amélioré. Un des leviers d'amélioration pourrait être l'utilisation de logiciels d'analyse vidéo, comme ceux développés par la société Noldus, qui faciliterait le codage des données et permettrait également d'augmenter le nombre de paramètres d'intérêt pour rendre plus facile l'interprétation des résultats. Ce type de logiciels permettrait de coupler nos données de consommation aux expressions faciales observées au cours du repas (voir par exemple (Zeinstra *et al.*, 2009)), ou parallèlement au nombre de bouchées, d'enregistrer le temps passé à mâcher. Il a récemment été démontré qu'une augmentation du temps passé à mâcher au cours d'un repas pouvait entraîner une diminution de l'énergie ingérée (Smit *et al.*, 2011a) ; ce type de résultats justifie l'utilisation de tels outils et paramètres dans les travaux investiguant les moyens de mieux contrôler l'appétit et de réduire l'énergie ingérée au cours des repas.

D'autres **axes d'amélioration** peuvent être proposés en dehors de la période du repas *ad libitum* et de son analyse spécifique. Par exemple, plutôt que de se limiter à l'évaluation de la sensation de faim par l'intermédiaire d'EVA tout au long des journées d'exploration, il serait très informatif d'évaluer d'autres paramètres, tels que l'humeur des sujets ou leur performance. Une revue de littérature de Kanarek (1997) mettait en avant l'effet bénéfique de la prise d'un petit déjeuner, et de celle d'une

collation dans l'après-midi, sur les performances cognitives. Une étude récente par Hewlett *et al.* (2009) a montré que l'augmentation du nombre de prises alimentaires (4 prises à 9h, 11h, 13h et 15h vs. 2 prises à 9h et 13h) pouvait entraîner une amélioration des performances cognitives et une tendance à une humeur plus positive. Benton *et al.* (2010) ont interrogé 686 personnes après un repas pris dans une cafétéria. Les auteurs ont mis en évidence que les personnes ayant pris un petit déjeuner le matin même rapportaient des humeurs plus positives durant la matinée, ainsi qu'un sentiment de relaxation plus élevé. Le lien entre humeur durant la matinée et choix alimentaires au repas de midi a également été considéré, mais aucune association significative n'a été mise en évidence dans cette étude, alors que plusieurs études ont déjà mis en évidence un lien entre une humeur négative et la consommation d'aliments palatables (Benton, 2002). L'inclusion de ce type de mesures dans nos protocoles permettrait d'observer plus globalement l'effet de paramètres d'intérêt (en particulier de la fréquence des prises alimentaires) sur l'état psychologique des sujets, ce qui pourrait aider à expliquer les différences de consommation observées au cours des repas.

Une autre façon d'enrichir le champ des données recueillies, dans l'objectif de mieux comprendre les processus psychologiques entrant en jeu dans le contrôle de l'appétit, serait d'intégrer un volet qualitatif à nos recherches. Par exemple, la réalisation d'entretiens individuels et/ou de « focus groupes », à la fin de la dernière journée d'exploration, permettrait d'aborder de façon qualitative avec chacun des sujets la description du vécu pendant ces journées d'explorations : sensations, humeurs ou émotions ressenties en fonction des différents types de fractionnement alimentaire ; facilité à adhérer au protocole et ressenti par rapport à ce protocole (buffet test, mesures par calorimétrie indirecte, prises de sang,...) ; attentes et impressions des sujets sur l'offre alimentaire en arrivant à l'Institut Paul Bocuse. Peu d'études qualitatives se sont intéressées à la question de l'appétit. Kristensen (2000) a bien décrit dans une revue de littérature comment la faim, la satiété pouvaient être des sujets de recherche d'intérêt majeur dans les sciences humaines et sociales. Deux études décrivent, par des méthodes qualitatives, les sensations de faim et de satiété, du point de vue des consommateurs (Kristensen *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2009). Murray *et al.* (2009) mettent en avant les composantes physiques et psychologiques des sensations de faim et de plénitude, et les possibilités de chevauchement entre une sensation de faim mentale et de plénitude physique. L'étude de Kristensen *et al.* (2002) met en lumière comment, dans des contextes sociaux différents, la définition de la satiété évolue pour un même individu, ce qui permet d'avoir un point de vue original pour expliquer l'influence du contexte social sur les quantités d'énergie consommées. Par ailleurs, les travaux de Bisogni *et al.* (2007) rapportent les descriptions qualitatives de sujets, de leurs prises alimentaires habituelles, ce qui permet en particulier d'avoir les points de vue des consommateurs sur ce qu'est un repas, un snack,... L'ensemble de ces travaux devrait être une

source d'inspiration pour imaginer des protocoles originaux d'étude de l'appétit, combinant approches quantitatives et qualitatives. Une des méthodologies qui pourrait être particulièrement pertinente dans notre contexte de recherche et avec les outils dont nous disposons, serait la réalisation d'entretiens, accompagnés du visionnage des enregistrements vidéo des repas, en compagnie de chaque participant. Cette méthode d'auto-confrontation à l'image (Theureau, 1992), très en usage dans le domaine de l'ergonomie, a également été utilisée en anthropologie dans notre centre de recherche (Wathelet, 2012). L'idée centrale est de repasser au sujet des extraits choisis des enregistrements vidéo, correspondant à des événements clés (dans notre cas, ce pourrait être le moment où la personne se sert au buffet, effectue un choix particulier, ou quand elle arrête de manger le plat principal pour passer au fromage ou au dessert,...), et de réaliser dans le même temps un entretien individuel permettant l'explicitation de chacun de ces moments clé par l'acteur même de la vidéo ; afin de comprendre la raison de ces différents choix et comment ceux-ci ont été effectués.

9.2 Vers une meilleure validité externe

En plus d'offrir une approche plus complète de l'appétit, notre autre objectif méthodologique était de proposer un contexte de mesure du comportement alimentaire qui soit le plus écologique possible, afin d'assurer une bonne validité externe à notre recherche.

Nous avons mis en évidence que **le lieu d'investigation avait un effet sur les sensations de faim déclarées par les sujets** : les sujets ont rapporté dans le même état physiologique, des niveaux de faim plus élevés à l'Institut Paul Bocuse qu'au CRNH Rhône Alpes. La diminution de l'envie de manger dans le centre de recherche clinique peut être expliquée par l'environnement hospitalier, la position semi-allongée prolongée pendant toute une matinée ou les mesures de calorimétrie indirecte et les prélèvements sanguins effectués en continu pendant l'expérimentation. On peut aussi attribuer les différences dans les niveaux de faim, observés entre les deux lieux, par une attente accrue envers les aliments proposés à l'Institut Paul Bocuse, en particulier à cause de l'appellation même du lieu ; « Paul Bocuse » étant associé à la bonne cuisine. Dans nos protocoles, nous avons essayé de minimiser cet effet en invitant tous les sujets d'étude à une visite de familiarisation à l'environnement et aux aliments proposés, préalablement aux journées au cours desquelles des mesures sur l'appétit étaient réalisées. Si nous n'avons pas mesuré dans notre étude ce biais potentiel lié au fait de venir manger à l'Institut Paul Bocuse, nous avons confirmé les travaux de recherches réalisés en particulier par Meiselman (1992; 2000; 2007) mettant en lumière l'importance

du contexte lorsque l'on étudie l'appétit et plus globalement les comportements alimentaires. Nos résultats mettent en avant l'intérêt de reproduire au plus près des contextes réels de consommation si l'on veut obtenir des résultats extrapolables aux situations de la vie courante.

Dans cette optique, **le restaurant expérimental de l'Institut Paul Bocuse est un lieu particulièrement adapté à l'étude des comportements alimentaires en situation écologique mais contrôlée.** Même si la plupart des auteurs étudiant l'appétit ne prennent aujourd'hui pas en compte le paramètre « situation écologique de consommation » dans l'élaboration des protocoles, quelques équipes font figure d'exception et se sont dotées d'installations adaptées. Ainsi, les équipes de recherche de l'Université de Wageningen aux Pays-Bas peuvent utiliser le « Restaurant of the Future » (<http://www.restaurantvandetoekomst.wur.nl/UK/>) sur leur campus, pour mettre en place des expérimentations et étudier les comportements alimentaires en vie réelle. Par exemple, Bolhuis *et al.* (2011) ont récemment démontré dans ce contexte qu'une réduction de 50 % de la quantité de sel dans le pain ne diminuait pas la consommation de pain au petit déjeuner. Les auteurs mettent en avant le fait que leurs résultats sont extrapolables aux conditions de la vie réelle, grâce au fait que le lieu d'étude n'avait pas l'apparence d'un contexte expérimental. L'Université de Brighton au Royaume-Uni s'est aussi dotée d'un restaurant expérimental appelé le « Culinary Art Studio » (<http://www.culinaryartsstudio.co.uk/>), présenté récemment au 36^{ème} congrès du British Feeding and Drinking Group (BFDG) sous le titre « Exploring dimensions of eating behaviour in restaurant settings » (Ells *et al.*, 2012). Ces initiatives, encore rares, méritent d'être encouragées.

Dans notre étude, le contexte de consommation (restaurant expérimental) représentait à lui seul une originalité, et une avancée vers plus de réalisme, comparativement à la plupart des études sur l'appétit. Par ailleurs, l'offre alimentaire proposée différait fortement des repas test habituellement servis dans les études sur l'appétit. En effet, ceux-ci sont le plus souvent constitués d'un seul item alimentaire, tel qu'un grand plat de pâtes (Gregersen *et al.*, 2008; Lara *et al.*, 2010), du hachis Parmentier (Speechly *et al.*, 1999b), de la pizza (Bellissimo *et al.*, 2008), ou alors de plusieurs aliments de type buffet froid (Arvaniti *et al.*, 2000; Nair *et al.*, 2009). Néanmoins, nous pensons que le caractère écologique de la situation de repas pourrait être encore amélioré dans des études futures. Dans un premier temps, **il serait pertinent d'inclure le paramètre social dans la situation de repas,** comme déjà proposé par certains auteurs (Weber *et al.*, 2004; Reinbach *et al.*, 2010), plutôt que de l'évincer en proposant aux sujets de manger seuls. Dans une étude évaluant l'effet de la consommation de piment sur l'appétit (Reinbach *et al.*, 2010), les participants mangeaient ensemble à la même table ; ils étaient autorisés à parler de tout sauf de leur opinion concernant la nourriture proposée. Dans l'étude de Weber *et al.* (2004), il n'a pas été mis en évidence de différence de

consommation lorsque des sujets mangeaient seuls ou en groupe, alors que des modifications de contexte ont engendré des variations dans l'énergie ingérée. L'hypothèse est faite dans cette étude que le phénomène de facilitation sociale n'a pas été observé entre les sujets d'étude, car ceux-ci ne se connaissant pas avant l'étude, ils ne se sont pas sentis assez à l'aise pour socialiser librement, ce qui confirme les résultats de de Castro (1994) qui a observé une plus grande facilitation sociale entre amis ou personnes d'une même famille, qu'entre personnes moins proches (collègues de travail par exemple). Permettre aux sujets de manger ensemble au sein du restaurant expérimental serait un axe de progrès certain dans l'objectif d'améliorer la validité externe des études sur l'appétit que nous menons dans ce contexte.

En plus du paramètre social, **le paramètre économique pourrait également être inclus dans nos protocoles**, à l'image de ce qui est réalisé dans les études en économie expérimentale (Smith *et al.*, 1993). Nous pourrions par exemple proposer à nos sujets une participation financière pour les aliments consommés, ce qui pourrait en particulier avoir pour effet de diminuer la surconsommation observée lors des repas au buffet et impliquer plus fortement les sujets dans leurs choix alimentaires. Ceci permettrait également de rapprocher la situation de repas proposée d'une situation de la vie réelle ; le critère économique entrant pleinement en jeu dans les décisions d'ordre alimentaire de la vie courante, au même titre que les considérations d'ordre physiologique ou psychologique (Nestle *et al.*, 1998). Ces paramètres économiques et sociaux pourraient être testés dans le cadre d'un concept de restauration régulier de type cafétéria (appelé « Pause déjeuner »), récemment mis en place au restaurant expérimental de l'Institut Paul Bocuse et qui permet au public (par opposition à des sujets recrutés spécifiquement pour une étude), de venir se restaurer à midi. Ceci nécessiterait des réflexions importantes en termes logistique et méthodologique, en particulier en ce qui concerne la pesée des aliments (plus facile dans le cadre d'un buffet individuel que dans un concept de cafétéria), mais ce genre de chevauchement entre des protocoles d'étude spécifiques et des concepts de restauration réguliers du restaurant expérimental devra être réfléchi à l'avenir.

Enfin, parallèlement à l'amélioration du repas de midi *ad libitum*, une réflexion sur les différentes prises du petit déjeuner peut être menée, tant sur leur contenu que sur les modalités de leur consommation. Sur ce dernier point, nous pourrions envisager, dans le cadre des explorations comportementales uniquement, de proposer aux sujets de **prendre leur petit déjeuner (en respectant les différentes modalités) à domicile**. Ceci n'empêcherait pas l'enregistrement concomitant de leurs sensations de faim sur mini-PC. Les sujets se rendraient alors à l'Institut Paul Bocuse uniquement pour le repas de midi au restaurant expérimental.

Toutes ces propositions d'améliorations méthodologiques, autant pour mieux comprendre le concept d'appétit que pour renforcer la validité externe des résultats obtenus, ne sont pas envisageables de façon concomitante, pour des questions de logistique ou d'adhésion au protocole de la part des sujets. Par ailleurs, celles-ci ne doivent en aucun cas être mises en place au détriment d'un bon contrôle de la situation expérimentale. En conclusion, nous pensons que les recherches étudiant l'appétit et les comportements alimentaires doivent, toujours plus, prendre en compte ce genre de considérations et inventer des protocoles incluant des apports méthodologiques en provenance de disciplines variées, et permettant d'obtenir des résultats de recherche extrapolables à la vie réelle.

Chapitre 10 : Bilan et perspectives en termes de santé publique

Après le premier objectif méthodologique, le second objectif de ce travail de thèse était d'étudier les conséquences à court terme de l'augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires sur la balance énergétique (considérant plus particulièrement les différentes facettes de l'appétit : appétit subjectif, physiologie et aspects comportementaux) ainsi que sur des paramètres liés au métabolisme. Partant du constat que les réponses à un fractionnement alimentaire étaient potentiellement différentes dans la littérature entre des sujets de poids normal et des sujets obèses (Mehra *et al.*, 2010), et ayant démontré l'intérêt de réaliser une étude dans une population « contrôle » de poids normal et une population présentant une possible dérégulation de l'appétit et/ou du métabolisme, nous avons mené deux études en considérant séparément ces deux groupes de sujets.

10.1 Fractionnement alimentaire et appétit : des points communs entre sujets de poids normal et obèses,... mais une différence fondamentale

Sur le plan de l'appétit subjectif, à la fois chez les sujets de poids normal et chez les sujets obèses, nous avons mis en évidence qu'**un fractionnement alimentaire dans la matinée entraîne avant le repas de midi une sensation diminuée de la faim, ainsi qu'une sensation augmentée de la satiété.**

La littérature était contrastée sur le sens de la relation pouvant exister entre fréquence des prises alimentaires et sensation de faim, certains trouvant une relation négative (Speechly *et al.*, 1999a; Lemmens *et al.*, 2011), d'autres une relation positive (Leidy *et al.*, 2010a; Munsters *et al.*, 2012) ou encore pas de relation (Speechly *et al.*, 1999b; Mehra *et al.*, 2010). Nos résultats sont concordants chez des sujets de poids normal et obèses ayant suivi le même protocole de recherche, et supportent donc l'hypothèse que fractionner son alimentation sur une matinée induit une diminution de la sensation de faim avant le repas de midi.

D'un point de vue physiologique, malgré les différences importantes que nous avons montrées dans les concentrations de ghréline entre sujets obèses et de poids normal, les résultats obtenus pour ce paramètre ainsi que pour le GLP-1, respectivement des potentiels biomarqueurs de la faim et du rassasiement (de Graaf *et al.*, 2004), sont concordants, dans les deux populations, avec ceux obtenus pour les sensations de faim et de satiété. **Les concentrations plasmatiques de ghréline, mesurées avant le repas de midi, ont été abaissées après le petit déjeuner fractionné, alors que celles de GLP-1 ont été augmentées.** Peu d'études expérimentales ont précédemment exploré les relations entre fréquence des prises alimentaires et hormones de l'appétit (Solomon *et al.*, 2008; Leidy *et al.*,

2010a; Mehra *et al.*, 2010; Lemmens *et al.*, 2011; Munsters *et al.*, 2012). Aucune direction dans le sens possible de cette relation ne se dégage de ces études, les résultats variant en fonction des types de sujets, de protocoles expérimentaux ou de procédures d'analyse. Nous offrons des résultats concordants entre sujets de poids normal et obèses : à la lumière de nos travaux, fractionner son alimentation sur une matinée diminue le niveau de « faim physiologique » et augmente le niveau de « rassasiement physiologique » avant le repas de midi.

Si beaucoup de chercheurs s'intéressent à l'appétit et à l'étude des paramètres pouvant aider à mieux le contrôler, c'est le plus souvent dans l'objectif de parvenir à induire chez des individus une diminution de l'énergie ingérée. Ainsi, même si les données subjectives et physiologiques sont très informatives, ce sont les résultats sur l'ingestion d'énergie des sujets ayant suivi une période de fractionnement, qui constituent le véritable élément permettant de conclure sur l'effet potentiellement bénéfique du fractionnement sur l'appétit. Malheureusement, les consommations alimentaires ne sont pas systématiquement mesurées dans ce type d'études, ce qui est souvent présenté par les auteurs comme une faiblesse dans leur protocole (Jackson *et al.*, 2007; Munsters *et al.*, 2012). En outre, quand ces consommations sont mesurées en situation expérimentale, aucune attention particulière n'est apportée, le plus souvent, au type de repas offert et au caractère écologique de ce repas. Par ailleurs, le comportement alimentaire se limite généralement à la mesure unique de la quantité totale d'énergie ingérée. Dans notre étude, nous avons mis en évidence, dans un contexte écologique de restauration, avec un repas *ad libitum* permettant aux sujets de faire des choix parmi une variété d'aliments appréciés, que le fractionnement alimentaire induisait une diminution des quantités (en grammes) d'aliments consommés à la fois chez les sujets obèses et ceux de poids normal. Ces résultats vont dans le sens des résultats que nous avons obtenus avec les approches subjectives et physiologiques. En revanche, si l'on considère non plus la quantité d'aliments consommés en grammes, mais la quantité d'énergie ingérée en kcal (qui constitue le premier paramètre d'intérêt dans notre questionnement sur les liens entre fractionnement alimentaire et balance énergétique), nous avons trouvé une différence fondamentale entre sujets de poids normal et obèses. **Alors que les sujets de poids normal ont logiquement (à la vue des résultats précédents) diminué leur apport énergétique au repas de midi, suite à un fractionnement alimentaire dans la matinée, aucune différence n'a été mise en évidence chez les sujets obèses.**

Une analyse plus approfondie du comportement alimentaire au cours du repas nous indique que cette diminution de l'énergie ingérée chez les sujets de poids normal s'explique par une baisse des apports en lipides, et que c'est dans le dernier quart du repas que ces apports en lipides ont été diminués. En d'autres termes, après un petit déjeuner fractionné, les sujets de poids normal ont diminué leur consommation d'aliments gras à la fin du repas de midi, les apports pendant les trois

premiers quarts (temporels) de ce même repas ont, eux, été identiques entre conditions. L'analyse du repas de midi chez les sujets obèses révèle que l'apport en énergie provenant des aliments de faible densité énergétique, a été diminué après le petit déjeuner fractionné. Ceci explique la discordance observée chez les obèses, entre les résultats sur la quantité d'aliments consommés en grammes et ceux sur la quantité d'énergie ingérée en kcal. Au-delà du résultat concernant l'effet du fractionnement sur la prise alimentaire suivante, ces données mettent en évidence que, chez les sujets obèses, des différences de niveaux de faim avant les repas n'ont pas engendré de différence dans l'énergie ingérée au cours de ces mêmes repas. Ceci pourrait s'expliquer par une diminution de la sensibilité aux calories ingérées du système de régulation de l'appétit des obèses, alors que la sensibilité au volume ingéré ne semble pas être altérée. Cette hypothèse mériterait d'être testée par la mise en place d'un protocole expérimental spécifique, afin de comprendre les mécanismes pouvant être impliqués dans ce dysfonctionnement.

