



INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARIS-GRIGNON

Ecole Doctorale ABIES

UMR (914) Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

Discipline : Nutrition Humaine

présentée et soutenue publiquement par

Ahmed BENSAID

le 17 juin 2003

Rôle de l'Aversion Gustative Conditionnée et de la Satiété
dans la Dépression de la Prise Énergétique induite par les
Régimes Hyperprotéiques chez le Rat

*Role of Conditioned Taste Aversion and Satiety in the Depression of
the Energy Intake induced by the High Protein Diet in the Rat*

Directeur de thèse
Pr. Daniel TOMÉ

Co-Directeur de thèse
Gilles FROMENTIN

Jury

Président :	Pr. Daniel TOMÉ	INA-PG (Paris)
Rapporteurs :	Pr. Simon THORNTON	Université Henri Poincaré (Nancy)
	Dr. Xavier BIGARD	CRSSA (Grenoble)
Examineurs :	Dr. Olivier RAMPIN	INRA (Jouy En Josas)
	Dr. Gilles FROMENTIN	INRA (Paris)

© UMLV

À mes proches pour leur soutien dans la réalisation de ce projet.

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein de l'Unité Mixte de Recherche (INA-PG/INRA) Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire, à Paris, sous la direction du Pr. Daniel Tomé et du Dr. Gilles Fromentin.

Je remercie le Pr. Daniel Tomé de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir encadré mon travail en temps que directeur de thèse.

Je remercie très chaleureusement le Dr Gilles Fromentin pour son encadrement efficace, son aide, sa disponibilité et ses très nombreux conseils en tant que co-directeur de thèse. Je lui exprime ici toute mon amitié.

Je remercie le Pr. Thornton et le Dr. Bigard, rapporteurs, d'avoir accepté de juger mon travail et d'en être les membres de ce jury. Je remercie également le Dr. Rampin et le Dr. Fromentin, examinateurs, pour leur participation à mon jury de thèse.

Je tiens à remercier Patrick Even, Christiane Larue-Achagiotis, Claire Gaudichon, Céline Morens et Diane L'Heureux Bouron, pour leur collaboration.

À tous les membres du laboratoire de Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire, secrétaires, chercheurs, techniciens et étudiants, je tiens à exprimer mes remerciements chaleureux.

Résumé

Les régimes hyperprotéiques induisent une dépression de la prise énergétique chez le rat. Les mécanismes sous-tendant cette dépression sont mal connus. L'objet de cette thèse est d'analyser les rôles respectifs de la palatabilité, de la satiété, et de l'aversion gustative conditionnée dans ce phénomène. L'application de la méthode d'enregistrement de la prise alimentaire et de vidéo analyse à des rats, lors de la transition d'un régime normoprotéique (14%) vers un régime hyperprotéique (>50%), montre des modifications transitoires du comportement de l'animal lors du premier jour : réduction de la taille du repas, diminution de la vitesse d'ingestion et modification de la séquence comportementale de satiété. Après adaptation au régime hyperprotéique, la quantité d'énergie ingérée avec le régime hyperprotéique reste néanmoins en deçà de celle ingérée en régime normoprotéique et le poids des animaux recevant un régime hyperprotéique est plus faible. Dès le second ou troisième jour, selon la protéine alimentaire utilisée, la séquence comportementale de satiété n'est plus différente de celle induite par un repas normoprotéique. L'absence d'aversion gustative conditionnée et la présence d'un effet satiétogène des protéines a été confirmée quand les rats, élevés sur un régime normoprotéique, et recevant trois repas par jour, ingèrent un en-cas protéiné. Les protéines dépriment plus la prise alimentaire lors du repas suivant que les glucides. L'analyse de la séquence alimentaire montre que la diminution de la taille du repas induite par les charges protéiques 35% et 50% est due à un effet satiétogène et non à une aversion gustative conditionnée. Notre étude a aussi montré que plusieurs paramètres biochimiques (aminoacidémie totale, acides aminés branchés ...) ou hormonaux (leptinémie) sont susceptibles d'être à la base des signaux envoyés au cerveau pour initier la baisse de prise alimentaire. En résumé, les rats ne développent pas une aversion gustative conditionnée vis à vis du régime hyperprotéique. Les modifications de la prise alimentaire et du comportement, correspondent plus à un effet sur-satiétogène du régime hyperprotéique combiné à sa faible palatabilité et à une nécessaire adaptation métabolique de l'animal à ce régime. Nos résultats, que ce soit dans le cadre de l'ingestion d'un régime hyperprotéique ou, plus simplement lors d'un repas, montre que l'ingestion de protéines s'accompagne d'un effet satiétogène qui reste à expliquer.