Nos résultats sur l'effet du fractionnement sur l'énergie ingérée au repas suivant, confirment les données précédemment rapportées chez des sujets de poids normal (Speechly *et al.*, 1999b; Leahy *et al.*, 2000) (cf. Fig. 18A). En revanche, les résultats obtenus chez les sujets obèses vont à l'encontre de ceux de Speechly *et al.* (1999a) (cf. Fig 18B). Comme déjà discuté précédemment, nous attribuons ces discordances aux types différents de repas utilisés dans les deux études. Dans l'étude de Speechly *et al.*, avec un seul item alimentaire, le fractionnement alimentaire a eu un effet positif sur l'énergie ingérée au repas suivant ; en revanche, dans notre étude, lorsque les sujets obèses étaient en présence d'aliments variés, ils n'ont pas montré la même capacité à réduire leur apport énergétique.

A la lumière de l'ensemble de nos résultats sur l'appétit, nous concluons que le fractionnement alimentaire pourrait être une stratégie adaptée à des individus de poids normal dans l'optique de mieux contrôler leur appétit. En revanche, cette même stratégie ne semble pas adaptée pour des personnes obèses qui souhaiteraient diminuer leurs apports énergétiques.

10.2 Fractionnement alimentaire et métabolisme : un effet délétère à long terme ?

Notre objectif était d'aller plus loin que l'évaluation de l'effet du fractionnement alimentaire sur l'appétit, en considérant également son impact sur l'autre versant de la balance énergétique, via la mesure de la thermogénèse induite par l'alimentation, ou encore sur des paramètres métaboliques, comme les cinétiques glycémiques et insuliniques, ou la façon dont les substrats énergétiques étaient utilisés.

Etant donnée la dérégulation métabolique dont peuvent souffrir les sujets obèses, nous pensions mettre en évidence des différences dans l'effet du fractionnement sur les paramètres métaboliques, entre sujets de poids normal et obèses. Nos résultats n'ont pas montré de différence entre les deux groupes de sujets ou d'effet plus marqué du fractionnement alimentaire chez les sujets obèses, comme nous aurions pu l'attendre. Une explication pourrait résider dans les critères de sélection de notre échantillon. En effet, les sujets obèses qui ont participé à notre étude étaient des sujets jeunes (entre 20 et 40 ans, âge moyen = $28,6 \pm 1,5$ ans) présentant une obésité modérée (entre 30 et 35 kg/m², IMC moyen = $31,9 \pm 0,4$ kg/m²), avec une glycémie, une cholestérolémie totale et une triglycéridémie à jeun normales. Mise à part des concentrations plasmatiques d'insuline plus élevées, ces sujets ne présentaient pas de troubles métaboliques très marqués. Il serait pertinent de réaliser une étude avec des sujets plus âgés et/ou présentant une obésité plus avancée, afin d'évaluer les effets métaboliques du fractionnement alimentaire dans une population avec des dérégulations métaboliques plus importantes.

Dans les deux groupes de sujets, nous avons montré que le **fractionnement alimentaire était responsable d'un aplatissement des cinétiques glycémiques et insuliniques**, à l'image des résultats de la littérature, comme ceux de Jenkins *et al.* (1990) (cf. Fig. 15), ceux plus récents de Solomon *et al.* (2008) (cf. Fig. 16) ou encore ceux de Holmstrup *et al.* (2010). En fonction des protocoles et des périodes d'études considérées, ces cinétiques différentes se sont traduites dans la littérature par des différences dans les aires sous la courbe (Jenkins *et al.*, 1992; Jones *et al.*, 1993) ou pas de différence (Solomon *et al.*, 2008). Mais toutes les études convergent vers le fait que le fractionnement alimentaire induit une perte du jeûne inter-prandial, avec des glycémies et des insulïnémies qui restent de façon prolongée au-dessus de leur niveau basal. Nous n'avons pas trouvé de différence dans les aires sous la courbe pour les cinétiques glycémiques, alors que les aires sous la courbe pour l'insuline étaient diminuées en condition fractionnée F4, à la fois chez les sujets obèses et ceux de poids normal. Comme l'insuline inhibe la lipolyse et promeut la lipogenèse, cette diminution nette de la production d'insuline a été supposée favoriser l'utilisation des lipides plutôt que leur stockage (Ma *et al.*, 2003; Danone Vitapole, 2004). Dans nos travaux, nous avons montré que **le fractionnement alimentaire induisait des aires sous la courbe diminuées pour les acides gras non estérifiés, ce qui reflète une diminution de la lipolyse** et qui va à l'encontre de l'hypothèse précédente. Comme proposé dans une étude récente (Munsters *et al.*, 2012), nous faisons l'hypothèse que la cinétique insulïnémique pourrait être plus importante que la production nette d'insuline, et que la perte de l'état de jeûne inter-prandial, caractérisé par des concentrations d'insuline au-dessus de leur niveau basal, serait à l'origine d'une inhibition de la lipolyse en condition de fractionnement alimentaire.

Cette prise en compte, soit de la production nette d'insuline, soit de la cinétique insulinémique associée à la perte du jeûne inter-prandial, entraîne des conclusions et hypothèses opposées selon les auteurs. Certains (Danone Vitapole, 2004) considèrent que l'oxydation lipidique serait favorisée par la consommation plus fréquente d'aliments, alors que d'autres font l'hypothèse inverse (Munsters *et al.*, 2012) : une consommation de trois repas par jour (vs. un fractionnement alimentaire) donnerait l'opportunité à l'organisme de prolonger les périodes de jeûne inter-prandial, et ainsi d'augmenter l'oxydation lipidique. Nous n'avons pas observé de différences dans les oxydations lipidiques et glucidiques dans notre étude, ni chez les sujets de poids normal, ni chez les sujets obèses. Néanmoins, nous pensons que l'hypothèse de Munsters *et al.* (2012) doit être testée sur une période plus longue et/ou chez des sujets plus âgés ou présentant une obésité plus sévère que dans nos travaux, ou chez des sujets diabétiques. En effet, ce type de sujets présente une flexibilité métabolique plus réduite, c'est-à-dire une capacité diminuée à passer de l'utilisation d'un type de substrat à un autre, et pourrait avoir plus de difficultés à s'adapter à une augmentation de la fréquence des prises alimentaires (Munsters *et al.*, 2012).

Nous avons démontré dans notre étude **une diminution de la thermogénèse induite par l'alimentation en réponse à un fractionnement alimentaire**. En d'autres termes, l'énergie dépensée en réponse à l'ingestion du même petit déjeuner a été plus importante lorsque ce petit déjeuner a été consommé en une prise, que lorsque celui-ci a été fractionné en quatre prises durant la matinée. Ceci a été montré à la fois chez les sujets de poids normal et chez les sujets obèses. Nos résultats sont en ligne avec ceux de Tai *et al.* (1991) qui ont comparé la thermogénèse alimentaire induite par l'ingestion d'une même portion alimentaire en 1 vs. 6 prises sur une période de cinq heures. Cependant, la littérature n'est pas unanime sur cette question (LeBlanc *et al.*, 1993). Nous pensons qu'une évaluation de la thermogénèse induite par l'alimentation est nécessaire sur une plus longue période (24h), à l'image des travaux de Smeets *et al.* (2008a) qui ont comparé la thermogénèse induite par l'ingestion d'une même portion en 2 vs. 3 prises alimentaires et n'ont pas montré de différence. Ce type d'études doit être encouragé en proposant une fréquence plus élevée de prises alimentaires, Smeets *et al.* ayant évalué l'effet d'une période de jeûne augmentée et non d'une perte du jeûne inter-prandial. Même si l'effet que nous avons mis en évidence n'est pas d'une grande amplitude et ne permet pas de conclure, par lui-même, à un effet délétère du fractionnement alimentaire, il convient de mettre en garde sur cette diminution de la dépense énergétique qui pourrait favoriser la prise de poids sur de longues périodes.

A la lumière de nos résultats, nous concluons à une absence d'effet bénéfique du fractionnement alimentaire sur les paramètres métaboliques mesurés. Même si nous avons montré une

diminution de la quantité d'insuline secrétée suite au fractionnement, nous faisons l'hypothèse que la cinétique insulinémique induite par des prises alimentaires plus fréquentes, qui témoigne d'une absence de jeûne inter-prandial, peut s'avérer délétère à long terme, en orientant l'organisme vers des voies métaboliques favorisant le stockage des lipides, plutôt que leur utilisation. La diminution de la dépense énergétique également observée en situation de fractionnement alimentaire, nous incite à mettre en garde sur le potentiel effet négatif à long terme du fractionnement alimentaire sur les paramètres métaboliques.

10.3 Bilan général, implications et perspectives

A l'heure du bilan, nous souhaitons répondre principalement à deux questions. La première est la suivante :

« Le fractionnement alimentaire est-il à conseiller dans une perspective de perte de poids, voire de maintien du poids corporel ? »

A la vue de l'ensemble de nos résultats, sur l'appétit et le métabolisme, **nous considérons que fractionner son alimentation n'est pas une bonne stratégie chez les personnes obèses pour perdre du poids.** En effet, nous n'avons pas mis en évidence d'effet positif du fractionnement sur la quantité d'énergie ingérée, et nous avons montré des effets n'allant pas dans un sens bénéfique sur la dépense énergétique et sur l'orientation métabolique induite par le fractionnement alimentaire. Ces effets méritent une exploration à plus long terme, mais notre étude qui est informative sur l'impact « en aigu » du fractionnement ne laisse pas présager de bénéfice sur une plus longue période.

Notre conclusion chez des sujets de poids normal sera plus nuancée. En effet, malgré les mêmes interrogations sur le plan métabolique que chez les obèses, le fractionnement alimentaire peut être une stratégie adéquate chez des personnes de poids normal dans l'optique d'un meilleur contrôle de l'appétit. Nous avons mis en évidence un effet du fractionnement alimentaire sur les consommations au repas suivant et particulièrement en fin de repas. Aussi, **fractionner ses prises alimentaires peut être conseillé chez des personnes qui ont du mal à limiter leurs apports énergétiques au cours des repas**, en particulier provenant des aliments gras consommés à la fin des repas (type fromage ou pâtisseries). L'effet négatif du fractionnement sur la dépense énergétique (via la thermogénèse induite par l'alimentation) est de niveau moindre que l'effet positif sur les apports énergétiques. L'étude des effets à long terme reste nécessaire pour éclairer l'impact du fractionnement sur les orientations métaboliques.

La deuxième question se situe dans un contexte plus large et en dehors de toute stratégie de perte de poids :

« Que nous apprend notre étude sur les effets de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires, observée récemment dans les sociétés occidentales ? »

Notre protocole n'a pas été conçu pour évaluer à proprement parler l'effet du grignotage ou du snacking (considéré ici dans le sens de prises alimentaires en dehors des repas planifiés) sur la santé. En effet, dans notre étude, la ration nutritionnelle, le nombre et l'horaire des prises alimentaires étaient fixés par le protocole, alors que dans la vie quotidienne une personne qui grignote n'a pas ces contraintes et va le plus souvent réaliser des choix alimentaires dirigés plutôt vers des aliments de haute densité énergétique (Bellisle, 1995; de Graaf, 2006). Indépendamment de la séquence temporelle de ces prises alimentaires hors repas, ces choix tournés vers des aliments denses en énergie ont été montrés comme étant potentiellement délétères et responsables d'une balance énergétique positive (Bellisle, 1995; Louis-Sylvestre, 2000; de Graaf, 2006). Notre étude nous renseigne sur les effets du grignotage, indépendamment de ces choix alimentaires particuliers. En d'autres termes, indépendamment de ce qui est consommé, quels sont les effets de manger fréquemment sans respecter une période de jeûne entre les repas ? Nous avons démontré, indépendamment des choix alimentaires hors repas, que le fait de ne pas respecter de période de jeûne inter-prandial, pouvait avoir un effet métabolique délétère à la fois chez des sujets de poids normal et chez des sujets obèses. Concernant les effets positifs sur l'appétit que nous avons observé, uniquement chez des sujets de poids normal, il est fort probable qu'en situation non contrôlée, les choix alimentaires hautement énergétiques souvent observés hors repas, aient plus d'impact sur la balance énergétique totale que le bénéfique sur l'énergie ingérée au cours des repas. Des protocoles spécifiques devront être mis en place pour tester cette hypothèse. Néanmoins, **l'ensemble de nos résultats et l'état actuel des connaissances nous incitent à déconseiller fortement aux personnes obèses les prises alimentaires hors repas. Chez les personnes de poids normal, si un fractionnement alimentaire contrôlé peut être conseillé pour mieux gérer son appétit au moment des repas, nous déconseillons la consommation de prises alimentaires hors-repas, si celle-ci n'est pas accompagnée d'une volonté particulière de contrôler la taille et le contenu de ces prises** (cette volonté n'était pas présente chez nos sujets, mais ce contrôle était induit par la conception même de notre protocole).

Il existe un large public à la recherche de stratégies permettant de mieux gérer son appétit, soit dans l'optique de perdre du poids, soit dans celle de résister plus facilement aux tentations alimentaires, afin de ne pas prendre de poids (Halford *et al.*, 2012). **L'industrie alimentaire**, toujours à la recherche de nouveaux marchés, l'a bien compris et la quantité de produits alimentaires mise sur le marché pour aider à mieux gérer son appétit et son poids est en très forte augmentation ces dernières années (Halford *et al.*, 2012). La question de l'utilité et de l'efficacité de tels produits alimentaires et des allégations santé qui leur sont associées est actuellement sujette à débat dans la communauté scientifique (Booth *et al.*, 2010; Bellisle *et al.*, 2011; Booth *et al.*, 2011; de Graaf, 2011; Mela, 2011; Smeets *et al.*, 2011) et la nouvelle réglementation pour l'autorisation de ces allégations en Europe est aussi en grand chantier (Gilsenan, 2011; Halford *et al.*, 2012); la question des méthodologies utilisées pour mettre en évidence les effets de produits spécifiques sur le contrôle de l'appétit, fait partie des éléments centraux de cette refonte (Halford *et al.*, 2012). Ce travail de thèse constitue un apport méthodologique conséquent dans cette optique d'évaluer et de valider les effets sur l'appétit de produits alimentaires, avant leur mise sur le marché par l'industrie. Par ailleurs, nos résultats sur l'effet du fractionnement alimentaire sur l'appétit pourraient également être le point de départ d'une conception de produits alimentaires innovants. On pourrait par exemple imaginer un système de « boîtes compartimentées » proposant des solutions prêtes à l'emploi pour des personnes de poids normal qui souhaiteraient fractionner leur alimentation dans l'objectif de mieux contrôler leur appétit.

En plus des perspectives méthodologiques déjà proposées dans le chapitre précédent, nous pouvons ajouter le besoin d'évaluer les effets du fractionnement alimentaire sur une plus longue période. Une durée de 24h minimum, répétée à plusieurs reprises, serait à préconiser, afin d'évaluer plus précisément que dans notre protocole la persistance de l'effet sur une journée, ainsi que sa répétabilité. De plus, étant donnés nos résultats concernant l'effet du fractionnement sur le contrôle de l'appétit chez le sujet mince, il serait pertinent, **en perspective**, de considérer un groupe de sujets, de poids normal, mais chez qui la préoccupation de ne pas prendre de poids est importante, par exemple, des sujets féminins présentant une restriction cognitive. Nous avons également déjà évoqué que le rythme habituel de consommation des sujets, pouvait jouer un rôle important sur les résultats comportementaux (Westerterp-Plantenga *et al.*, 1994) ou physiologiques (Chapelot *et al.*, 2006) observés en réponse à une manipulation expérimentale de la fréquence des prises alimentaires. Aussi, alors que nos sujets étaient tous des consommateurs habituels de 3 ou 4 prises alimentaires quotidiennes, nous proposons d'évaluer les effets d'une modification de la fréquence des prises alimentaires chez des personnes habituées à consommer 6 prises minimum par jour. Il pourrait être intéressant par exemple de cibler une population particulière, de culture différente de

la culture française, habituée à manger fréquemment dans la journée. Une population de culture chinoise pourrait, par exemple, être intéressante à étudier. Chiva (1997) rapportait que, quand cela est (financièrement) possible, dans la culture chinoise, les personnes mangent, en dehors des repas structurés, à n'importe quelle heure du jour ou de la nuit, en fonction de leurs besoins et sans aucune norme. Les réponses physiologiques, subjectives et comportementales d'une modification des rythmes alimentaires dans une population de ce type seraient particulièrement informatives sur l'effet d'une fréquence élevée des prises alimentaires sur une longue période.

Notre travail de thèse s'inscrit en réponse au besoin exprimé par la communauté scientifique de mettre en place des études contrôlées pour mieux comprendre les effets de la fréquence des prises alimentaires sur la santé (Mattson, 2005). Nous avons évalué les effets à court terme, chez le sujet de poids normal et chez le sujet obèse, d'une augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires. Nos résultats constituent un apport conséquent dans la compréhension de l'impact de la modification des rythmes alimentaires et des stratégies utilisant la modulation de la fréquence des repas comme outil pour mieux contrôler son poids. En perspective, il semblerait pertinent de considérer plus largement les aspects temporels de la prise alimentaire, en prenant en compte deux autres facteurs, liés au facteur fréquence, à savoir **la régularité des prises alimentaires**, ainsi que le moment de la journée à laquelle celles-ci sont effectuées. Farshchi *et al.* (2004a; 2004b; 2005) avaient mis en évidence des effets potentiellement délétères d'une irrégularité des rythmes alimentaires. Plus de travaux sont nécessaires afin de comprendre les effets de la dé-concentration et de la dés-implantation de l'alimentation (Herpin, 1988). Par ailleurs, une étude plus globale des effets de la **distribution circadienne des prises alimentaires** est à privilégier. Les enquêtes alimentaires effectuées auprès de sujets de poids normal et de sujets obèses montrent de façon consistante que les personnes obèses ont tendance à manger moins le matin que les personnes de poids normal, et à manger plus dans l'après-midi et la soirée (Bellisle, 2004). Ces éléments incitent à privilégier les prises alimentaires matinales, ce qui va dans le sens des recommandations incitant à la prise d'un petit déjeuner, qui aurait un impact bénéfique sur la satiété, la qualité globale de l'alimentation, ou encore les performances intellectuelles et l'état psychologique (Lecerf *et al.*, 2011). Malgré ces quelques données, l'impact du rythme circadien des prises alimentaires sur la balance énergétique et la santé reste un volet de nos comportements alimentaires très peu exploré et méritant une attention toute particulière dans des études futures (Ekmekcioglu *et al.*, 2011).

Nos comportements alimentaires, tout comme les prévalences d'obésité, évoluent rapidement, et la nécessité de comprendre les liens existant entre les deux est primordiale. Offrir des stratégies aux personnes de poids normal pour mieux contrôler leur appétit afin de garder un poids stable, ou aux personnes en surpoids ou obèses pour favoriser la perte de poids, est également une priorité. Par ailleurs, étant donnée la complexité des comportements alimentaires humains et la diversité des paramètres ayant un impact sur le contrôle de l'appétit, nous encourageons, dans la lignée des propositions de Köster (2009), des approches multidisciplinaires, des échanges méthodologiques entre les différentes disciplines et tout particulièrement le développement de méthodologies d'étude écologiques afin d'obtenir des résultats expérimentaux qui soient extrapolables au monde réel.

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Distribution circadienne de la prise alimentaire chez le rat de laboratoire.....	16
Figure 2 : Fréquence moyenne quotidienne des prises alimentaires chez les enfants (A) et adultes (B) aux Etats-Unis entre 1977-78 et 2003-06	17
Figure 3 : Quelques exemples des effets potentiels du fractionnement alimentaire diffusés via Internet.....	20
Figure 4 : La cascade de la satiété	26
Figure 5 : Les différentes composantes de la balance énergétique.....	28
Figure 6 : Représentation schématique des voies impliquées dans la régulation physiologique de l'appétit	30
Figure 7 : Profil sécrétoire de la ghréline sur 24 heures chez le sujet sain	34
Figure 8 : Influence des signaux périphériques d'appétit sur la balance énergétique	38
Figure 9 : Représentation schématique des interactions entre environnement, aliments, physiologie, psychologie et comportements alimentaires.....	52
Figure 10 : Avantages et inconvénients des études sur l'appétit menées en vie réelle et en laboratoire	53
Figure 11 : Effets chez la souris de différents schémas temporels d'ingestion de calories sur le poids corporel.	61
Figure 12 : Relations entre la fréquence des prises alimentaires quotidiennes, le surpoids, l'hypercholestérolémie et la tolérance au glucose chez 379 hommes.	62
Figure 13 : Evolution de la sensation de faim dans un essai d'intervention de 8 semaines comparant deux fréquences de prises alimentaires : un seul vs. trois repas par jour.	70
Figure 14 : Evolution de la sensation de faim dans un essai d'intervention de 6 mois visant à perdre du poids et comparant deux fréquences de prises alimentaires : trois repas par jour vs. « grazing ». 71	
Figure 15 : Réponses glycémique, insulinique et de la concentration plasmatique en acides gras non estérifiés, après l'ingestion de 50g de glucose dans 700ml d'eau, en une prise de 5-10 min vs. en « sirotage » continu pendant 3,5 heures..	74
Figure 16 : Réponses insuliniques et aires sous la courbe pour l'insuline, après une même portion alimentaire consommée en 2 prises, 12 prises, ou une période de jeûne, sur une durée de 8h.....	75
Figure 17 : Sensation de satiété au cours d'une journée passée à consommer la même ration calorique en 13 ou en 3 prises, chez 11 patients diabétiques non insulino-dépendants.	77
Figure 18 : Quantité d'énergie consommée au cours d'un repas de midi <i>ad libitum</i> , après un petit déjeuner fractionné en 5 prises, comparé au même petit déjeuner consommé en 1 prise, chez 8 sujets de poids normal (A) et chez 7 sujets obèses (B).	78
Figure 19 : Cinétiques de la concentration plasmatique de ghréline (et aires sous la courbe correspondantes), au cours de l'ingestion d'une même portion d'aliments en 2 vs. 12 prises, chez 5 hommes de poids normal.....	80

Figure 20 : Photographies du buffet <i>ad libitum</i> individuel proposé aux sujets au restaurant expérimental de l'Institut Paul Bocuse (A), d'un sujet en situation de choix (B) et d'un sujet en situation de consommation (C) au cours d'un repas.	89
Figure 21 : Schéma de l'étude de validation du buffet	102
Figure 22 : Etude SAFRAN : schéma général (A) et mesures réalisées durant les explorations métaboliques au CRNH et les explorations comportementales à l'IPB (B).	114
Figure 23 : Petits déjeuners proposés aux sujets participant à l'étude SAFRAN.	118
Figure 24 : Exemple d'une échelle visuelle analogique (EVA) utilisée lors du projet de thèse.....	120
Figure 25 : Photographie du repas de midi standardisé servi aux sujets lors des journées d'explorations métaboliques de l'étude SAFRAN.	121
Figure 26 : Photographie d'un sujet pendant des mesures de calorimétrie indirecte au CRNH Rhône-Alpes.	123
Figure 27 : Cinétiques de ghréline (A) et d'insuline (B) chez les sujets de poids normal (« lean men ») et les sujets obèses de l'étude SAFRAN.	187

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification internationale de la maigreur, du poids normal, du surpoids et de l'obésité selon l'Organisation Mondiale de la Santé, par le biais de l'indice de masse corporelle	18
Tableau 2 : Modifications de l'appétit en réponse à un stress émotionnel dans différentes études ..	43
Tableau 3 : Revue des études épidémiologiques transversales explorant les liens entre la fréquence habituelle des prises alimentaires et les paramètres anthropométriques ou de composition corporelle, chez l'adulte.	64
Tableau 4 : Revue des études expérimentales explorant les liens entre la fréquence des prises alimentaires et l'appétit.	79
Tableau 5 : Composition nutritionnelle du repas de midi standardisé servi aux sujets lors des journées d'explorations métaboliques de l'étude SAFRAN.	121

Références Bibliographiques

- Adolph E.F. (1947). Urges to eat and drink in rats. *Am J Physiol* 151(1): 110-25.
- Adrian T.E., Ferri G.L., Bacarese-Hamilton A.J., Fuessl H.S., Polak J.M. & Bloom S.R. (1985). Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 89(5): 1070-7.
- Almiron-Roig E., Chen Y. & Drewnowski A. (2003). Liquid calories and the failure of satiety: how good is the evidence? *Obes Rev* 4(4): 201-12.
- American Dietetic Association (2012). Adult Weight Management Evidence-Based Nutrition Practice Guideline. Retrieved 19/07/2012, from <http://www.adaevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=3014&auth=1>.
- Amosa T., Rush E. & Plank L. (2001). Frequency of eating occasions reported by young New Zealand Polynesian and European women. *Pac Health Dialog* 8(1): 59-65.
- Andersson I. & Rössner S. (1996). Meal patterns in obese and normal weight men: the 'Gustaf' study. *Eur J Clin Nutr* 50(10): 639-46.
- Anson R.M., Guo Z., de Cabo R., Lyun T., Rios M., Hagepanos A., et al. (2003). Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(10): 6216-20.
- Arnold L.M., Ball M.J., Duncan A.W. & Mann J. (1993). Effect of isoenergetic intake of three or nine meals on plasma lipoproteins and glucose metabolism. *Am J Clin Nutr* 57(3): 446-51.
- Arnold L.M., Ball M.J. & Mann J. (1994). Metabolic effects of alterations in meal frequency in hypercholesterolaemic individuals. *Atherosclerosis* 108(2): 167-74.
- Arock M., Desnault H., Viars P. & Guillosson J.J. (1985). Determination of total nitrogen in biological milieux by chemoluminescence: a comparison with the reference method. *Ann Biol Clin (Paris)* 43(6): 872-4.
- Arvaniti K., Richard D. & Tremblay A. (2000). Reproducibility of energy and macronutrient intake and related substrate oxidation rates in a buffet-type meal. *Br J Nutr* 83(5): 489-95.
- Bachman J.L. & Raynor H.A. (2012). Effects of manipulating eating frequency during a behavioral weight loss intervention: a pilot randomized controlled trial. *Obesity (Silver Spring)* 20(5): 985-92.
- Bagdade J.D., Bierman E.L. & Porte D. (1967). The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *J Clin Invest* 46(10): 1549-57.
- Bandini L.G., Schoeller D.A., Cyr H.N. & Dietz W.H. (1990). Validity of reported energy intake in obese and nonobese adolescents. *Am J Clin Nutr* 52(3): 421-5.
- Basdevant A., Craplet C. & Guy-Grand B. (1993). Snacking patterns in obese French women. *Appetite* 21(1): 17-23.
- Batterham R.L., Cowley M.A., Small C.J., Herzog H., Cohen M.A., Dakin C.L., et al. (2002). Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 418(6898): 650-4.
- Batterham R.L., Cohen M.A., Ellis S.M., Le Roux C.W., Withers D.J., Frost G.S., et al. (2003). Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med* 349(10): 941-8.
- Beauchene R.E., Bales C.W., Bragg C.S., Hawkins S.T. & Mason R.L. (1986). Effect of age of initiation of feed restriction on growth, body composition, and longevity of rats. *J Gerontol* 41(1): 13-9.
- Beglinger C., Degen L., Matzinger D., D'Amato M. & Drewe J. (2001). Loxiglumide, a CCK-A receptor antagonist, stimulates calorie intake and hunger feelings in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280(4): R1149-54.

- Belko A.Z. & Barbieri T.F. (1987). Effect of meal size and frequency on the thermic effect of food. *Nutr Res* 7(3): 237-242.
- Bell R., Meiselman H.L., Pierson B.J. & Reeve W.G. (1994). Effects of adding an Italian theme to a restaurant on the perceived ethnicity, acceptability, and selection of foods. *Appetite* 22(1): 11-24.
- Bellisle F. & Le Magnen J. (1981). The structure of meals in humans: eating and drinking patterns in lean and obese subjects. *Physiol Behav* 27(4): 649-58.
- Bellisle F., Lucas F., Amrani R. & Le Magnen J. (1984). Deprivation, palatability and the micro-structure of meals in human subjects. *Appetite* 5(2): 85-94.
- Bellisle F. (1995). Grignotage et distribution circadienne de la consommation alimentaire. *Cah. Nutr. Diét* 30(6): 387-394.
- Bellisle F., McDevitt R. & Prentice A.M. (1997). Meal frequency and energy balance. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S57-70.
- Bellisle F. & Dalix A.M. (2001). Cognitive restraint can be offset by distraction, leading to increased meal intake in women. *Am J Clin Nutr* 74(2): 197-200.
- Bellisle F., Dalix A.M., Mennen L., Galan P., Hercberg S., de Castro J.M., et al. (2003). Contribution of snacks and meals in the diet of French adults: a diet-diary study. *Physiol Behav* 79(2): 183-9.
- Bellisle F., Dalix A.M. & Slama G. (2004). Non food-related environmental stimuli induce increased meal intake in healthy women: comparison of television viewing versus listening to a recorded story in laboratory settings. *Appetite* 43(2): 175-180.
- Bellisle F. (2004). Impact of the daily meal pattern on energy balance. *Scand J Nutr* 48(3): 114-118.
- Bellisle F. (2005). Faim et satiété, contrôle de la prise alimentaire. *EMC - Endocrinologie* 2(4): 179-97.
- Bellisle F. (2010). Densité énergétique et prise alimentaire. *Cah. Nutr. Diét* 45(4): 169-173.
- Bellisle F. & Tremblay A. (2011). Satiety and body weight control. Promise and compromise. Comment on 'Satiety. No way to slim'. *Appetite* 57(3): 769-71;discussion 784-90.
- Bellissimo N., Thomas S.G., Pencharz P.B., Goode R.C. & Anderson G.H. (2008). Reproducibility of short-term food intake and subjective appetite scores after a glucose preload, ventilation threshold, and body composition in boys. *Appl Physiol Nutr Metab* 33(2): 326-37.
- Benelam B. (2009). Satiation, satiety and their effects on eating behaviour. *Nutr Bull* 34(2): 126-173.
- Benton D. (2002). Carbohydrate ingestion, blood glucose and mood. *Neurosci Biobehav Rev* 26(3): 293-308.
- Benton D. & Brock H. (2010). Mood and the macro-nutrient composition of breakfast and the mid-day meal. *Appetite* 55(3): 436-40.
- Berg C., Lappas G., Wolk A., Strandhagen E., Toren K., Rosengren A., et al. (2009). Eating patterns and portion size associated with obesity in a Swedish population. *Appetite* 52(1): 21-6.
- Bernstein I.L., Zimmerman J.C., Czeisler C.A. & Weitzman E.D. (1981). Meal patterns in "free-running" humans. *Physiol Behav* 27(4): 621-3.
- Berry S.L., Beatty W.W. & Klesges R.C. (1985). Sensory and social influences on ice cream consumption by males and females in a laboratory setting. *Appetite* 6(1): 41-5.

- Berteus Forslund H., Lindroos A.K., Sjostrom L. & Lissner L. (2002). Meal patterns and obesity in Swedish women—a simple instrument describing usual meal types, frequency and temporal distribution. *Eur J Clin Nutr* 56(8): 740-7.
- Berteus Forslund H., Torgerson J.S., Sjostrom L. & Lindroos A.K. (2005). Snacking frequency in relation to energy intake and food choices in obese men and women compared to a reference population. *Int J Obes (Lond)* 29(6): 711-9.
- Berteus Forslund H., Klingstrom S., Hagberg H., Londahl M., Torgerson J.S. & Lindroos A.K. (2008). Should snacks be recommended in obesity treatment? A 1-year randomized clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 62(11): 1308-17.
- Bhutani S. & Varady K.A. (2009). Nibbling versus feasting: which meal pattern is better for heart disease prevention? *Nutr Rev* 67(10): 591-8.
- Birch L.L., McPhee L., Shoba B.C., Steinberg L. & Krehbiel R. (1987). "Clean up your plate": Effects of child feeding practices on the conditioning of meal size. *Learn Motiv* 18(3): 301-17.
- Birch L.L., Fisher J.O. & Davison K.K. (2003). Learning to overeat: maternal use of restrictive feeding practices promotes girls' eating in the absence of hunger. *Am J Clin Nutr* 78(2): 215-20.
- Bisogni C.A., Falk L.W., Madore E., Blake C.E., Jastran M., Sobal J., et al. (2007). Dimensions of everyday eating and drinking episodes. *Appetite* 48(2): 218-31.
- Black A.E., Prentice A.M., Goldberg G.R., Jebb S.A., Bingham S.A., Livingstone M.B., et al. (1993). Measurements of total energy expenditure provide insights into the validity of dietary measurements of energy intake. *J Am Diet Assoc* 93(5): 572-9.
- Blass E.M., Anderson D.R., Kirkorian H.L., Pempek T.A., Price I. & Koleini M.F. (2006). On the road to obesity: Television viewing increases intake of high-density foods. *Physiol behav* 88(4): 597-604.
- Blond E., Maitrepierre C., Normand S., Sothier M., Roth H., Goudable J., et al. (2011). A new indirect calorimeter is accurate and reliable for measuring basal energy expenditure, thermic effect of food and substrate oxidation in obese and healthy subjects. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 6: e7-e15.
- Blundell J.E. & Burley V.J. (1987). Satiety, satiety and the action of fibre on food intake. *Int J Obes* 11 Suppl 1: 9-25.
- Blundell J.E., Lawton C.L., Cotton J.R. & Macdiarmid J.I. (1996). Control of human appetite: implications for the intake of dietary fat. *Annu Rev Nutr* 16: 285-319.
- Blundell J.E. & MacDiarmid J.I. (1997). Fat as a risk factor for overconsumption: satiety, satiety, and patterns of eating. *J Am Diet Assoc* 97(7 Suppl): S63-9.
- Blundell J.E. & Stubbs J. (2003). Diet Composition and the control of food intake in humans. In G. A. Bray and C. Bouchard, *Handbook of obesity. Etiology and pathophysiology*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Blundell J.E., de Graaf C., Finlayson G., Halford J.C., Hetherington M., King N., et al. (2009). Measuring food intake, hunger, satiety, and satiation in the laboratory. In D. B. Allison and M. L. Baskin, *Handbook of assessment methods for eating behaviors and weight-related problems: measures, theory, and research*. Los Angeles: Sage.
- Blundell J.E., de Graaf C., Hulshof T., Jebb S., Livingstone B., Lluch A., et al. (2010). Appetite control: methodological aspects of the evaluation of foods. *Obes Rev* 11(3): 251-70.

- Bolhuis D.P., Temme E.H., Koeman F.T., Noort M.W., Kremer S. & Janssen A.M. (2011). A salt reduction of 50% in bread does not decrease bread consumption or increase sodium intake by the choice of sandwich fillings. *J Nutr* 141(12): 2249-55.
- Booth D.A. & Nouwen A. (2010). Satiety. No way to slim. *Appetite* 55(3): 718-21.
- Booth D.A. & Nouwen A. (2011). Weight is controlled by eating patterns, not by foods or drugs. Reply to comments on "Satiety. No way to slim". *Appetite* 57(3): 784-90.
- Bowen J., Noakes M. & Clifton P.M. (2006). 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(8): 2913-9.
- Brondel L., Romer M.A., Van Wymelbeke V., Pineau N., Jiang T., Hanus C., et al. (2009). Variety enhances food intake in humans: role of sensory-specific satiety. *Physiol Behav* 97(1): 44-51.
- Brondel L., Romer M.A., Nougues P.M., Touyarou P. & Davenne D. (2010). Acute partial sleep deprivation increases food intake in healthy men. *Am J Clin Nutr* 91(6): 1550-9.
- Broom D.R., Stensel D.J., Bishop N.C., Burns S.F. & Miyashita M. (2007). Exercise-induced suppression of acylated ghrelin in humans. *J Appl Physiol* 102(6): 2165-71.
- Broom D.R., Batterham R.L., King J.A. & Stensel D.J. (2009). Influence of resistance and aerobic exercise on hunger, circulating levels of acylated ghrelin, and peptide YY in healthy males. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296(1): R29-35.
- Brunstrom J.M., Shakeshaft N.G. & Scott-Samuel N.E. (2008). Measuring 'expected satiety' in a range of common foods using a method of constant stimuli. *Appetite* 51(3): 604-14.
- Brunstrom J.M., Shakeshaft N.G. & Alexander E. (2010). Familiarity changes expectations about fullness. *Appetite* 54(3): 587-90.
- Brunstrom J.M. (2011). The control of meal size in human subjects: a role for expected satiety, expected satiation and premeal planning. *Proc Nutr Soc* 70(2): 155-61.
- Burns A.A., Livingstone M.B., Welch R.W., Dunne A. & Rowland I.R. (2002). Dose-response effects of a novel fat emulsion (Olibra) on energy and macronutrient intakes up to 36 h post-consumption. *Eur J Clin Nutr* 56(4): 368-77.
- Callahan H.S., Cummings D.E., Pepe M.S., Breen P.A., Matthys C.C. & Weigle D.S. (2004). 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(3): 1319-24.
- Cameron J.D., Cyr M.J. & Doucet E. (2010). Increased meal frequency does not promote greater weight loss in subjects who were prescribed an 8-week equi-energetic energy-restricted diet. *Br J Nutr* 103(8): 1098-101.
- Campbell N.A. (1995). *Biologie*. Bruxelles, De Boeck.
- Campfield L.A., Smith F.J., Guisez Y., Devos R. & Burn P. (1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269(5223): 546-9.
- Caprio S., Daniels S.R., Drewnowski A., Kaufman F.R., Palinkas L.A., Rosenbloom A.L., et al. (2008). Influence of race, ethnicity, and culture on childhood obesity: implications for prevention and treatment: a consensus statement of Shaping America's Health and the Obesity Society. *Diabetes Care* 31(11): 2211-21.