Mots clés : Satiété ; Protéine ; Carbohydate ; Gluten de blé ; Amidon de blé ; Protéine de lait totale ; Protéine de soja ; Analyse de la séquence alimentaire ; Palatabilité ; Rats.

Abstract

In order to determine the respective roles of conditioned food aversion, satiety and palatability, we studied behavioral responses of rats fed high protein diets (50%) containing either total milk protein or wheat gluten or soya protein, compared with those to a normal protein diet containing 14% total milk protein. Different paradigms were used, including meal pattern analysis, two choice testing, flavor testing, a behavioral satiety sequence and taste reactivity. Our experiments showed that only behavioral and food intake parameters were disturbed during the first day when an animal ate the high protein diet, and that most parameters returned to baseline values as soon as the second day of high protein diet. The types of protein used in the diet did not seem to influence behavioral responses. Rats adapted to high protein diet did not acquire a conditioned taste aversion but exhibited satiety, and a normal behavioral satiety sequence. The initial reduction in high protein diet intake appeared to result from the lower palatability of the food combined with the satiety effect of the high protein diet and the delay required for metabolic adaptation to the higher protein level. Secondly, we studied satiety effects of loads of protein versus carbohydrate on subsequent food intake in rats. We used an intra-oral canula to deliver isoenergetic isovolumic loads, in a tightly controlled time frame allowing for both metabolic responses and orosensory components of the load. Our results showed that the gluten load (GLT-100%) induced a greater depression in food intake than an isocaloric wheat starch load (GLT-0%). The types of protein used in the load (total milk protein versus GLT) did not seem to influence their appetite suppressive effect. There was a dose dependant effect of the satiating effects of the protein loads, the GLT-100% load being more effective than either the GLT-50% or GLT-35% loads. At least one day was necessary before there was a significant decrease in the energy intake following the protein loads. Thus, the animals had to learn the post-ingestive effects of the loads before the response was stabilized. Taken together, the present results confirm that protein has a greater satiating effect than carbohydrate and extend these results by revealing that the larger the proportion of protein in the food, the larger the satiating effect, and that the quality of protein does not seem to play a significant role. Our results show that the ingestion of a HP diet or more simply a HP meal are accompanied by a satiety effect which remains to be explained.

Keywords : Feeding Behavior, Satiety; Protein; Carbohydrate; Food pattern; Wheat gluten; Wheat starch; Total milk protein; Soya protein; Analysis of food pattern; Palatability; Rats.

Table des matières

<i>Remerciements</i>	3
<i>Résumé</i>	4
<i>Abstract</i>	5
<i>Table des matières</i>	6
<i>Liste des tableaux</i>	9
<i>Liste des figures</i>	10
<i>Liste des annexes</i>	12
<i>Liste des abréviations</i>	13
<i>Liste des publications</i>	15
INTRODUCTION GENERALE	17
1. Introduction	18
2. Données Bibliographiques	21
2.1. Données générales concernant les protéines	21
2.1.2. Propriétés nutritionnelles des protéines alimentaires	21
2.1.1. Conséquences nutritionnelles des régimes hyperprotéiques	22
2.2. Influence des protéines sur la prise alimentaire	24
2.2.1. Protéines et satiété	24
2.2.2. Existence d'un appétit spécifique pour les AAE et pour les protéines	25
2.2.3. Régulation de l'ingestion des protéines	26
2.2.4. Influence des régimes hyperprotéiques sur la prise alimentaire	28
2.3. Mécanismes intervenant dans l'influence des protéines sur la prise alimentaire	30
2.3.1. Rôle des informations sensorielles oropharyngées	30
2.3.2. Le rôle du tube digestif et notamment du nerf vague	31
2.3.3. Rôle de la dépense énergétique	32
2.3.4. Facteurs (Signaux) post-absorptifs	33
2.3.5. Rôle de l'ammoniaque ou d'un excès éventuel de l'ingestion d'un acide aminé apporté par le régime hyperprotéique	34
2.4. Intégration des informations au niveau du système nerveux central	35
TRAVAUX PERSONNELS	38