- Castetbon K., Vernay M., Malon A., Salanave B., Deschamps V., Roudier C., *et al.* (2009). Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006-2007). *Br J Nutr* 102(5): 733-43.
- Challis B.G., Pinnock S.B., Coll A.P., Carter R.N., Dickson S.L. & O'Rahilly S. (2003). Acute effects of PYY3-36 on food intake and hypothalamic neuropeptide expression in the mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 311(4): 915-9.
- Chapelot D., Marmonier C., Aubert R., Allegre C., Gausseres N., Fantino M., *et al.* (2006). Consequence of omitting or adding a meal in man on body composition, food intake, and metabolism. *Obesity (Silver Spring)* 14(2): 215-27.
- Charzewska J., Kulesza W., Brzezinska J. & Chwojnowska Z. (1981). Relationship between obesity or overweight development and the frequency of meals, their distribution during the day and consumption of atherogenic food products. *Zywnienie Czlowieka* 8: 217-227.
- Chin-Chance C., Polonsky K.S. & Schoeller D.A. (2000). Twenty-four-hour leptin levels respond to cumulative short-term energy imbalance and predict subsequent intake. *J Clin Endocrinol Metab* 85(8): 2685-91.
- Chiva M. (1997). Cultural aspects of meals and meal frequency. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S21-8.
- Clemens L.H., Slawson D.L. & Klesges R.C. (1999). The effect of eating out on quality of diet in premenopausal women. *J Am Diet Assoc* 99(4): 442-4.
- CNRS (1974). *Trésor de la langue Française*. CNRS.
- Coates A.O., Potter J.D., Caan B.J., Edwards S.L. & Slattery M.L. (2002). Eating frequency and the risk of colon cancer. *Nutr Cancer* 43(2): 121-6.
- Cummings D.E., Purnell J.Q., Frayo R.S., Schmidova K., Wisse B.E. & Weigle D.S. (2001). A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50(8): 1714-9.
- Cummings D.E., Frayo R.S., Marmonier C., Aubert R. & Chapelot D. (2004). Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287(2): 297-304.
- Cummings D.E., Foster-Schubert K.E. & Overduin J. (2005). Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. *Curr Drug Targets* 6(2): 153-69.
- Daddoun F. & Romon M. (2004). Régulation physiologique du comportement alimentaire. *Cah. Nutr. Diét* 39(6): 422-8.
- Dallosso H.M., Murgatroyd P.R. & James W.P. (1982). Feeding frequency and energy balance in adult males. *Hum Nutr Clin Nutr* 36C(1): 25-39.
- Danone Vitapole (2004). Eating Frequency and Health. Nutrition and health collection. Montrouge, J. L. Eurotext, from http://www.danone.com/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=42.
- de Castro J.M. & de Castro E.S. (1989). Spontaneous meal patterns of humans: influence of the presence of other people. *Am J Clin Nutr* 50(2): 237-47.
- de Castro J.M., Brewer E.M., Elmore D.K. & Orozco S. (1990). Social facilitation of the spontaneous meal size of humans occurs regardless of time, place, alcohol or snacks. *Appetite* 15(2): 89-101.
- de Castro J.M. & Brewer E.M. (1992). The amount eaten in meals by humans is a power function of the number of people present. *Physiol Behav* 51(1): 121-5.

- de Castro J.M. (1993). Genetic influences on daily intake and meal patterns of humans. *Physiol Behav* 53(4): 777-82.
- de Castro J.M. (1994). Family and friends produce greater social facilitation of food intake than other companions. *Physiol Behav* 56(3): 445-455.
- de Castro J.M. (1995). Social facilitation of food intake in humans. *Appetite* 24(3): 260.
- de Castro J.M., Bellisle F., Feunekes G.I.J., Dalix A.M. & De Graaf C. (1997). Culture and meal patterns: a comparison of the food intake of free-living American, Dutch, and French students. *Nutr Res* 17(5): 807-829.
- de Castro J.M. (1997). Socio-cultural determinants of meal size and frequency. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S39-54; discussion S54-5.
- de Castro J.M. (1999a). What are the major correlates of macronutrient selection in Western populations? *Proc Nutr Soc* 58(4): 755-63.
- de Castro J.M. (1999b). Behavioral genetics of food intake regulation in free-living humans. *Nutrition* 15(7-8): 550-4.
- de Castro J.M., Bellisle F. & Dalix A.M. (2000a). Palatability and intake relationships in free-living humans: measurement and characterization in the French. *Physiol Behav* 68(3): 271-7.
- de Castro J.M., Bellisle F., Dalix A.M. & Pearcey S.M. (2000b). Palatability and intake relationships in free-living humans. characterization and independence of influence in North Americans. *Physiol Behav* 70(3-4): 343-50.
- de Castro J.M. & Stroebele N. (2002). Food intake in the real world: implications for nutrition and aging. *Clin Geriatr Med* 18(4): 685-97.
- de Graaf C., Blom W.A., Smeets P.A., Stafleu A. & Hendriks H.F. (2004). Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr* 79(6): 946-61.
- de Graaf C. (2006). Effects of snacks on energy intake: an evolutionary perspective. *Appetite* 47(1): 18-23.
- de Graaf C. (2011). Trustworthy satiety claims are good for science and society. Comment on 'Satiety. No way to slim'. *Appetite* 57(3): 778-83; discussion 784-90.
- de Jonge L. & Bray G.A. (1997). The thermic effect of food and obesity: a critical review. *Obes Res* 5(6): 622-31.
- de Jonge L. & Bray G.A. (2002). The thermic effect of food is reduced in obesity. *Nutr Rev* 60(9): 295-7; author reply 299-300.
- de Saint Pol T. (2005). Quand est-ce qu'on mange?: Le temps des repas en France (analyse quantitative). *Terrains & travaux* (9): 51-72.
- Delzenne N.M., Blundell J.E., Brouns F., Cunningham K., De Graaf C., Erkner A., et al. (2010). Gastrointestinal targets of appetite regulation in humans. *Obes Rev* 11(3): 234-250.
- Diliberti N., Bordi P.L., Conklin M.T., Roe L.S. & Rolls B.J. (2004). Increased portion size leads to increased energy intake in a restaurant meal. *Obes Res* 12(3): 562-8.
- Disse E. (2010). Ghréline : récompense alimentaire et homéostasie du glucose. Lyon, Université Lyon 1.
- Douglas M. & Nicod M. (1974). Taking the biscuit: the structure of British meals. *New Soc* 30(637): 744-7.

- Douglas M. (1979). Les structures du culinaire. *Communications* 31(1): 145-170.
- Dreon D.M., Frey-Hewitt B., Ellsworth N., Williams P.T., Terry R.B. & Wood P.D. (1988). Dietary fat:carbohydrate ratio and obesity in middle-aged men. *Am J Clin Nutr* 47(6): 995-1000.
- Drewnowski A. & Darmon N. (2005). The economics of obesity: dietary energy density and energy cost. *Am J Clin Nutr* 82(1 Suppl): 265S-273S.
- Drewnowski A. & Bellisle F. (2007). Liquid calories, sugar, and body weight. *Am J Clin Nutr* 85(3): 651-61.
- Druce M.R., Wren A.M., Park A.J., Milton J.E., Patterson M., Frost G., *et al.* (2005). Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. *Int J Obes (Lond)* 29(9): 1130-6.
- Drummond S.E., Crombie N.E., Cursiter M.C. & Kirk T.R. (1998). Evidence that eating frequency is inversely related to body weight status in male, but not female, non-obese adults reporting valid dietary intakes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22(2): 105-12.
- Dunne J.L. & Dahl W.J. (2007). A novel solution is needed to correct low nutrient intakes in elderly long-term care residents. *Nutr Rev* 65(3): 135-8.
- Duval K., Strychar I., Cyr M.J., Prud'homme D., Rabasa-Lhoret R. & Doucet E. (2008). Physical activity is a confounding factor of the relation between eating frequency and body composition. *Am J Clin Nutr* 88(5): 1200-5.
- Edelstein S.L., Barrett-Connor E.L., Wingard D.L. & Cohn B.A. (1992). Increased meal frequency associated with decreased cholesterol concentrations; Rancho Bernardo, CA, 1984-1987. *Am J Clin Nutr* 55(3): 664-9.
- Ekmekcioglu C. & Touitou Y. (2011). Chronobiological aspects of food intake and metabolism and their relevance on energy balance and weight regulation. *Obes Rev*(12): 14-25.
- Ello-Martin J.A., Ledikwe J.H. & Rolls B.J. (2005). The influence of food portion size and energy density on energy intake: implications for weight management. *Am J Clin Nutr* 82(1 Suppl): 236S-241S.
- Ells H., Chambers L., Woodward K. & Yeomans M.R. (2012). *Exploring dimensions of eating behaviour in restaurant settings*. 36th Annual Meeting of the British Feeding and Drinking Group, Brighton, (to be published in *Appetite*).
- Elmstahl S., Blabolil V., Fex G., Kuller R. & Steen B. (1987). Hospital nutrition in geriatric long-term care medicine. I. Effects of a changed meal environment. *Compr Gerontol A* 1(1): 29-33.
- Engell D., Kramer M., Malafi T., Salomon M. & Leshner L. (1996). Effects of effort and social modeling on drinking in humans. *Appetite* 26(2): 129-38.
- Fabry P., Hejl Z., Fodor J., Braun T. & Zvolankova K. (1964). The Frequency of Meals. Its Relation to Overweight, Hypercholesterolaemia, and Decreased Glucose-Tolerance. *Lancet* 2(7360): 614-5.
- Farshchi H.R., Taylor M.A. & Macdonald I.A. (2004a). Decreased thermic effect of food after an irregular compared with a regular meal pattern in healthy lean women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28(5): 653-60.
- Farshchi H.R., Taylor M.A. & Macdonald I.A. (2004b). Regular meal frequency creates more appropriate insulin sensitivity and lipid profiles compared with irregular meal frequency in healthy lean women. *Eur J Clin Nutr* 58(7): 1071-7.
- Farshchi H.R., Taylor M.A. & Macdonald I.A. (2005). Beneficial metabolic effects of regular meal frequency on dietary thermogenesis, insulin sensitivity, and fasting lipid profiles in healthy obese women. *Am J Clin Nutr* 81(1): 16-24.

- Feinle C., Chapman I.M., Wishart J. & Horowitz M. (2002). Plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) responses to duodenal fat and glucose infusions in lean and obese men. *Peptides* 23(8): 1491-5.
- Ferber C. & Cabanac M. (1987). Influence of noise on gustatory affective ratings and preference for sweet or salt. *Appetite* 8(3): 229-235.
- Ferrannini E. (1988). The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 37(3): 287-301.
- Feunekes G.I., de Graaf C. & van Staveren W.A. (1995). Social facilitation of food intake is mediated by meal duration. *Physiol Behav* 58(3): 551-8.
- Finkelstein B. & Fryer B.A. (1971). Meal frequency and weight reduction of young women. *Am J Clin Nutr* 24(4): 465-8.
- Fischler C. (1979). Gastro-nomie et gastro-anomie. *Communications* 31(1): 189-210.
- Fischler C. (1990). *L'omnivore*. Paris, Odile Jacob.
- Flandrin J.L. (1993). Heures des repas entre 1100 et 1808. In M. Aymard, C. Grignon and F. Sabban, *Le temps de manger; alimentation, emploi du temps et rythmes sociaux*. Paris: MSH-INRA.
- Flint A., Raben A., Astrup A. & Holst J.J. (1998). Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest* 101(3): 515-20.
- Flood-Obbagy J.E. & Rolls B.J. (2009). The effect of fruit in different forms on energy intake and satiety at a meal. *Appetite* 52(2): 416-22.
- Gallouin F. & Le Magnen J. (1987). Évolution historique des concepts de faim, satiété et appétits. *Reproduction Nutrition Développement* 27(1B): 109-128.
- Garrow J.S., Durrant M., Blaza S., Wilkins D., Royston P. & Sunkin S. (1981). The effect of meal frequency and protein concentration on the composition of the weight lost by obese subjects. *Br J Nutr* 45(1): 5-15.
- Gerstein D.E., Woodward-Lopez G., Evans A.E., Kelsey K. & Drewnowski A. (2004). Clarifying concepts about macronutrients' effects on satiation and satiety. *J Am Diet Assoc* 104(7): 1151-3.
- Gilsenan M. (2011). Nutrition & Health Claims in the European Union: A Regulatory Overview. *Trends Food Sci Tech* 22(10): 536-42.
- Goldberg G.R., Black A.E., Jebb S.A., Cole T.J., Murgatroyd P.R., Coward W.A., *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(12): 569-81.
- Goodrick C.L., Ingram D.K., Reynolds M.A., Freeman J.R. & Cider N.L. (1983). Differential effects of intermittent feeding and voluntary exercise on body weight and lifespan in adult rats. *J Gerontol* 38(1): 36-45.
- Granata G.P. & Brandon L.J. (2002). The thermic effect of food and obesity: discrepant results and methodological variations. *Nutr Rev* 60(8): 223-33.
- Greeley G.H., Jeng Y.J., Gomez G., Hashimoto T., Hill F.L., Kern K., *et al.* (1989). Evidence for regulation of peptide-YY release by the proximal gut. *Endocrinology* 124(3): 1438-43.
- Gregersen N.T., Flint A., Bitz C., Blundell J.E., Raben A. & Astrup A. (2008). Reproducibility and power of ad libitum energy intake assessed by repeated single meals. *Am J Clin Nutr* 87(5): 1277-81.
- Gregori D. & Maffei C. (2007). Snacking and obesity: urgency of a definition to explore such a relationship. *J Am Diet Assoc* 107(4): 562; discussion 562-3.

- Gregori D., Foltran F., Ghidina M. & Berchiolla P. (2011). Understanding the influence of the snack definition on the association between snacking and obesity: a review. *Int J Food Sci Nutr* 62(3): 270-5.
- Grignon C. (1993). La règle, la mode et le travail : la genèse sociale du modèle des repas français et contemporain. In M. Aymard, C. Grignon and F. Sabban, *Le temps de manger; alimentation, emploi du temps et rythmes sociaux*. Paris: MSH-INRA.
- Gutzwiller J.P., Goke B., Drewe J., Hildebrand P., Ketterer S., Handschin D., et al. (1999). Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut* 44(1): 81-6.
- Gwinup G., Byron R.C., Roush W.H., Kruger F.A. & Hamwi G.J. (1963). Effect of Nibbling Versus Gorging on Serum Lipids in Man. *Am J Clin Nutr* 13: 209-13.
- Halaas J.L., Gajiwala K.S., Maffei M., Cohen S.L., Chait B.T., Rabinowitz D., et al. (1995). Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269(5223): 543-6.
- Halatchev I.G., Ellacott K.L., Fan W. & Cone R.D. (2004). Peptide YY3-36 inhibits food intake in mice through a melanocortin-4 receptor-independent mechanism. *Endocrinology* 145(6): 2585-90.
- Halford J.C. & Harrold J.A. (2012). Satiety-enhancing products for appetite control: science and regulation of functional foods for weight management. *Proc Nutr Soc* 71(2): 350-62.
- Hampel J.S., Heaton C.L. & Taylor C.A. (2003). Snacking patterns influence energy and nutrient intakes but not body mass index. *J Hum Nutr Diet* 16(1): 3-11.
- Hanks A.S., Just D.R., Smith L.E. & Wansink B. (2012). Healthy convenience: nudging students toward healthier choices in the lunchroom. *J Public Health (Oxf)* doi:10.1093/pubmed/fds003.
- Hatori M., Vollmers C., Zarrinpar A., Dittacchio L., Bushong E.A., Gill S., et al. (2012). Time-Restricted Feeding without Reducing Caloric Intake Prevents Metabolic Diseases in Mice Fed a High-Fat Diet. *Cell Metab* 15(6): 848-60.
- Hejda S. & Fabry P. (1964). Frequency of Food Intake in Relation to Some Parameters of the Nutritional Status. *Nutr Dieta Eur Rev Nutr Diet* 64(6): 216-28.
- Hellbruegge T., Lange J.E., Stehr K. & Rutenfranz J. (1964). Circadian Periodicity of Physiological Functions in Different Stages of Infancy and Childhood. *Ann N Y Acad Sci* 117: 361-73.
- Herman C.P. (1993). Effects of heat on appetite. In, *Nutritional Needs in Hot Environments: Applications for Military Personnel in Field Operations* Washington, DC: National Academy Press.
- Herpin N. (1988). Le repas comme institution. Compte rendu d'une enquête exploratoire. *R Franç Sociol* 29(3): 503-521.
- Hetherington M., Foster R., Newman T., Anderson A.S. & Norton G. (2006). Understanding variety: tasting different foods delays satiation. *Physiol Behav* 87(2): 263-71.
- Hewlett P., Smith A. & Lucas E. (2009). Grazing, cognitive performance and mood. *Appetite* 52(1): 245-8.
- Higgs S. (2002). Memory for recent eating and its influence on subsequent food intake. *Appetite* 39(2): 159-66.
- Higgs S. & Woodward M. (2009). Television watching during lunch increases afternoon snack intake of young women. *Appetite* 52(1): 39-43.
- Holmbäck I., Ericson U., Gullberg B. & Wirfält E. (2010). A high eating frequency is associated with an overall healthy lifestyle in middle-aged men and women and reduced likelihood of general and central obesity in men. *Br J Nutr* 104(7): 1065-73.

- Holmstrup M.E., Owens C.M., Fairchild T.J. & Kanaley J.A. (2010). Effect of meal frequency on glucose and insulin excursions over the course of a day. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 5(6): e277-e280.
- Holt S.H., Miller J.C., Petocz P. & Farmakalidis E. (1995). A satiety index of common foods. *Eur J Clin Nutr* 49(9): 675-90.
- Howarth N.C., Huang T.T., Roberts S.B., Lin B.H. & McCrory M.A. (2007). Eating patterns and dietary composition in relation to BMI in younger and older adults. *Int J Obes (Lond)* 31(4): 675-84.
- Huang T.T., Roberts S.B., Howarth N.C. & McCrory M.A. (2005). Effect of screening out implausible energy intake reports on relationships between diet and BMI. *Obes Res* 13(7): 1205-17.
- Hue L. & Taegtmeier H. (2009). The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297(3): E578-91.
- Jackson S.J., Leahy F.E., Jebb S.A., Prentice A.M., Coward W.A. & Bluck L.J. (2007). Frequent feeding delays the gastric emptying of a subsequent meal. *Appetite* 48(2): 199-205.
- Jahns L., Siega-Riz A.M. & Popkin B.M. (2001). The increasing prevalence of snacking among US children from 1977 to 1996. *J Pediatr* 138(4): 493-8.
- Jenkins D.J., Wolever T.M., Vuksan V., Brighenti F., Cunnane S.C., Rao A.V., et al. (1989). Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency. *N Engl J Med* 321(14): 929-34.
- Jenkins D.J., Wolever T.M., Ocana A.M., Vuksan V., Cunnane S.C., Jenkins M., et al. (1990). Metabolic effects of reducing rate of glucose ingestion by single bolus versus continuous sipping. *Diabetes* 39(7): 775-81.
- Jenkins D.J., Ocana A., Jenkins A.L., Wolever T.M., Vuksan V., Katzman L., et al. (1992). Metabolic advantages of spreading the nutrient load: effects of increased meal frequency in non-insulin-dependent diabetes. *Am J Clin Nutr* 55(2): 461-7.
- Jenkins D.J., Khan A., Jenkins A.L., Illingworth R., Pappu A.S., Wolever T.M., et al. (1995). Effect of nibbling versus gorging on cardiovascular risk factors: serum uric acid and blood lipids. *Metabolism* 44(4): 549-55.
- Joannic J.L., Oppert J.M., Lahlou N., Basdevant A., Auboiron S., Raison J., et al. (1998). Plasma leptin and hunger ratings in healthy humans. *Appetite* 30(2): 129-38.
- Johnson G.H. & Anderson G.H. (2010). Snacking definitions: impact on interpretation of the literature and dietary recommendations. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50(9): 848-71.
- Johnstone A.M., Stubbs R.J. & Harbron C.G. (1996). Effect of overfeeding macronutrients on day-to-day food intake in man. *Eur J Clin Nutr* 50(7): 418-30.
- Johnstone A.M., Shannon E., Whybrow S., Reid C.A. & Stubbs R.J. (2000). Altering the temporal distribution of energy intake with isoenergetically dense foods given as snacks does not affect total daily energy intake in normal-weight men. *Br J Nutr* 83(1): 7-14.
- Jones P.J., Leitch C.A. & Pederson R.A. (1993). Meal-frequency effects on plasma hormone concentrations and cholesterol synthesis in humans. *Am J Clin Nutr* 57(6): 868-74.
- Kanarek R. (1997). Psychological effects of snacks and altered meal frequency. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S105-18; discussion 118-20.
- Kandelman D. (1997). Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: new perspectives. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S121-8.

- Kant A.K., Schatzkin A., Graubard B.I. & Ballard-Barbash R. (1995). Frequency of eating occasions and weight change in the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 19(7): 468-74.
- Kieffer T.J. & Habener J.F. (2000). The adipoinular axis: effects of leptin on pancreatic beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278(1): E1-E14.
- Kinabo J.L. & Durnin J.V. (1990). Effect of meal frequency on the thermic effect of food in women. *Eur J Clin Nutr* 44(5): 389-95.
- King N.A., Burley V.J. & Blundell J.E. (1994). Exercise-induced suppression of appetite: effects on food intake and implications for energy balance. *Eur J Clin Nutr* 48(10): 715-24.
- King S. & Gibney M. (1999). Dietary advice to reduce fat intake is more successful when it does not restrict habitual eating patterns. *J Am Diet Assoc* 99(6): 685-9.
- Kirk T.R. (2000). Role of dietary carbohydrate and frequent eating in body-weight control. *Proc Nutr Soc* 59(3): 349-58.
- Kissileff H.R., Pi-Sunyer F.X., Thornton J. & Smith G.P. (1981). C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *Am J Clin Nutr* 34(2): 154-60.
- Kissileff H.R. (1992). Where should human eating be studied and what should be measured? *Appetite* 19(1): 61-8; discussion 84-6.
- Kissileff H.R. (2000). Ingestive behavior microstructure, basic mechanisms and clinical applications. *Neurosci Biobehav Rev* 24(2): 171-2.
- Kissileff H.R. & Guss J.L. (2001). Microstructure of eating behavior in humans. *Appetite* 36(1): 70-8.
- Klesges R.C., Bartsch D., Norwood J.D., Kautznan D. & Haugrud S. (1984). The effects of selected social and environmental variables on the eating behavior of adults in the natural environment. *Int J Eat Disord* 3(4): 35-41.
- Koh J. & Pliner P. (2009). The effects of degree of acquaintance, plate size, and sharing on food intake. *Appetite* 52(3): 595-602.
- Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H. & Kangawa K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402(6762): 656-60.
- Köster E.P. (2009). Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Qual Pref* 20(2): 70-82.
- Kristensen S.T. (2000). Social and cultural perspectives on hunger, appetite and satiety. *Eur J Clin Nutr* 54(6): 473-8.
- Kristensen S.T., Holm L., Raben A. & Astrup A. (2002). Achieving "proper" satiety in different social contexts--qualitative interpretations from a cross-disciplinary project, sociomaet. *Appetite* 39(3): 207-15.
- La Bounty P.M., Campbell B.I., Wilson J., Galvan E., Berardi J., Kleiner S.M., et al. (2011). International Society of Sports Nutrition position stand: meal frequency. *J Int Soc Sports Nutr* 8(1): 4.
- Lara J., Taylor M.A. & Macdonald I.A. (2010). Is ad libitum energy intake in overweight subjects reproducible in laboratory studies using the preload paradigm? *Eur J Clin Nutr* 64(9): 1028-31.
- Larson D.E., Rising R., Ferraro R.T. & Ravussin E. (1995). Spontaneous overfeeding with a 'cafeteria diet' in men: effects on 24-hour energy expenditure and substrate oxidation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 19(5): 331-7.

- Latreille M. & Ouellette F.R. (2008). *Le repas familial. Recension d'écrits*. Montreal, INRS.
- Laville M. & Riou J.P. (2001). L'énergie. In A. Basdevant, M. Laville and E. Lerebours, *Traité de nutrition clinique de l'adulte*: Flammarion Médecine-Sciences.
- Laville M. (2006) Composantes de la dépense énergétique. *L'obésité : un problème d'actualité, une question d'avenir*, 81-88, from <http://www.institut-servier.com/download/obesite2/7.pdf>.
- Layne K.A. (1990). Feeding strategies for the dysphagic patient: a nursing perspective. *Dysphagia* 5(2): 84-8.
- Le Gall D. & Allain P. (2001). Applications des techniques de réalité virtuelle à la neuropsychologie clinique. *Champ psychosomatique*(2): 25-38.
- Le Magnen J. (1971). Advances in studies on the physiological control and regulation of food intake. In S. J.M., *Progress in Physiological Psychology*. New York: Academic Press.
- Le Magnen J. (1992). *Neurobiology of feeding and nutrition*. San Diego, Academic Press.
- Leahy F.E., Jebb S.A., Moore M.S. & Prentice A.M. (2000). Effect of meal frequency and exercise on subsequent energy intake in lean men. *Int J Obes (Lond)* 24(Suppl 1): S15.
- LeBlanc J., Mercier I. & Nadeau A. (1993). Components of postprandial thermogenesis in relation to meal frequency in humans. *Can J Physiol Pharmacol* 71(12): 879-83.
- Lecerf J.M., Cayzele A. & Bal S. (2011). Petit déjeuner, est-ce utile? *Cah. Nutr. Diét* 46: 30-39.
- Lehmann G. (2002). Meals and mealtime. In H. Walker, *The Meal - Proceedings of the oxford symposium on food and cookery 2001*: Prospect Books.
- Leidy H.J., Armstrong C.L., Tang M., Mattes R.D. & Campbell W.W. (2010a). The influence of higher protein intake and greater eating frequency on appetite control in overweight and obese men. *Obesity (Silver Spring)* 18(9): 1725-32.
- Leidy H.J., Tang M., Armstrong C.L., Martin C.B. & Campbell W.W. (2010b). The effects of consuming frequent, higher protein meals on appetite and satiety during weight loss in overweight/obese men. *Obesity (Silver Spring)* 19(4): 818-24.
- Leidy H.J. & Campbell W.W. (2011). The effect of eating frequency on appetite control and food intake: brief synopsis of controlled feeding studies. *J Nutr* 141(1): 154-7.
- Lemmens S.G., Martens E.A., Born J.M., Martens M.J. & Westerterp-Plantenga M.S. (2011). Staggered Meal Consumption Facilitates Appetite Control without Affecting Postprandial Energy Intake. *J Nutr* 141(3): 482-8.
- Levitsky D.A. & Youn T. (2004). The more food young adults are served, the more they overeat. *J Nutr* 134(10): 2546-9.
- Lichtman S.W., Pisarska K., Berman E.R., Pestone M., Dowling H., Offenbacher E., et al. (1992). Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. *N Engl J Med* 327(27): 1893-8.
- Liddle R.A. (1998). On the measurement of cholecystokinin. *Clin Chem* 44(5): 903-4.
- Lieux E.M. & Manning C.K. (1992). Evening meals selected by college students: impact of the foodservice system. *J Am Diet Assoc* 92(5): 560-6.

- Lippl F., Erdmann J., Steiger A., Lichter N., Czogalla-Peter C., Bidlingmaier M., *et al.* (2011). Low-dose ghrelin infusion--evidence against a hormonal role in food intake. *Regul Pept* 174(1-3): 26-31.
- Lissner L., Stevens J., Levitsky D.A., Rasmussen K.M. & Strupp B.J. (1988). Variation in energy intake during the menstrual cycle: implications for food-intake research. *Am J Clin Nutr* 48(4): 956-62.
- Lissner L. & Heitmann B.L. (1995). Dietary fat and obesity: evidence from epidemiology. *Eur J Clin Nutr* 49(2): 79-90.
- Little T.J., Pilichiewicz A.N., Russo A., Phillips L., Jones K.L., Nauck M.A., *et al.* (2006). Effects of intravenous glucagon-like peptide-1 on gastric emptying and intragastric distribution in healthy subjects: relationships with postprandial glycemic and insulinemic responses. *J Clin Endocrinol Metab* 91(5): 1916-23.
- Littré E. (1876). *Dictionnaire de la langue française*. Lib. Hachette et Cie.
- Livingstone M.B., Prentice A.M., Strain J.J., Coward W.A., Black A.E., Barker M.E., *et al.* (1990). Accuracy of weighed dietary records in studies of diet and health. *BMJ* 300(6726): 708-12.
- Livingstone M.B. & Black A.E. (2003). Markers of the validity of reported energy intake. *J Nutr* 133 Suppl 3: 895S-920S.
- Lluch A., Kahn J., Stricker-Krongrad A., Ziegler O., Drouin P. & Mejean L. (1996). Internal validation of a French version of the Dutch eating behaviour questionnaire. *Eur Psychiatry* 11(4): 198-203.
- Louis-Sylvestre J. (2000). Repas ou grignotage? La différence n'est ni quantitative, ni temporelle: elle est physiologique. *Cholé-doc* 57.
- Low S., Chin M.C. & Deurenberg-Yap M. (2009). Review on epidemic of obesity. *Ann Acad Med Singapore* 38(1): 57-9.
- Ludwig D.S., Majzoub J.A., Al-Zahrani A., Dallal G.E., Blanco I. & Roberts S.B. (1999). High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics* 103(3): E26.
- Luquet S. & Cruciani-Guglielmacci C. (2009). Le contrôle centrale de la balance énergétique. *Cah. Nutr. Diét* 44: 17-25.
- Ma Y., Bertone E.R., Stanek E.J., 3rd, Reed G.W., Hebert J.R., Cohen N.L., *et al.* (2003). Association between eating patterns and obesity in a free-living US adult population. *Am J Epidemiol* 158(1): 85-92.
- Macht M. (2008). How emotions affect eating: a five-way model. *Appetite* 50(1): 1-11.
- MacIntosh C.G., Morley J.E., Wishart J., Morris H., Jansen J.B., Horowitz M., *et al.* (2001). Effect of exogenous cholecystokinin (CCK)-8 on food intake and plasma CCK, leptin, and insulin concentrations in older and young adults: evidence for increased CCK activity as a cause of the anorexia of aging. *J Clin Endocrinol Metab* 86(12): 5830-7.
- Magee C.A., Iverson D.C., Huang X.F. & Caputi P. (2008). A link between chronic sleep restriction and obesity: methodological considerations. *Public Health* 122(12): 1373-81.
- Maljaars P.W., Peters H.P., Mela D.J. & Masclee A.A. (2008). Ileal brake: a sensible food target for appetite control. A review. *Physiol Behav* 95(3): 271-81.
- Mann J. (1997). Meal frequency and plasma lipids and lipoproteins. *Br J Nutr* 77 Suppl 1: S83-90.
- Marin-Guerrero A.C., Gutierrez-Fisac J.L., Guallar-Castillon P., Banegas J.R. & Rodriguez-Artalejo F. (2008). Eating behaviours and obesity in the adult population of Spain. *Br J Nutr* 100(5): 1142-8.

- Marmonier C., Chapelot D. & Louis-Sylvestre J. (2000). Effects of macronutrient content and energy density of snacks consumed in a satiety state on the onset of the next meal. *Appetite* 34(2): 161-8.
- Mars M., de Graaf C., van Rossum C.T., de Groot C.P., Seidell J.C. & Kok F.J. (2003). Leptin and insulin responses to a four-day energy-deficient diet in men with different weight history. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27(5): 574-81.
- Marteau T.M., Ogilvie D., Roland M., Suhrcke M. & Kelly M.P. (2011). Judging nudging: can nudging improve population health? *BMJ* 342: d228.
- Martins C., Morgan L.M., Bloom S.R. & Robertson M.D. (2007). Effects of exercise on gut peptides, energy intake and appetite. *J Endocrinol* 193(2): 251-8.
- Mathey M.F., Vanneste V.G., de Graaf C., de Groot L.C. & van Staveren W.A. (2001). Health effect of improved meal ambiance in a Dutch nursing home: a 1-year intervention study. *Prev Med* 32(5): 416-23.
- Mattes R.D., Hollis J., Hayes D. & Stunkard A.J. (2005). Appetite: measurement and manipulation misgivings. *J Am Diet Assoc* 105(5 Suppl 1): S87-97.
- Mattes R.D. (2006). Fluid calories and energy balance: the good, the bad, and the uncertain. *Physiol Behav* 89(1): 66-70.
- Matthys C., De Henauw S., Devos C. & De Backer G. (2003). Estimated energy intake, macronutrient intake and meal pattern of Flemish adolescents. *Eur J Clin Nutr* 57(2): 366-75.
- Mattson M.P. (2005). The need for controlled studies of the effects of meal frequency on health. *Lancet* 365(9475): 1978-80.
- Matzinger D., Degen L., Drewe J., Meuli J., Duebendorfer R., Ruckstuhl N., *et al.* (2000). The role of long chain fatty acids in regulating food intake and cholecystokinin release in humans. *Gut* 46(5): 688-693.
- McBride A., Wise A., McNeill G. & James W.P. (1990). The pattern of food consumption related to energy intake. *J Hum Nutr Diet* 3: 27-32.
- McCrary M.A., Howarth N.C., Roberts S.B. & Huang T.T. (2011). Eating frequency and energy regulation in free-living adults consuming self-selected diets. *J Nutr* 141(1): 148-53.
- McGowan M.K., Andrews K.M. & Grossman S.P. (1992). Chronic intrahypothalamic infusions of insulin or insulin antibodies alter body weight and food intake in the rat. *Physiol Behav* 51(4): 753-66.
- Mehra R., Tsalikian E., Chenard C.A., Zimmerman M.B. & Sivitz W.I. (2010). Feeding frequency and appetite in lean and obese prepubertal children. *Obesity (Silver Spring)* 19(3): 560-7.
- Meiselman H.L. (1992). Methodology and theory in human eating research. *Appetite* 19(1): 49-55.
- Meiselman H.L., Johnson J.L., Reeve W. & Crouch J.E. (2000). Demonstrations of the influence of the eating environment on food acceptance. *Appetite* 35(3): 231-7.
- Meiselman H.L. (2007). The impact of context and environment on consumer food choice. In L. Frewer and H. van Trijp, *Understanding consumers of food products*: Cambridge: Woodhead.
- Mekary R.A., Giovannucci E., Willett W.C., van Dam R.M. & Hu F.B. (2012a). Eating patterns and type 2 diabetes risk in men: breakfast omission, eating frequency, and snacking. *Am J Clin Nutr* 95(5): 1182-9.
- Mekary R.A., Hu F.B., Willett W.C., Chiuve S., Wu K., Fuchs C., *et al.* (2012b). The joint association of eating frequency and diet quality with colorectal cancer risk in the Health Professionals Follow-up Study. *Am J Epidemiol* 175(7): 664-72.

- Mela D.J. (2011). Satiety. Let's put claims in the right context. Comment on 'Satiety. No way to slim'. *Appetite* 57(3): 774-7; discussion 784-90.
- Melton P.M., Kissileff H.R. & Pi-Sunyer F.X. (1992). Cholecystokinin (CCK-8) affects gastric pressure and ratings of hunger and fullness in women. *Am J Physiol* 263(2): R452-6.
- Mesas A.E., Munoz-Pareja M., Lopez-Garcia E. & Rodriguez-Artalejo F. (2011). Selected eating behaviours and excess body weight: a systematic review. *Obes Rev* 13(2): 106-35.
- Metzner H.L., Lamphiear D.E., Wheeler N.C. & Larkin F.A. (1977). The relationship between frequency of eating and adiposity in adult men and women in the Tecumseh Community Health Study. *Am J Clin Nutr* 30(5): 712-5.
- Meyers A.W., Stunkard A.J. & Coll M. (1980). Food accessibility and food choice. A test of Schachter's externality hypothesis. *Arch Gen Psychiatry* 37(10): 1133-5.
- Mills J.P., Perry C.D. & Reicks M. (2010). Eating Frequency is Associated With Energy Intake but Not Obesity in Midlife Women. *Obesity (Silver Spring)* 19(3): 552-9.
- Mokdad A.H., Ford E.S., Bowman B.A., Dietz W.H., Vinicor F., Bales V.S., et al. (2003). Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* 289(1): 76-9.
- Morgane P.J. & Jacobs H.L. (1969). Hunger and satiety. *World Rev Nutr Diet* 10: 100-213.
- Munsters M.J.M. & Saris W.H.M. (2012). Effects of Meal Frequency on Metabolic Profiles and Substrate Partitioning in Lean Healthy Males. *PLoS One* 7(6): e38632.
- Murphy K.G. & Bloom S.R. (2004). Gut hormones in the control of appetite. *Exp Physiol* 89(5): 507-16.
- Murray M. & Vickers Z. (2009). Consumer views of hunger and fullness. A qualitative approach. *Appetite* 53(2): 174-82.
- Myers A. & Hansen C.H. (2003). *Psychologie expérimentale*. Paris, De Boeck Université.
- Nair N.S., Brennan I.M., Little T.J., Gentilcore D., Hausken T., Jones K.L., et al. (2009). Reproducibility of energy intake, gastric emptying, blood glucose, plasma insulin and cholecystokinin responses in healthy young males. *Br J Nutr* 101(7): 1094-102.
- Nazare J.A., Sauvinet V., Normand S., Guerin-Deremaux L., Gabert L., Desage M., et al. (2011). Impact of a resistant dextrin with a prolonged oxidation pattern on day-long ghrelin profile. *J Am Coll Nutr* 30(1): 63-72.
- Nestle M., Wing R., Birch L., DiSogra L., Drewnowski A., Middleton S., et al. (1998). Behavioral and social influences on food choice. *Nutr Rev* 56(5): S50-74.
- Nielsen S.J., Siega-Riz A.M. & Popkin B.M. (2002). Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: similar shifts seen across age groups. *Obes Res* 10(5): 370-8.
- Nikolic M., Nikic D., Lazarevic K., Stankovic A. & Mladenovic I. (2005). Frequency of daily meal consumption and their quantity as risk factors for the development of obesity in workers. *Facta Universitatis* 2(5): 465-70.
- North A.C. (1996). The effects of music on responses to a dining area. *J Environ Psychol* 16(1): 55-64.
- Orskov C. (1992). Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis. *Diabetologia* 35(8): 701-11.