1. Matériel et Méthodes	40
1.1. Animaux	40
1.2. Régimes	40
1.2.1. Régime standard	40
1.2.2. Régimes expérimentaux	40
1.2.3. Charges	41
1.3. Analyse de la séquence alimentaire	41
1.3.1. Enregistrement du signal de prise alimentaire	41
1.3.2. Caractérisation de la séquence alimentaire	42
1.3.2.1. Analyse globale	42
1.3.2.2. Analyse par quart de cycle	42
1.4. Analyse de la séquence comportementale de satiété et le test de réactivité gustative (vidéo analyse)	43
1.5. Administration des charges et prélèvement sanguin	44
1.5.1. Chirurgie	44
1.5.1.1. Implantation de cathéters buccaux	44
1.5.1.2. Implantation de cathéters veineux	44
1.5.2. Administration des charges	45
1.5.3. Prélèvements sanguins	45
1.5.4. Analyses Biochimiques	46
1.5.4.1. Dosages enzymatiques	46
1.5.4.2. Dosages hormonaux	46
1.5.4.3. Analyse des acides aminés plasmatiques	46
1.5.4.3.1. Préparation des échantillons	46
1.5.4.3.2. Principe du dosage	46
1.5.4.3.3. Analyseur Bio-Tek (St Quentin-en-Yvelines)	47
1.6. Analyse Statistique	48
2. Résultats	49
2.1. Etude du rôle éventuel de l'aversion gustative et/ou de la satiété conditionnée dans la dépression de la prise énergétique induite par l'ingestion de régimes hyperprotéiques	49
2.1.1. Etude des rythmes de prises alimentaires induits par l'ingestion de régimes hyperprotéiques	49
2.1.1.1. Expérience 1	49
2.1.1.2. Expérience 2	50
2.1.1.3. Expérience 3	51
2.1.1.4. Expérience 4	52
2.1.1.5. Expérience 5	54
2.1.2. Aversion <i>versus</i> satiété : l'apport des techniques de choix	55
2.1.2.1. Expérience 1	55
2.1.2.2. Expérience 2	57
2.1.2.3. Expérience 3	58

2.1.3.	Analyse de la séquence comportementale de satiété (SCS) et le test de réactivité gustative suite à l'ingestion des régimes hyperprotéiques	60
2.1.3.1.	Expérience 1	61
2.1.3.1.1.	Séquence comportementale de satiété	61
2.1.3.1.2.	Test de réactivité gustative (TRG).	62
2.1.3.2.	Expérience 2	62
2.1.3.2.1.	Séquence comportementale de satiété	63
2.2.	Etude du pouvoir satiétogène de charges protéiques	65
2.2.1.	Expérience 1	65
2.2.2.	Expérience 2	68
2.2.3.	Expérience 3	69
2.2.3.1.	Glycémie	70
2.2.3.2.	Insulinémie	71
2.2.3.3.	Leptinémie	71
2.2.3.4.	Urémie et ammoniémie	71
2.2.3.5.	Acides aminés totaux (AAT)	72
2.2.3.6.	Acides aminés essentiels (AAE)	73
2.2.3.7.	Acides aminés non essentiels (AANE)	73
	DISCUSSION GENERALE	75
1.	Dépression de la prise alimentaire et moindre prise de poids induites par un régime hyperprotéique	77
1.1.	Faible palatabilité des régimes hyperprotéiques	77
1.2.	Régime hyperprotéique et absence d'aversion gustative conditionnée, présence de satiété	78
1.3.	Un régime hyperprotéique ne se traduit pas par un « sur-rassasiement »	82
2.	Effet satiétogène des protéines	83
2.1.	Caractérisation du pouvoir satiétogène des protéines	83
2.2.	Corrélations entre le pouvoir satiétogène de charges hyperprotéiques et les variations des paramètres biochimiques	85
	CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	91
	BIBLIOGRAPHIE	94
	<i>Annexe 1 Définitions</i>	<i>113</i>
	<i>Annexe 2 Techniques</i>	<i>119</i>
	<i>Annexe 3 Tableaux</i>	<i>121</i>
	<i>Annexe 4 Figures</i>	<i>134</i>