- Otto B., Cuntz U., Fruehauf E., Wawarta R., Folwaczny C., Riepl R.L., *et al.* (2001). Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 145(5): 669-73.
- Ovaskainen M.L., Reinivuo H., Tapanainen H., Hannila M.L., Korhonen T. & Pakkala H. (2006). Snacks as an element of energy intake and food consumption. *Eur J Clin Nutr* 60(4): 494-501.
- Palmer M.A., Capra S. & Baines S.K. (2009). Association between eating frequency, weight, and health. *Nutr Rev* 67(7): 379-90.
- Palmer M.A., Capra S. & Baines S.K. (2011). To Snack or Not to Snack: What should we advise for weight management? *Nutr & Diet* 68(1): 60-64.
- Patterson M., Murphy K.G., le Roux C.W., Ghatei M.A. & Bloom S.R. (2005). Characterization of ghrelin-like immunoreactivity in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 90(4): 2205-11.
- Pirazzoli P., Lanari M., Zucchini S., Gennari M., Pagotto U., De lasio R., *et al.* (2005). Active and total ghrelin concentrations in the newborn. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18(4): 379-84.
- Pliner P. & Chaiken S. (1990). Eating, social motives, and self-presentation in women and men. *J Exp Soc Psychol* 26(3): 240-254.
- Polonsky K.S., Given B.D. & Van Cauter E. (1988). Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest* 81(2): 442-8.
- Popkin B.M. & Duffey K.J. (2010). Does hunger and satiety drive eating anymore? Increasing eating occasions and decreasing time between eating occasions in the United States. *Am J Clin Nutr* 91(5): 1342-7.
- Poppitt S.D., Swann D., Black A. & Prentice A.M. (1995). Is under-reporting of energy intake in obese women macronutrient specific? Covert measurements in a metabolic facility. *Int J Obes* 19: 983-7.
- Poppitt S.D. & Prentice A.M. (1996). Energy density and its role in the control of food intake: evidence from metabolic and community studies. *Appetite* 26(2): 153-74.
- Poston W.S., Haddock C.K., Pinkston M.M., Pace P., Karakoc N.D., Reeves R.S., *et al.* (2005). Weight loss with meal replacement and meal replacement plus snacks: a randomized trial. *Int J Obes (Lond)* 29(9): 1107-14.
- Poulain J.P. (2002a). *Sociologies de l'alimentation*. Paris, Presses Universitaires de France.
- Poulain J.P. (2002b). The contemporary diet in France: "de-structuration" or from commensalism to "vagabond feeding". *Appetite* 39(1): 43-55.
- Prentice A.M., Black A.E., Coward W.A., Davies H.L., Goldberg G.R., Murgatroyd P.R., *et al.* (1986). High levels of energy expenditure in obese women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292(6526): 983-7.
- Raben A., Agerholm-Larsen L., Flint A., Holst J.J. & Astrup A. (2003). Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake. *Am J Clin Nutr* 77(1): 91-100.
- Randle P.J., Garland P.B., Hales C.N. & Newsholme E.A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1(7285): 785-9.
- Reinbach H., Martinussen T. & Møller P. (2010). Effects of hot spices on energy intake, appetite and sensory specific desires in humans. *Food Qual Pref* 21(6): 655-661.
- Ritter R.C. (2004). Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. *Physiol Behav* 81(2): 249-73.

- Roballey T.C. (1985). The effect of music on eating behavior. *Bull Psychon Soc* 23(3): 221-2.
- Rolls B.J., Rowe E.A., Rolls E.T., Kingston B., Megson A. & Gunary R. (1981a). Variety in a meal enhances food intake in man. *Physiol Behav* 26(2): 215-21.
- Rolls B.J., Rolls E.T., Rowe E.A. & Sweeney K. (1981b). Sensory specific satiety in man. *Physiol Behav* 27(1): 137-42.
- Rolls B.J., Rowe E.A. & Rolls E.T. (1982). How flavour and appearance affect human feeding. *Proc Nutr Soc* 41(2): 109-17.
- Rolls B.J. (1986). Sensory-specific satiety. *Nutr Rev* 44(3): 93-101.
- Rolls B.J. & Hetherington M. (1989). The role of variety in eating and body weight regulation. In R. Sherperd, *Handbook of the Psychophysiology of Human Eating*. Chichester: John Wiley and sons.
- Rolls B.J. & McDermott T.M. (1991). Effects of age on sensory-specific satiety. *Am J Clin Nutr* 54(6): 988-96.
- Rolls B.J., Bell E.A. & Waugh B.A. (2000a). Increasing the volume of a food by incorporating air affects satiety in men. *Am J Clin Nutr* 72(2): 361-8.
- Rolls B.J., Engell D. & Birch L.L. (2000b). Serving portion size influences 5-year-old but not 3-year-old children's food intakes. *J Am Diet Assoc* 100(2): 232-4.
- Rolls B.J. & Roe L.S. (2002). Effect of the volume of liquid food infused intragastrically on satiety in women. *Physiol Behav* 76(4-5): 623-31.
- Rolls B.J., Roe L.S. & Meengs J.S. (2006). Larger portion sizes lead to a sustained increase in energy intake over 2 days. *J Am Diet Assoc* 106(4): 543-9.
- Rolls B.J., Roe L.S. & Meengs J.S. (2007). The effect of large portion sizes on energy intake is sustained for 11 days. *Obesity (Silver Spring)* 15(6): 1535-43.
- Romon M., Lebel P., Velly C., Marecaux N., Fruchart J.C. & Dallongeville J. (1999). Leptin response to carbohydrate or fat meal and association with subsequent satiety and energy intake. *Am J Physiol* 277(5 Pt 1): E855-61.
- Roseblum J. & Stein H.K. (2006). Medical treatment of obesity. In F. Farraye and R. Forse, *Bariatric surgery: a primer for your medical practice*: Thorofare NJ: Slack Incorporated.
- Rowland N.E. (2011). Order and disorder: Temporal organization of eating. *Behav Brain Res* 231(2): 272-8.
- Rozin P. (1982). *Human food selection: the interaction of biology, culture and individual experience*. Bridgeport, AVI.
- Ruidavets J.B., Bongard V., Bataille V., Gourdy P. & Ferrieres J. (2002). Eating frequency and body fatness in middle-aged men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26(11): 1476-83.
- Sadoul B., Schuring E., Mela D. & Peters H. (2012). *The relationship between appetite scores and food intake: analysis based on 25 studies*. 19th European Congress on Obesity, Lyon (France).
- Schick R.R., Schusdziarra V., Mossner J., Neuberger J., Schroder B., Segmuller R., et al. (1991). Effect of CCK on food intake in man: physiological or pharmacological effect? *Z Gastroenterol* 29(2): 53-8.
- Schifferstein H.N.J. & Verlegh P.W.J. (1996). The role of congruency and pleasantness in odor-induced taste enhancement. *Acta psychol* 94(1): 87-105.

- Schlundt D.G., Hill J.O., Sbrocco T., Pope-Cordle J. & Sharp T. (1992). The role of breakfast in the treatment of obesity: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 55(3): 645-51.
- Schmid S.M., Hallschmid M., Jauch-Chara K., Born J. & Schultes B. (2008). A single night of sleep deprivation increases ghrelin levels and feelings of hunger in normal-weight healthy men. *J Sleep Res* 17(3): 331-4.
- Schwartz M.W., Woods S.C., Porte D., Seeley R.J. & Baskin D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404(6778): 661-71.
- Segura A., Josse R. & Wolever T. (1995). Acute metabolic effects of increased meal frequency in type II diabetes: three vs six, nine, and twelve meals. *Diabetes Nutr Metab* 8(6): 331-338.
- Seidell J.C. (1998). Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective. *Am J Clin Nutr* 67(3 Suppl): 546S-550S.
- Shah M., Schroeder R., Winn W. & Adams-Huet B. (2011). A pilot study to investigate the effect of plate size on meal energy intake in normal weight and overweight/obese women. *J Hum Nutr Diet* 24(6): 612-5.
- Shiyya T., Nakazato M., Mizuta M., Date Y., Mondal M.S., Tanaka M., et al. (2002). Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 87(1): 240-4.
- Sileno A.P., Brandt G.C., Spann B.M. & Quay S.C. (2006). Lower mean weight after 14 days intravenous administration peptide YY3-36 (PYY3-36) in rabbits. *Int J Obes (Lond)* 30(1): 68-72.
- Simonson D.C. & DeFronzo R.A. (1990). Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. *Am J Physiol* 258(3): E399-412.
- Slavin J. & Green H. (2007). Dietary fibre and satiety. *Nutr Bull* 32(S1): 32-42.
- Smeets A.J. & Westerterp-Plantenga M.S. (2008a). Acute effects on metabolism and appetite profile of one meal difference in the lower range of meal frequency. *Br J Nutr* 99(6): 1316-21.
- Smeets A.J., Soenen S., Luscombe-Marsh N.D., Ueland O. & Westerterp-Plantenga M.S. (2008b). Energy expenditure, satiety, and plasma ghrelin, glucagon-like peptide 1, and peptide tyrosine-tyrosine concentrations following a single high-protein lunch. *J Nutr* 138(4): 698-702.
- Smeets A.J. & Westerterp-Plantenga M.S. (2009). The acute effects of a lunch containing capsaicin on energy and substrate utilisation, hormones, and satiety. *Eur J Nutr* 48(4): 229-34.
- Smeets P.A. & van der Laan L.N. (2011). Satiety. Not the problem, nor a solution. Comment on 'Satiety. No way to slim'. *Appetite* 57(3): 772-3; discussion 784-90.
- Smit H.J., Kemsley E.K., Tapp H.S. & Henry C.J. (2011a). Does prolonged chewing reduce food intake? Fletcherism revisited. *Appetite* 57(1): 295-8.
- Smit H.J., Keenan E., Kovacs E.M., Wiseman S.A., Peters H.P., Mela D.J., et al. (2011b). No efficacy of processed Fabules (Olibra) in suppressing appetite or food intake. *Eur J Clin Nutr* 65(1): 81-6.
- Smith J. & Ditschun T. (2009). Controlling satiety: how environmental factors influence food intake. *Trends Food Sci Tech* 20(6-7): 271-7.
- Smith K.J., Blizzard L., McNaughton S.A., Gall S.L., Dwyer T. & Venn A.J. (2011). Daily eating frequency and cardiometabolic risk factors in young Australian adults: cross-sectional analyses. *Br J Nutr* doi:10.1017/S0007114511006398.
- Smith V.L. & Walker J.M. (1993). Monetary Rewards and Decision Cost in Experimental Economics. *Econ Inq* 31(2): 245-261.

- Solomon T.P., Chambers E.S., Jeukendrup A.E., Toogood A.A. & Blannin A.K. (2008). The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human subjects. *Br J Nutr* 100(4): 810-9.
- Sommer R. & Steele J. (1997). Social effects on duration in restaurants. *Appetite* 29(1): 25-30.
- Sorensen L.B., Moller P., Flint A., Martens M. & Raben A. (2003). Effect of sensory perception of foods on appetite and food intake: a review of studies on humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27(10): 1152-66.
- Southgate D.A. (1990). Nibblers, gorgers, snackers, and grazers. *BMJ* 300(6718): 136-7.
- Spanos D. & Hankey C.R. (2010). The habitual meal and snacking patterns of university students in two countries and their use of vending machines. *J Hum Nutr Diet* 23(1): 102-7.
- Speechly D.P., Rogers G.G. & Buffenstein R. (1999a). Acute appetite reduction associated with an increased frequency of eating in obese males. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23(11): 1151-9.
- Speechly D.P. & Buffenstein R. (1999b). Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite* 33(3): 285-97.
- Spiegel K., Tasali E., Penev P. & Van Cauter E. (2004). Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 141(11): 846-50.
- Stensel D. (2010). Exercise, appetite and appetite-regulating hormones: implications for food intake and weight control. *Ann Nutr Metab* 57 Suppl 2: 36-42.
- Stote K.S., Baer D.J., Spears K., Paul D.R., Harris G.K., Rumpler W.V., *et al.* (2007). A controlled trial of reduced meal frequency without caloric restriction in healthy, normal-weight, middle-aged adults. *Am J Clin Nutr* 85(4): 981-8.
- Stroebele N. & de Castro J.M. (2004). Effect of ambience on food intake and food choice. *Nutrition* 20(9): 821-38.
- Stroebele N. & de Castro J.M. (2006). Listening to music while eating is related to increases in people's food intake and meal duration. *Appetite* 47(3): 285-9.
- Stubbs J., Ferrer S. & Horgan G. (2000). Energy density of foods: effects on energy intake. *Crit Rev Food Sci Nutr* 40(6): 481-515.
- Sugino T., Yamaura J., Yamagishi M., Ogura A., Hayashi R., Kurose Y., *et al.* (2002). A transient surge of ghrelin secretion before feeding is modified by different feeding regimens in sheep. *Biochem Biophys Res Commun* 298(5): 785-8.
- Summerbell C.D., Moody R.C., Shanks J., Stock M.J. & Geissler C. (1995). Sources of energy from meals versus snacks in 220 people in four age groups. *Eur J Clin Nutr* 49(1): 33-41.
- Summerbell C.D., Moody R.C., Shanks J., Stock M.J. & Geissler C. (1996). Relationship between feeding pattern and body mass index in 220 free-living people in four age groups. *Eur J Clin Nutr* 50(8): 513-9.
- Taheri S., Lin L., Austin D., Young T. & Mignot E. (2004). Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med* 1(3): e62.
- Tai M.M., Castillo P. & Pi-Sunyer F.X. (1991). Meal size and frequency: effect on the thermic effect of food. *Am J Clin Nutr* 54(5): 783-7.

- Taylor K.A. & Barr S.I. (2006). Provision of small, frequent meals does not improve energy intake of elderly residents with dysphagia who live in an extended-care facility. *J Am Diet Assoc* 106(7): 1115-8.
- Taylor M.A. & Garrow J.S. (2001). Compared with nibbling, neither gorging nor a morning fast affect short-term energy balance in obese patients in a chamber calorimeter. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25(4): 519-28.
- Theureau J. (1992). *Le cours d'action, analyse sémiologique: Essais d'une anthropologie cognitive située*. Berne, Peter Lang.
- Titan S.M., Bingham S., Welch A., Luben R., Oakes S., Day N., et al. (2001). Frequency of eating and concentrations of serum cholesterol in the Norfolk population of the European prospective investigation into cancer (EPIC-Norfolk): cross sectional study. *BMJ* 323(7324): 1286-8.
- Tolle V., Bassant M.H., Zizzari P., Poindessous-Jazat F., Tomasetto C., Epelbaum J., et al. (2002). Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behavior, and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology* 143(4): 1353-61.
- Tomasi D., Wang G.J., Wang R., Backus W., Geliebter A., Telang F., et al. (2009). Association of body mass and brain activation during gastric distention: implications for obesity. *PLoS One* 4(8): e6847.
- Tounian A., Laferrere B. & Guy-Grand B. (2005). La ghréline: seule hormone orexigène connue. *Cah. Nutr. Diét* 40(5): 270-80.
- Tschöp M., Smiley D.L. & Heiman M.L. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407(6806): 908-13.
- Tschöp M., Wawarta R., Riepl R.L., Friedrich S., Bidlingmaier M., Landgraf R., et al. (2001a). Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 24(6): RC19-21.
- Tschöp M., Weyer C., Tataranni P.A., Devanarayan V., Ravussin E. & Heiman M.L. (2001b). Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50(4): 707-9.
- Tseng M., Ingram D.D., Darden R., Ziegler R.G. & Longnecker M.P. (2000). Eating frequency and risk of colorectal cancer. *Nutr Cancer* 36(2): 170-6.
- Ueda S.Y., Yoshikawa T., Katsura Y., Usui T., Nakao H. & Fujimoto S. (2009). Changes in gut hormone levels and negative energy balance during aerobic exercise in obese young males. *J Endocrinol* 201(1): 151-9.
- Van Strien T., Frijters J., Bergers G. & Defares P. (1986). The Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) for assessment of restrained, emotional, and external eating behavior. *Int J Eat Disord* 5(2): 295-315.
- Vander Wal J.S., Waller S.M., Klurfeld D.M., McBurney M.I., Cho S., Kapila M., et al. (2006). Effect of a post-dinner snack and partial meal replacement program on weight loss. *Int J Food Sci Nutr* 57(1-2): 97-106.
- Verboeket-van de Venne W.P. & Westerterp K.R. (1991). Influence of the feeding frequency on nutrient utilization in man: consequences for energy metabolism. *Eur J Clin Nutr* 45(3): 161-9.
- Verboeket-van de Venne W.P. & Westerterp K.R. (1993a). Frequency of feeding, weight reduction and energy metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord* 17(1): 31.
- Verboeket-van de Venne W.P., Westerterp K.R. & Kester A.D. (1993b). Effect of the pattern of food intake on human energy metabolism. *Br J Nutr* 70(1): 103-15.
- Verdich C., Flint A., Gutzwiller J.P., Naslund E., Beglinger C., Hellstrom P.M., et al. (2001). A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86(9): 4382-9.

- Verhulst P.J. & Depoortere I. (2012). Ghrelin's second life: From appetite stimulator to glucose regulator. *World J Gastroenterol* 18(25): 3183-95.
- Vitolins M.Z., Rand C.S., Rapp S.R., Ribisl P.M. & Sevick M.A. (2000). Measuring adherence to behavioral and medical interventions. *Control Clin Trials* 21(5 Suppl): 188S-94S.
- Wahlqvist M.L., Kouris-blazos A. & Wattanapenpaiboon N. (1999). The significance of eating patterns: an elderly Greek case study. *Appetite* 32(1): 23-32.
- Wan R., Camandola S. & Mattson M.P. (2003). Intermittent food deprivation improves cardiovascular and neuroendocrine responses to stress in rats. *J Nutr* 133(6): 1921-9.
- Wansink B. (2004). Environmental factors that increase the food intake and consumption volume of unknowing consumers. *Annu Rev Nutr* 24: 455-79.
- Wansink B. & Cheney M.M. (2005). Super Bowls: serving bowl size and food consumption. *JAMA* 293(14): 1727-8.
- Wansink B., van Ittersum K. & Painter J.E. (2006). Ice cream illusions bowls, spoons, and self-served portion sizes. *Am J Prev Med* 31(3): 240-3.
- Warde A., Cheng S., Olsen W. & Southerton D. (2007). Changes in the practice of eating: a comparative analysis of time-use. *Acta Sociol* 50(4): 363.
- Warwick Z.S. & Schiffman S.S. (1992). Role of dietary fat in calorie intake and weight gain. *Neurosci Biobehav Rev* 16(4): 585-96.
- Wathelet O. (2012). Ethnography of culinary activity. *Menu (sous presse)*.
- Weber A.J., King S.C. & Meiselman H.L. (2004). Effects of social interaction, physical environment and food choice freedom on consumption in a meal-testing environment. *Appetite* 42(1): 115-8.
- Westerterp-Plantenga M.S., Wijckmans-Duysens N.A. & ten Hoor F. (1994). Food intake in the daily environment after energy-reduced lunch, related to habitual meal frequency. *Appetite* 22(2): 173-82.
- Westerterp-Plantenga M.S., Verwegen C.R., Ijedema M.J., Wijckmans N.E. & Saris W.H. (1997). Acute effects of exercise or sauna on appetite in obese and nonobese men. *Physiol Behav* 62(6): 1345-54.
- Westerterp-Plantenga M.S. & Verwegen C.R. (1999). The appetizing effect of an aperitif in overweight and normal-weight humans. *Am J Clin Nutr* 69(2): 205-12.
- Westerterp-Plantenga M.S. (2000). Eating behavior in humans, characterized by cumulative food intake curves - a review. *Neurosci Biobehav Rev* 24(2): 239-48.
- Westerterp-Plantenga M.S., Kovacs E.M. & Melanson K.J. (2002). Habitual meal frequency and energy intake regulation in partially temporally isolated men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26(1): 102-10.
- Westerterp-Plantenga M.S., Smeets A.J. & Lejeune M.P. (2005). Sensory and gastrointestinal satiety effects of capsaicin on food intake. *Int J Obes (Lond)* 29(6): 682-8.
- Whybrow S. & Kirk T.R. (1997). Nutrient intakes and snacking frequency in female students. *J Hum Nutr Diet* 10(4): 237-244.
- Whybrow S., Mayer C., Kirk T.R., Mazlan N. & Stubbs R.J. (2007). Effects of two weeks' mandatory snack consumption on energy intake and energy balance. *Obesity (Silver Spring)* 15(3): 673-85.

- Willcox B.J., Willcox D.C. & Suzuki M. (2001). Nutrition and aging in Okinawa: is there a diet that extends health span? *J Am Diet Assoc Pulse (CPE)* 20: 5-8.
- Wolever T.M. (1990). Metabolic effects of continuous feeding. *Metabolism* 39(9): 947-51.
- Wolfram G., Kirchgessner M., Müller H. & Hollomey S. (1987). Thermogenesis in humans after varying meal time frequency. *Ann Nutr Metab* 31(2): 88-97.
- Woods S.C., Lotter E.C., McKay L.D. & Porte D. (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 282(5738): 503-5.
- Woods S.C. (2004). Gastrointestinal satiety signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286(1): G7-13.
- Woods S.C. & D'Alessio D.A. (2008). Central control of body weight and appetite. *J Clin Endocrinol Metab* 93(11 Suppl 1): S37-50.
- Wren A.M., Seal L.J., Cohen M.A., Brynes A.E., Frost G.S., Murphy K.G., et al. (2001). Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86(12): 5992-95.
- Wren A.M. & Bloom S.R. (2007). Gut hormones and appetite control. *Gastroenterology* 132(6): 2116-30.
- Wurtman J., Wurtman R., Berry E., Gleason R., Goldberg H., McDermott J., et al. (1993). Dexfenfluramine, fluoxetine, and weight loss among female carbohydrate cravers. *Neuropsychopharmacology* 9(3): 201-10.
- Yannakoulia M., Melistas L., Solomou E. & Yiannakouris N. (2007). Association of eating frequency with body fatness in pre-and postmenopausal women. *Obesity* 15(1): 100-106.
- Yeomans M.R. (2004). Effects of alcohol on food and energy intake in human subjects: evidence for passive and active over-consumption of energy. *Br J Nutr* 92 Suppl 1: S31-4.
- Young C.M., Frankel D.L., Scanlan S.S., Simko V. & Lutwak L. (1971). Frequency of feeding, weight reduction, and nutrient utilization. *J Am Diet Assoc* 59(5): 473-80.
- Young L.R. & Nestle M. (2002). The contribution of expanding portion sizes to the US obesity epidemic. *Am J Public Health* 92(2): 246-9.
- Zander M., Madsbad S., Madsen J.L. & Holst J.J. (2002). Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet* 359(9309): 824-30.
- Zaveri S. & Drummond S. (2009). The effect of including a conventional snack (cereal bar) and a nonconventional snack (almonds) on hunger, eating frequency, dietary intake and body weight. *J Hum Nutr Diet* 22(5): 461-8.
- Zeinstra G.G., Koelen M., Colindres D., Kok F. & De Graaf C. (2009). Facial expressions in school-aged children are a good indicator of 'dislikes', but not of 'likes'. *Food Qual Pref* 20(8): 620-624.
- Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L. & Friedman J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372(6505): 425-32.
- Zizza C., Siega-Riz A.M. & Popkin B.M. (2001). Significant increase in young adults' snacking between 1977-1978 and 1994-1996 represents a cause for concern! *Prev Med* 32(4): 303-10.

Annexes

Annexe 1 : Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ)

Annexe 2 : Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ)

Annexe 3 : Trame pour les enquêtes alimentaires (pour 1 journée)

Annexe 4 : Poster présenté au 18^{ème} European Congress on Obesity 2011

Annexe 5 : Poster présenté au Congrès de la Société Francophone du Diabète 2012

Annexe 1 : Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ)

Questionnaire Néerlandais de T. Van Strien © Swets & Zeitlinger b.v., Lisse

Vous trouverez dans les pages qui suivent un certain nombre de questions concernant vos habitudes alimentaires. Lisez attentivement chaque question et marquez d'une croix la case correspondant à la réponse que vous considérez comme la meilleure. Vous ne devez donner qu'une seule réponse par question. Votre première impression est souvent la meilleure, ne vous attardez donc pas trop longtemps sur chaque question.

1. Quand vous êtes irrité (e), avez-vous envie de manger ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne suis jamais irrité(e)
2. Si vous trouvez un plat savoureux, en mangez-vous plus que d'habitude ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
3. Avez-vous envie de manger lorsque vous n'avez rien à faire ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - J'ai toujours quelque chose à faire
4. Quand vous avez pris un peu de poids, mangez-vous moins que d'habitude ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne prends jamais de poids
5. Avez-vous envie de manger lorsque vous êtes déprimé (e) ou découragé (e) ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne suis jamais déprimé (e) ou découragé (e)
6. Si un plat vous paraît appétissant par son odeur ou son aspect, en mangez-vous plus que d'habitude ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
7. Vous arrive-t-il de refuser de la nourriture ou des boissons que l'on vous offre parce que vous voulez faire attention à votre poids ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
8. Avez-vous envie de manger lorsque vous vous sentez seul (e) ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne me sens jamais seul (e)
9. Quand vous voyez ou vous sentez quelque chose d'appétissant, l'envie vous prend-elle de manger ?
 - Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent

10. Quand vous vous sentez abandonné (e), avez-vous envie de manger ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne me sens jamais abandonné (e)
11. Aux repas, essayez-vous de manger moins que ce que vous auriez envie de manger ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
12. Si vous disposez de quelque chose d'appétissant, le mangez-vous immédiatement ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
13. Quand vous êtes fâché (e), avez-vous envie de manger ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
 - Je ne suis jamais fâché (e)
14. Surveillez-vous exactement ce que vous mangez ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
15. Lorsque vous passez devant une boulangerie, l'envie vous prend-elle d'acheter quelque chose d'appétissant ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
16. Lorsque quelque chose de désagréable vous attend, avez-vous envie de manger ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
17. Mangez-vous volontairement des nourritures peu caloriques ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent
18. Lorsque vous voyez d'autres personnes manger, l'envie vous prend-elle de manger également ?
- Jamais
 - Rarement
 - Parfois
 - Souvent
 - Très souvent

19. Quand vous avez trop mangé, mangez-vous moins le lendemain que d'habitude ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne mange jamais trop

20. Avez-vous envie de manger lorsque vous êtes inquiet (e), soucieux(euse) ou tendu (e) ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne suis jamais inquiet (e), soucieux (euse) ou tendu (e)

21. Pouvez-vous résister à des nourritures délicieuses ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

22. Mangez-vous volontairement un peu moins pour ne pas grossir ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

23. Quand quelque chose vous contrarie ou ne se déroule pas comme vous le souhaitez, avez-vous envie de manger ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

24. Si vous passez devant un snack-bar ou un café, avez-vous envie d'entrer prendre quelque chose de bon ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

25. Lorsque vous êtes énervé (e), avez-vous envie de manger ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne suis jamais énervé (é)

26. Essayez-vous de ne pas manger entre les repas parce que vous surveillez votre poids ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

27. Mangez-vous plus que d'habitude en voyant d'autres gens manger ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

28. Avez-vous envie de manger quand vous vous ennuyez ou quand vous ne tenez pas en place ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne m'ennuie jamais ou je suis toujours calme

29. Pendant la soirée, essayez-vous de ne pas manger parce que vous surveillez votre poids ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

30. Quand vous êtes anxieux (euse), avez-vous envie de manger ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne suis jamais anxieux (euse)

31. Lorsque vous mangez, tenez-vous compte de votre poids ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

32. Lorsque vous êtes déçu (e), avez-vous envie de manger ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent
- Je ne suis jamais déçu (e)

33. Quand vous préparez un repas, avez-vous tendance à manger quelque chose ?

- Jamais
- Rarement
- Parfois
- Souvent
- Très souvent

Annexe 2 : Three-Factor Eating Questionnaire (TFEQ)

Première partie : pour chaque affirmation, choisissez l'une des deux propositions Vrai/Faux et entourez le V ou le F. Si une partie de l'affirmation est fautive, il faut considérer que l'ensemble est faux et choisir la proposition F.

1. Lorsque je sens l'odeur d'un steak en train de cuire ou que je vois un morceau de viande bien juteux, il m'est très difficile de me retenir de manger, même si je viens juste de terminer un repas. VF
2. Je mange en général trop lorsque je suis en groupe, comme par exemple dans des réceptions ou des pique-niques. VF
3. J'ai habituellement tellement faim que je mange plus de 3 fois par jour. VF
4. Une fois que j'ai mangé ma ration de calories, je parviens habituellement facilement à ne plus manger. VF
5. Suivre un régime m'est difficile pour la simple et bonne raison que cela me donne trop faim. VF
6. Je me sers délibérément des petites portions pour pouvoir contrôler mon poids. VF
7. Parfois, ce que je mange est si bon, que je continue à manger même si je n'ai plus faim. VF
8. Comme j'ai souvent faim, je souhaiterais parfois, pendant que je mange, qu'un spécialiste me dise que j'ai assez mangé ou que je peux encore manger quelque chose. VF
9. Quand je me sens inquiet (e), j'ai tendance à manger. VF
10. La vie est trop courte pour se soucier de régime. VF
11. Comme mon poids monte et descend, il m'est arrivé plus d'une fois de faire un régime amaigrissant. VF
12. J'ai souvent si faim qu'il faut alors à tout prix que je mange. VF
13. Lorsque je suis en compagnie de quelqu'un qui mange trop, je mange habituellement trop, moi aussi. VF
14. J'ai une assez bonne idée du nombre de calories contenues dans les aliments courants. VF
15. Parfois, quand je commence à manger, je ne peux plus m'arrêter. VF
16. Il ne m'est pas difficile de laisser quelque chose dans mon assiette. VF
17. A certains moments de la journée, je commence à avoir faim parce que j'ai pris l'habitude de manger à ce moment là. VF
18. Lorsque je suis au régime, si je mange quelque chose qui ne m'est pas autorisé, je mange volontairement moins pendant un certain temps pour me rattraper. VF
19. Le fait d'être en compagnie de quelqu'un qui mange me donne souvent suffisamment faim pour que je mange aussi. VF
20. Quand j'ai le cafard, il m'arrive souvent de manger trop. VF
21. Manger est un plaisir trop grand pour que je le gâche en comptant les calories ou en surveillant mon poids. VF
22. Lorsque je vois un plat particulièrement savoureux, je me mets souvent à avoir si faim qu'il faut absolument que je mange tout de suite. VF
23. Je m'arrête souvent de manger sans être complètement rassasié (e), pour limiter délibérément la quantité d'aliments que je mange. VF
24. J'ai tellement faim que j'ai souvent l'impression que mon estomac est comme un gouffre. VF
25. Mon poids n'a pratiquement pas changé ces dix dernières années. VF
26. Comme j'ai toujours faim, il m'est difficile d'arrêter de manger avant d'avoir fini mon assiette. VF
27. Quand je me sens seul (e), je me console en mangeant. VF
28. Je me retiens volontairement de manger pendant les repas pour ne pas prendre de poids. VF
29. Je me mets parfois à avoir très faim, tard le soir ou pendant la nuit. VF
30. Je mange ce que je veux, quand je le veux. VF
31. Sans même y penser, je prends beaucoup de temps pour manger. VF
32. Je compte délibérément les calories pour contrôler mon poids. VF
33. Je ne mange pas certains aliments parce qu'ils me font grossir. VF
34. J'ai toujours suffisamment faim pour manger n'importe quand. VF
35. Je fais très attention aux changements de ma silhouette. VF

36. Lorsque je suis au régime, si je mange un aliment qui ne m'est pas autorisé, il m'arrive alors souvent de "m'empiffrer" et je mange alors d'autres aliments riches en calories. VF

Deuxième partie : pour chacune des questions suivantes, entourez le numéro de la réponse qui vous correspond le mieux.

37. A quelle fréquence faites-vous un régime délibérément pour contrôler votre poids ?
rarement 1 parfois 2 la plupart du temps 3 toujours 4
38. Une variation de poids de 2,5 kg modifierait-elle votre façon de vivre ?
pas du tout 1 légèrement 2 moyennement 3 beaucoup 4
39. A quelle fréquence avez-vous faim ?
seulement au moment des repas 1 parfois entre les repas 2 souvent entre les repas 3 presque toujours 4
40. Le fait que vous vous sentiez coupable de trop manger vous aide-t-il à contrôler votre alimentation ?
jamais 1 rarement 2 souvent 3 toujours 4
41. A quel point vous serait-il difficile de vous arrêter de manger au milieu du repas et de ne pas manger pendant les 4 heures suivantes ? Ce (ne) serait :
absolument pas difficile 1 quelque peu difficile 2 moyennement difficile 3 très difficile 4
42. A quel point êtes-vous conscient de ce que vous mangez ?
pas du tout 1 légèrement 2 moyennement 3 extrêmement 4
43. A quelle fréquence évitez-vous de stocker chez vous des aliments tentants ?
presque jamais 1 rarement 2 la plupart du temps 3 presque toujours 4
44. Quand vous faites les courses, avez-vous tendance à acheter des aliments "basses-calories" ?
pas du tout 1 un peu 2 moyennement 3 beaucoup 4
45. Mangez-vous raisonnablement en présence d'autres gens et vous "empiffrer" quand vous êtes seul (e) ?
jamais 1 rarement 2 souvent 3 toujours 4
46. Avez-vous tendance à manger délibérément lentement dans le but de manger moins ?
pas du tout 1 un peu 2 moyennement 3 beaucoup 4
47. A quelle fréquence vous passez-vous de dessert parce que vous n'avez plus faim ?
presque jamais 1 rarement 2 au moins 1 fois par semaine 3 presque tous les jours 4
48. Avez-vous tendance à manger délibérément moins que vous le voulez ?
pas du tout 1 un peu 2 moyennement 3 beaucoup 4
49. Vous arrive-t-il de vous "goûter", même si vous n'avez pas faim ?
jamais 1 rarement 2 parfois 3 au moins une fois par semaine 4
50. Sur une échelle de 0 à 5, où 0 signifie "pas de restriction de l'alimentation" (c'est-à-dire, vous mangez ce que vous voulez, quand vous le voulez) et où 5 signifie "restriction totale" (c'est-à-dire, vous limitez continuellement votre alimentation sans jamais "craquer"), quel chiffre vous correspond le mieux ?
Vous mangez ce que vous voulez, quand vous le voulez 0
Vous mangez habituellement ce que vous voulez, quand vous le voulez 1
Vous mangez souvent ce que vous voulez, quand vous le voulez 2
Vous limitez souvent votre alimentation, mais vous "craquez" souvent 3
Vous limitez habituellement votre alimentation et vous "craquez" rarement 4
Vous limitez constamment votre alimentation et vous ne "craquez" jamais 5
51. Dans quelle mesure l'affirmation suivante décrit-elle votre comportement alimentaire ?
"Je me mets au régime le matin, mais en raison des événements de la journée, quand arrive la soirée, j'ai abandonné et je mange ce que je veux, tout en me promettant de recommencer le régime le lendemain."
cela ne me ressemble pas 1 cela me ressemble peu 2 cela me décrit assez bien 3 cela me décrit parfaitement 4

Annexe 3 : Trame pour les enquêtes alimentaires (pour 1 journée)

RELEVÉ ALIMENTAIRE
Date 1 , date 2, date 3

Conseils pour remplir ce relevé alimentaire

Ce relevé alimentaire vise à connaître vos habitudes alimentaires et
NON PAS A LES MODIFIER.

Vous devez le remplir sur 3 journées complètes (2 jours de semaine et 1 jour de week-end).

Vous le remplirez **AU JOUR LE JOUR**, en respectant au mieux les consignes suivantes :

POUR CHAQUE PRISE ALIMENTAIRE

-détailler le plus possible les aliments,

ex : viande : noter quelle viande: escalope de veau, cuisse de poulet, etc.....

ex : lait : entier, demi-écrémé, écrémé

-détailler les modes de cuisson

- poêle, grill, four,

* type de matière grasse utilisée ou assaisonnement (qualité et quantité).

-évaluer les quantités :

* mesurer la contenance des bols, verres,... avec un verre mesureur,

* préciser en cuillère à soupe ou à café, notamment les quantités de matières grasses utilisées,

* mesurer les parts de pain en les évaluant à partir d'une baguette ou d'une flûte (exemple : 1/4 de baguette, une tranche de flûte, etc....)

* préciser le nombre de cuillères à soupe rases, bombées consommées pour les préparations qui s'y prêtent.

Il est possible d'utiliser une balance ménagère et de tenir compte des quantités exprimées sur les emballages de certains aliments (poids net égoutté).

-préciser l'horaire de chaque prise alimentaire,

-préciser les marques des aliments chaque fois que possible.

A la fin, le relevé alimentaire sera contrôlé lors d'un entretien diététique pour vérifier s'il est correctement rempli.

Nom, Prénom :

DATE :

PETIT-DEJEUNER		Horaires :	
Aliments :		Quantité :	

COLLATIONS dans la matinée		Horaires	
Grignotages :			
Aliments :		Quantité :	

Nom, Prénom :

DATE :

DEJEUNER			Horaires :	lieu :
APEÏTIF e: Poissons, fruits, pâtisseries, olives				
Aliments, Poissons:		Quantité :		
ENTRÉE e: Cruautés, salades, légumes, pâtisserie				
Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :		
PLAT DE RÉCÉPTE e: viande, poisson, oeuf				
Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :		
ACCOMPAGNEMENT e: légumes fruits, riz, pâtes				
Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :		
BOISSON e: lait, fromage blanc, fromage				
Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :		
DESSERT e: fruit, crème dessert, pâtisserie				
Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :		
PAIN				

COLLATIONS dans la semaine		Horaires
Grignotages		
Aliments	Quantité	

Nom, Prénom :

DATE :

DINER	Horaires :	lieu :
--------------	------------	--------

APEÏTÏ e : poissons, isuits, aates, olies		
--	--	--

Aliments, poissons:	Quantité :

ENTÏEE e : cruîtés, salées, éulents, aruterie		
--	--	--

Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :

PAT DE EÏTANÏ e : ianée, poisson, oeuf		
---	--	--

Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :

AGNEÏT e : légumes uits, ri, tes		
---	--	--

Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :

AGE e : aourt, romage lan, amemert		
---	--	--

Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :

DEÏT e : uit, rme essert, tisserie		
---	--	--

Aliments :	Quantité :	Assaisonnement :

PAIN

--

ÏÏÏÏN

--

SOIREE ET NUIT

--

Annexe 4 : Poster présenté au 18^{ème} European Congress on Obesity 2011



Towards more realism in the assessment of food intake: validation of a natural buffet test meal



École de Management
Hospitalière
& Arts Culinaires

CENTRE
DE RECHERCHE

X. Allirot^{1,2}, L. Saulais², E. Disse¹, H. Roth¹, C. Cazal¹, M. Laville¹

¹Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes; ²Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Lyon - France
Contact: xavier.allirot@institutpaulbocuse.com

1. a. Context: Studies evaluating the effect of obesity-related variables on the short-term regulation of food intake frequently use the "preload paradigm", in which subjects receive a standardized amount of a preload food (that can vary in macronutrient composition, physical state, energy density, eating design...), and subsequent energy intake is assessed using *ad libitum* test meals. The validity of buffet test meals has already been assessed^{1,2}, in a hospital or a laboratory setting, in conjunction with physiological measurements (blood collection, indirect calorimetry, measurement of the gastric emptying...). Several studies have demonstrated the importance of taking care of context and environment when we study eating behaviours and particularly food choice³; yet little attention has been given to the realism of test meals. Moreover, the validation of those buffet test meals (reproducibility) only concerns a few parameters: total energy intake and energy from each macronutrient.