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition du régime standard de laboratoire.....	121
Tableau 2. Composition des régimes expérimentaux	121
Tableau 3. Composition en acides aminés des trois protéines utilisées dans les régimes expérimentaux : gluten, protéines de lait totales (PLT) et protéine de soja.	122
Tableau 4. Composition des charges.....	122
Tableau 5. Paramètres décrivant la séquence alimentaire du rat.	123
Tableau 6. Description des expressions faciales et corporelles recensées dans le test de réactivité gustative. .	125
Tableau 7. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant de la PLT (P50).....	126
Tableau 8. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant du gluten (G50).	127
Tableau 9. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant du soja (S50).	128
Tableau 10. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J ₀) et HP (P50, J ₁ , J ₂ , J ₃ et J ₁₄) pendant la 1 ^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.	129
Tableau 11. Réactions gustatives et faciales, hédoniques, neutres et aversives (%), lors du régime NP (P14, J ₀) et HP (P50, J ₁ , J ₂ et J ₁₄).	129
Tableau 12. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J ₀) et HP (G50, J ₁ , J ₂ , J ₂ et J ₁₄) pendant la 1 ^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.....	130
Tableau 13. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J ₀) et HP (S50, J ₁ , J ₂ , J ₃ et J ₁₄) pendant la 1 ^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.....	130
Tableau 14. Prise énergétique basale lors des trois repas quotidiens. (A) : groupes GLT (0%-100%) et (B) : groupes GLT, PLT, SOJA et ALB (50%).....	131
Tableau 15. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges protéiques GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% (A) et de la nature de la protéine des charges GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% (B) sur le gain de poids.	131
Tableau 16. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50%, GLT-100% sur les paramètres de la séquence alimentaire (durée et taille du repas et vitesse d'ingestion) lors du dîner (repas test).....	132
Tableau 17. Prise énergétique basale (kJ) lors des trois repas quotidiens, dans les groupes GLT-0% et GLT-35%.	132
Tableau 18. Concentration plasmatique moyenne des acides aminés non essentiels (μmol/l), avant et après le repas test, lors de la période basale et la période de charge, dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%. .	133

Liste des figures

Figure 1. Expressions faciales (dessins A à D) et somatiques (dessins E à J).....	134
Figure 2. Développement image par image d'un entrebâillement des mandibules.....	135
Figure 3. Implantation de cathéter dans la veine jugulaire droite chez le rat.....	136
Figure 4. Prise énergétique quotidienne des rats nourris au P14 (●) pendant toute l'expérience et des rats nourris au P50 (°) de J ₁ à J ₁₄	137
Figure 5. Evolution du poids corporel des rats nourris au P14 (●) et des rats au P50 (°).....	137
Figure 6. Prise énergétique quotidienne (%) lors du régime hyperprotéique (P50, G50 et S50) dans les groupes P50 (n=6), G50 (n=6) et S50 (n=6).....	138
Figure 7. Evolution de la prise de poids cumulée dans les groupes P50 (n=6), G50 (n=6) et S50 (n=6) lors du dernier jour de P14 et lors du 1 ^{er} et dernier jour de régime hyperprotéique (P50, G50 et S50).....	138
Figure 8. (a) Prise énergétique cumulée lors de la transition du régime P14 (J ₀) vers le régime P50 (J ₁ et J ₂) ; (n=8).....	139
Figure 9. Prise énergétique cumulée (kJ) lors de la transition du régime P14 (J ₀) vers le régime P50 (J ₁ et J ₂) ; (n=8) durant les 30 premières minutes.....	140
Figure 10. Prise énergétique par quart de cycle (kJ) lors de la transition du régime P14 (J ₀) vers le régime P50 (J ₁ et J ₂) ; (n=8).....	140
Figure 11. Paramètres du repas (nombre, IMI, durée, taille et vitesse d'ingestion) et énergie ingérée totale en fonction du jour de présentation des régimes P14 (J ₀) et P50 (J ₁ et J ₂) ; n=8.....	141
Figure 12. Prise énergétique cumulée (kJ), des groupes P 50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), après adaptation au régime de P14 (J ₀) et passage au régime P50 (J ₁ et J ₂).....	142
Figure 13. Prise énergétique cumulée (kJ) pendant les 30 premières minutes des groupes P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), après adaptation au régime de P14 (J ₀) et passage au régime P50 (J ₁ et J ₂), respectivement.	142
Figure 14. Prise énergétique par quart de cycle des groupes P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), lors des jours J ₁ et J ₂ par rapport au jour J ₀ du régime P14.....	143
Figure 15. Paramètres du repas (nombre de repas, IMI, durée et vitesse d'ingestion). en fonction du jour de présentation des régimes P14 (J ₀) et HP [P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6)] (J ₁ et J ₂) ; n=6.....	144
Figure 16. Prise énergétique cumulée (kJ) après adaptation dans les groupes P14 (n=8) et P50 (n=8), lors du cycle nuit.....	145
Figure 17. Prise énergétique par quart de cycle (kJ), après adaptation (J ₁₄) dans les groupes P50 (n=8) et P14 (n=8).....	145
Figure 18. Paramètres du repas après adaptation (nombre de repas, IMI, durée et taille du repas, et vitesse d'ingestion) dans les groupes P50 (n=8) et P14 (n=8).....	146
Figure 19. Préférence pour le nouveau régime (%). Elle est exprimée sous forme de rapport : [(énergie ingérée du nouveau régime) x 100 / énergie ingérée (nouveau régime + régime expérimenté)].....	147
Figure 20. Préférence pour le nouveau régime (%)......	148
Figure 21. Préférence pour la nouvelle saveur d'eau aromatisée à la vanille ou à l'amande, à l'issue de la première heure du choix test chez les cinq groupes d'animaux.....	149