1. b. Objectives: We propose a behavioral exploration method designed to keep the observed eating situation as natural as possible. The focus was placed on the context of eating, the absence of concomitant measurements that may strongly influence eating behaviours, the type of food given, in order to allow the subjects to eat a regular French meal with cold, hot dishes and several courses. Furthermore, we aimed at going further in the assessment of eating behaviours by studying microstructures of the meal, in addition to energy intakes.

Our first objective was to assess the reproducibility of eating behaviours during the buffet test meal.
→ The second objective was to evaluate the sensitivity of eating behaviours to the duration of the fasting period.

2. a. Subjects: 14 healthy, normal weight men with a mean Body Mass Index of 22.6 ± 1.5 kg/m² and a mean age of 25.4 ± 3.2 years.
Inclusion criteria: - no food allergy
- accustoming to eating at breakfast and lunchtime
- moderate physical activity
- rating at least 75% of food items offered in the buffet test meal with a score higher than 5/8

2. b. Design: Each subject was invited to 4 sessions (1. A, B and FAST, cf. Figure 1), consisting in a lunch at 12:30 in the experimental restaurant of the Institut Paul Bocuse Research Centre. For each session, the same individual *ad libitum* buffet was offered to the subjects, with a choice of typical French dishes. In order to provide a pleasant eating context, a "brasserie" ambience was created in the experimental restaurant, using brasserie furniture and a musical environment. Chafing dishes, commonly used for French buffets, were used in order to keep hot food items at constant temperature all throughout the meal. Subjects were invited to eat for as long as they wanted, until comfortably full.



Figure 1: Design of the study



Figure 2: The individual buffet test meal

The day before each session, subjects were requested to avoid vigorous activities, to abstain from alcohol and to consume the same dinner on the evening.

2. c. Measurements: Thanks to Visual Analogue Scales, weighing of food and video recording of the meals, we assessed for sessions A, B and FAST:
- Levels of hunger before and after the meal
- Energy and food items intakes (grouped according to the course of the meal or the palatability)
- Total meal duration and time spent at choosing food
- Microstructure of the meal: total number and mean energy content of bites, number of bites per minute, cumulative energy intake curves

2. d. Statistical analysis: Intra-subject reproducibility between the sessions A and B was evaluated by determining intraclass correlation coefficients (ICC). An ICC ≥ 0.8 was considered to indicate excellent agreement between sessions, 0.7 ≤ ICC < 0.8 indicating good agreement and 0.6 ≤ ICC < 0.7 indicating moderate agreement. Cumulative energy intake curves were compared using mixed models where the dependant variable was energy intake, session and time were considered as fixed effects; subjects as random effect.

3. a. Results: reproducibility

Table 1: Intra-subject reproducibility between sessions A and B was excellent or good for all following parameters.

		Session A (mean ± SD)	Session B (mean ± SD)	ICC
Levels of hunger	Hunger before the meal (score/10)	5.6 ± 1.7	6.2 ± 2.1	0.81
	Hunger after the meal (score/10)	0.9 ± 0.9	0.9 ± 1.0	0.80
Energy intake	Total energy intake (kcal)	1438 ± 370	1389 ± 335	0.82
	Total amount of food consumed (g)	800 ± 205	802 ± 194	0.88
	Mean energy density (kcal/g)	1.81 ± 0.23	1.75 ± 0.25	0.80
	Carbohydrate intake (kcal)	533 ± 149	520 ± 146	0.83
	Lipid intake (kcal)	669 ± 196	648 ± 171	0.81
Food items intake	Protein intake (kcal)	237 ± 58	221 ± 61	0.79
	First course (kcal)	458.2 ± 155.4	403.1 ± 163.4	0.83
	Main course (kcal)	540.1 ± 161.3	546.1 ± 118.9	0.60
	Dessert (including cheese) (kcal)	439.5 ± 169.2	439.6 ± 171.3	0.79
Meal times	High palatable food (kcal)	741.5 ± 282.9	712.4 ± 282.9	0.80
	Low palatable food (kcal)	696.3 ± 207.1	676.3 ± 228.8	0.95
Microstructure parameters	Total meal duration (min' sec'')	24' 17" ± 4' 17"	23' 43" ± 3' 46"	0.72
	Time spent choosing food	3' 15" ± 0' 39"	3' 06" ± 0' 28"	0.77
Microstructure parameters	Total number of bites	100.0 ± 20.7	101.0 ± 20.6	0.85
	Mean energy content of bites (kcal)	14.5 ± 2.7	14.0 ± 3.2	0.82
	Mean number of bites per minute	4.2 ± 0.9	4.3 ± 1.0	0.72

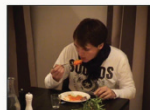


Figure 3: Timing and content of each bite allowed us to construct cumulative energy intake curves.

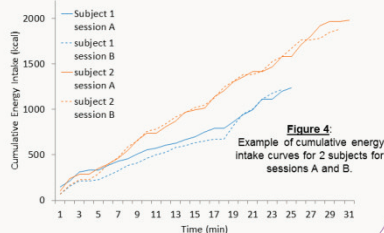


Figure 4: Example of cumulative energy intake curves for 2 subjects for sessions A and B.

No difference was found for cumulative energy intake curves between sessions A and B (p=0.205), which suggests a good intra-subject reproducibility for this parameter.

3. b. Results: sensitivity to the fasting period

The feeling of hunger just before the beginning of the meal was higher for session FAST than for the mean of A and B (p=0.025). No difference was found in the levels of hunger immediately after the meal (p=0.22).

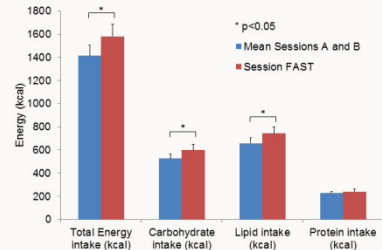


Figure 5: Subjects consumed more energy during session FAST compared to the mean of A and B, and specifically more carbohydrates and more lipids.

Subjects consumed during session FAST significantly more energy from high palatable food (852.3 ± 73.0 kcal vs. 727.0 ± 69.9 kcal, p=0.008) and from dessert (including cheese) (519.2 ± 58.0 kcal vs. 438.0 ± 42.0 kcal, p=0.048).

Cumulative energy intake curves were found different between session FAST and session A (p<0.0001) and between session FAST and session B (p<0.0001).

Analysis by quarter of meal showed significant differences between session FAST and others, for the last quarter of the meal. Over the last quarter, subjects consumed more energy during session FAST (p=0.025), and particularly more energy from carbohydrates (p=0.049) and from lipids (p=0.032).

4. Conclusion: We obtained a good reproducibility of food intake while including more realism in the design of *ad libitum* test meals in experimental contexts. We demonstrated that eating behaviours, including eating microstructure (cumulative energy intakes) are reproducible with this buffet-type meal design. This tool was also found sensitive to the duration of the fasting period. This buffet is an adequate tool for analyzing the effect of obesity-related variables on subsequent eating behaviours.

5. References: ¹Arvaniti, K., Richard, D., & Tremblay, A. (2000). Reproducibility of energy and macronutrient intake and related substrate oxidation rates in a buffet-type meal. *British Journal of Nutrition*, 83(5), 489-495.

²Nair, N. S., Brennan, I. M., Little, T. J., et al. (2009). Reproducibility of energy intake, gastric emptying, blood glucose, plasma insulin and cholecystokinin responses in healthy young males. *British Journal of Nutrition*, 101(7), 1094-1102.

³Meiselman, H. L. (2007). *The impact of context and environment on consumer food choice*. In L. F. H. V. T. (Eds.), *Understanding consumers of food products* (pp. 67-92). Cambridge.



Annexe 5 : Poster présenté au Congrès de la Société Francophone du Diabète 2012



Impact de l'augmentation de la fréquence des prises alimentaires sur le contrôle de l'appétit et les paramètres métaboliques



Xavier Alliro^{1,2,3,*}, Julia Graeppi-Dulac^{2,3}, Laure Saulais^{1,3}, Emmanuel Disse^{2,3}, Hubert Roth^{2,4}, Martine Laville^{2,3}

¹ Centre de Recherche de l'Institut Paul Bocuse, Lyon; ² Centre de Recherche en Nutrition Humaine Rhône-Alpes, Lyon; ³ Centre Européen de Nutrition pour la Santé, Lyon; ⁴ Pôle Recherche, CHU Grenoble Inserm U1055-Bioénergétique, Grenoble; * soutenu par la subvention CMIRA Explora'doc 2011 de la Région Rhône-Alpes
Contact: xavier.alliro@institutpaulbocuse.com

1.a. Contexte : La question de l'importance de la chronologie optimale des prises alimentaires quotidiennes pour mieux contrôler son poids suscite un débat, aujourd'hui non encore résolu, dans la communauté scientifique¹. En effet, les études visant à étudier l'influence de la fréquence des repas sur la balance énergétique, la satiété et plus globalement la santé humaine sont à la fois peu nombreuses et contradictoires^{2,3}. Malgré le manque de preuves scientifiques, la presse grand public, les médias ou de nombreux guides pratiques ou sites Internet spécialisés, continuent de spéculer sur le fait que modifier la fréquence de ses repas serait un point clé pour perdre du poids⁴.

1.b. Objectifs : Cette étude a pour but de déterminer les effets à court terme de l'augmentation isocalorique de la fréquence des prises alimentaires (fractionnement alimentaire) sur le contrôle de l'appétit (en considérant les aspects subjectifs, comportementaux et physiologiques) et le métabolisme.

2.a. Sujets : 20 hommes sains (âge = 27 ± 1 ans et indice de masse corporelle = 22.0 ± 0.3 kg/m² (moyenne ± erreur type)) ont participé à l'étude. Les sujets étaient tous non fumeurs et prenaient régulièrement un petit déjeuner. Ils pratiquaient une activité physique modérée (< 4 heures par semaine), avaient des paramètres métaboliques à jeun normaux et ne souffraient pas d'allergie ou de troubles de l'alimentation.

2.b. Design de l'étude : Chaque sujet était invité à 2 journées d'exploration métabolique (au CRNH-Rhône-Alpes) pour évaluer les effets d'un petit déjeuner fractionné en 4 prises identiques dans la matinée (condition F4) vs. le même petit déjeuner consommé en une seule prise en début de matinée (condition F1), sur les cinétiques hormonales et l'oxydation des substrats. Les sujets étaient également invités à 2 journées d'exploration comportementale (à l'Institut Paul Bocuse (IPB)) pour évaluer les effets des mêmes deux petits déjeuners sur les scores d'appétit et les consommations et comportements au repas suivant dans un restaurant expérimental (buffet *ad libitum* (Fig. 3) en contexte écologique⁵).

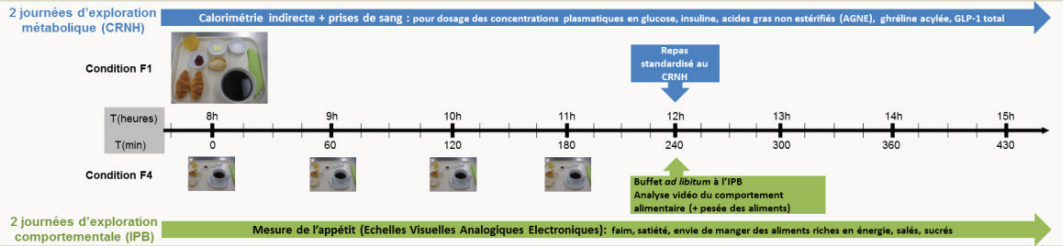


Figure 1 : Design de l'étude

2.c. Analyse statistique : Pour chaque paramètre, nous avons réalisé des modèles mixtes (effet aléatoire = sujet; effets fixes = temps, condition, interaction condition x temps) pour mettre en évidence des différences de cinétiques. A T=240 min nous avons comparé les niveaux des différents paramètres (Test de Student ou Wilcoxon). Les aires sous courbe (ASC) des paramètres physiologiques ont été calculées par méthode trapézoïdale. Tous les résultats sont présentés en moyenne ± erreur type. * p<0.05

3.a. Résultats : cinétiques métaboliques, hormonales et scores d'appétit

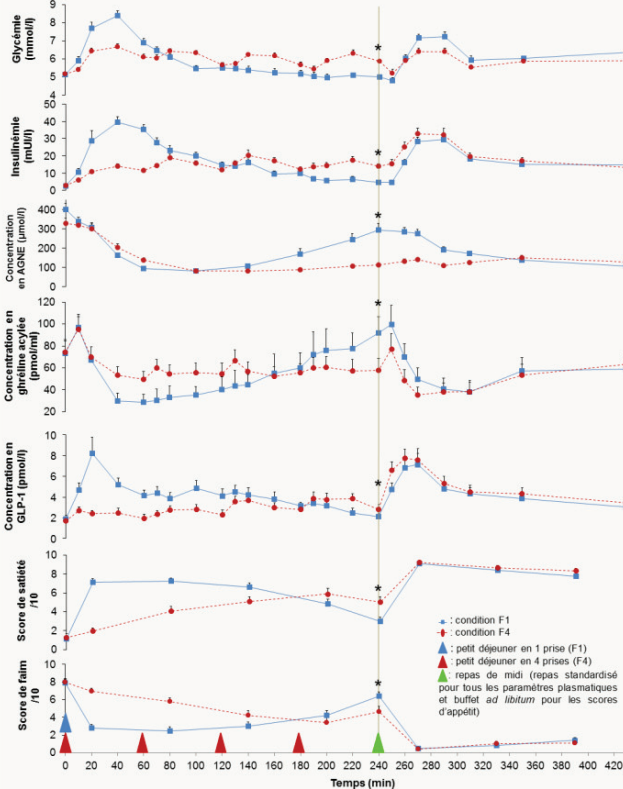


Figure 2 : Cinétiques des paramètres physiologiques et des scores d'appétit.

Juste avant le repas de midi (T240) les sujets ont déclaré après le petit déjeuner fractionné (F4) avoir moins faim ($p<0.0001$), moins envie de manger des aliments riches en énergie ($p=0.005$) et sucrés ($p=0.004$) ; la concentration en ghreline acylée plasmatique était plus basse ($p=0.0003$), celle en GLP-1 était plus élevée ($p=0.006$), comparativement à F1. Les modèles mixtes ont mis en évidence des cinétiques différentes entre F1 et F4 pour tous les paramètres de T0 à T240. Les aires sous courbe d'AGNE, d'insuline et de GLP-1 étaient significativement plus basses ($p<0.05$) en condition F4, sur la période 0-240.

3.b. Résultats : dépense énergétique et utilisation des substrats

Juste avant le repas de midi (T240) l'oxydation glucidique était plus élevée en F4 et l'oxydation lipidique était significativement plus basse ($p<0.001$). Les cinétiques pour la dépense énergétique et l'oxydation glucidique étaient significativement différentes entre les 2 conditions (effet condition x temps significatif, $p<0.001$) sur la période T0-240. Les aires sous courbe incrémentales pour la dépense énergétique et l'oxydation glucidique étaient significativement plus basses en condition F4 ($p<0.01$). Aucune différence n'a été observée pour les ASC incrémentales d'oxydation lipidique. La thermogénèse induite par le petit déjeuner a été diminuée en condition F4 ($p<0.05$).

3.c. Résultats : comportement au buffet *ad libitum*



Figure 3 : Buffet *ad libitum* proposé au restaurant expérimental de l'Institut Paul Bocuse

Au cours du buffet *ad libitum*, les sujets en condition F4 ont consommé 88 ± 61 kcal de moins ($p=0.08$) et significativement moins d'énergie lipidique ($p=0.04$). Durant le dernier quart temporel du repas, les sujets en conditions F4 ont consommé significativement moins d'énergie et moins de lipides ($p=0.03$) (cf. Fig. 4).

Table 1 : Consommations au buffet *ad libitum*

	Condition F1	Condition F4	P
Energie totale ingérée (kcal)	1355 ± 69	1267 ± 82	0.08
Quantité totale d'aliment (g)	785 ± 43	742 ± 47	0.08
Densité énergétique (kcal/g)	1.75 ± 0.05	1.72 ± 0.06	0.65
Apport glucidique (kcal)	517 ± 26	483 ± 30	0.26
(%)	38.4 ± 1.0	38.3 ± 1.0	0.87
Apport lipidique (kcal)	614 ± 36	567 ± 43	0.04*
(%)	45.1 ± 0.8	44.5 ± 1.1	0.47
Apport protéique (kcal)	224 ± 15	216 ± 15	0.41
(%)	16.5 ± 0.7	17.2 ± 0.7	0.25

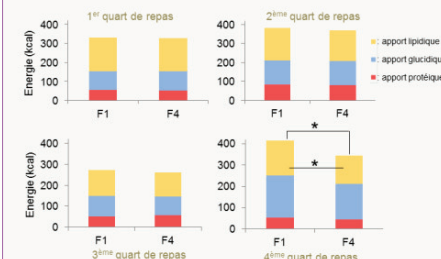


Figure 4 : Consommations alimentaires au buffet *ad libitum* pour chaque quart temporel de repas.

4. Conclusion : Cette étude met en évidence, chez le sujet sain, l'effet bénéfique à court terme du fractionnement alimentaire sur le contrôle de l'appétit. Après un petit déjeuner fractionné, les sujets ont déclaré avoir moins faim juste avant le repas de midi, ils présentaient une concentration plasmatique diminuée en ghreline et augmentée en GLP-1 et ils ont consommé significativement moins de lipides au repas suivant. La diminution de la thermogénèse alimentaire et la perte du jeûne inter-prandial induites par le fractionnement alimentaire pourraient néanmoins être des éléments délétères sur le long terme.

5. Références : ¹ Mattson, M. P. (2005). The need for controlled studies of the effects of meal frequency on health. *Lancet*, 365(9475), 1978-1980.
² McCrory, M. A., Howarth, N. C., Roberts, S. B., & Huang, T. T. (2011). Eating frequency and energy regulation in free-living adults consuming self-selected diets. *J Nutr*, 141(1), 148-153.
³ Leidy, H. J., & Campbell, W. W. (2011). The effect of eating frequency on appetite control and food intake: brief synopsis of controlled feeding studies. *J Nutr*, 141(1), 154-157.
⁴ Palmer, M. A., Capra, S., & Baines, S. K. (2009). Association between eating frequency, weight, and health. *Nutr Rev*, 67(7), 379-390.
⁵ Alliro, X., Saulais, L., Disse, E., Roth, H., Cazal, C., & Laville, M. (2012). Validation of a buffet meal design in an experimental restaurant. *Appetite*, doi:10.1016/j.appet.2012.02.011.