Figure 22. Evolution des phases de la SCS (bouffées alimentaires, de toiletteage, d'activité et de repos) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 (J_0) après adaptation, du régime P50, lors de l'adaptation (J_1 , J_2 et J_3) et après adaptation (J_{14}).	150
Figure 23. Evolution de la SCS (bouffées alimentaires, toiletteage, activité et repos) dans le cas de l'ingestion d'un régime HP contenant du gluten (G50) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 (J_0) après adaptation, du régime G50 lors de l'adaptation (J_1 , J_2 et J_3) et après adaptation (J_{14}).	151
Figure 24. Evolution de la SCS (bouffées alimentaires, toiletteage, activité et repos) dans le cas de l'ingestion d'un régime HP contenant de la protéine de soja (S50) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 après adaptation (J_0), du régime S50 lors de l'adaptation (J_1 , J_2 et J_3) et après adaptation (J_{14}).	152
Figure 25. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% sur l'énergie ingérée au dîner.	153
Figure 26. Effet de la nature des protéines des charges GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% sur l'énergie ingérée au dîner.	153
Figure 27. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges protéiques GLT-0%, GLT-35%, GLT-50%, GLT-100% sur l'énergie ingérée totale.	154
Figure 28. Effet de la nature de la protéine des charges protéiques GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% sur l'énergie ingérée totale.	154
Figure 29. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% sur l'énergie ingérée au déjeuner.....	155
Figure 30. Effet de la nature de la protéine des charges GLT-50%, SOJA-50%, PLT-50%, et ALB-50% sur l'énergie ingérée au déjeuner.....	155
Figure 31. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, 35%, 50% et 100% sur l'énergie ingérée en 24h.....	156
Figure 32. Effet de la nature de la protéine des charges GLT-50%, SOJA-50%, PLT-50%, et ALB-50% sur l'énergie ingérée en 24h.....	156
Figure 33. Prise énergétique moyenne (kJ) lors du dîner, dîner+charge (D+C), déjeuner et totale, dans les deux groupes de rats « GLT-0% » et « GLT-35% », pendant la période basale et la période de charge.	157
Figure 34. Gain de poids cumulé au dernier jour de charge J_4	157
Figure 35. Evolution de la glycémie, l'insulinémie, la leptinémie, l'urémie et l'ammoniémie, pendant la période basale (B) et la période de charge moyenne (M), dans les groupes GLT-0% et GLT-35%.	158
Figure 36. Concentration moyenne ($\mu\text{mol/l}$).des AA plasmatiques totaux, AAE, AANE, AACLR et AANG, avant et après le repas test, lors de la période de base et de charge, dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%.	159
Figure 37. Evolution des acides aminés essentiels plasmatiques ($\mu\text{mol/l}$), avant et après le repas test, lors de la période de base (B) et la période de charge (M), dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%.	160
Figure 38. Schéma du dispositif expérimental d'administration de charge, d'enregistrement de la prise alimentaire et de prélèvement du sang.....	161
Figure 39. Schéma représentant les éléments associés du cathéter veineux.	162
Figure 40. Schéma représentant les éléments associés du cathéter buccal.....	162

Liste des annexes

<i>Annexe 1 Définitions</i>	113
<i>Annexe 2 Techniques</i>	119
<i>Annexe 3 Tableaux</i>	121
<i>Annexe 4 Figures</i>	134

Liste des abréviations

AA	Acide(s) aminé(s)
AAE	Acide(s) aminé(s) essentiel(s)
AAANE	Acide(s) aminé(s) non-essentiel(s)
AACLR	Acide(s) aminé(s) à chaîne latérale ramifiée
AANG	Acide(s) aminé(s) néoglucogénique(s)
AAT	Acides aminé totaux
ADS	Action dynamique spécifique
AHA	American Heart Association
ALB	Alpha-lactalbumine
ATP	Adénosine tri-phosphate
CCK	Cholecystokinine
CPA	Cortex pyriforme antérieur
DEV	« <i>Devoid</i> ». Régime dépourvu d'un acide aminé indispensable (carence totale)
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
G50	Régime alimentaire hyperprotéique contenant 50% de protéines de blé (gluten)
GLT	Gluten
HP	Hyper-protéique
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
IMB	« <i>Imbalance</i> ». Régime déséquilibré en acide aminé indispensable (carence partielle)
IMI	Intervalle <i>inter</i> -repas
IP	Intra-péritonéale
KJ	kilo Joules
MS	Matière sèche
NP	Normo-protéique
NRC	<i>National Research Council</i>

NTS	Noyau du tractus solitaire
P/E	Rapport de protéines ingérées sur la prise énergétique totale
P14	Régime alimentaire équilibré contenant 14% de protéines totales de lait
P50	Régime alimentaire hyperprotéique contenant 50% de protéines totales du lait
PLT	Protéines de lait totales
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RIA	Méthode radio-immunologique (« <i>Radio Immunologic Assay</i> »)
S50	Régime alimentaire hyperprotéique contenant 50% de protéines de soja
SCS	Séquence comportementale de satiété
SC	Sous-cutanée
SNC	Système nerveux central
TRG	Test de réactivité gustative

Liste des publications

I. Articles :

- **BENSAID, A.** ; TOMÉ, D. ; L'HEUREUX-BOURON, D. ; EVEN, P. ; GIETZEN, D. ; MORENS, C. ; GAUDICHON, C. ; LARUE-ACHAGIOTIS, C. & FROMENTIN, G. A high protein diet induces an enhanced satiety without conditioned taste aversion in rat. *Physiol. Behav.*, 2003, 78, 311-320.
- **BENSAID, A.** ; TOMÉ, D. ; GIETZEN, D. ; EVEN, P. ; MORENS, C. ; GAUSSERES, N. & FROMENTIN, G. Protein is more potent than carbohydrate for reducing appetite in rats. *Physiol. Behav.*, 2002, 75, 577-582.
- MORENS, C. ; GAUDICHON, C. ; FROMENTIN, G. ; MARSSET-BAGLIERI, A. ; **BENSAID, A.** ; LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; LUENGO, C. & TOMÉ, D. Daily delivery of dietary nitrogen to the periphery is stable in rats adapted to increased protein intake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001, 281, E826-E836.
- L'HEUREUX-BOURON, D. ; TOMÉ, D. ; **BENSAID, A.** ; MORENS, C. ; EVEN, P. & FROMENTIN, G. Role of several pre-absorptive factors on food intake depression induced by a high protein diet in the rat. *Soumis*.
- **BENSAID, A.** ; FROMENTIN, G. ; MORENS, C. ; ORIOL, E. ; BONANO, M. & TOMÉ, D. Yield proteins enhanced satiety induced by proteins in rats. *Soumis*.
- LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; **BENSAID, A.** ; NAVIS, M. L. ; GAUSSERÉS, N. & TOMÉ, D. & FROMENTIN, G. Influence of nibblings and strains on body weight gain and food intake of rats, Wistar vs Dark Agouti. *En préparation*.

II. Communications :

- FROMENTIN, G. ; MORENS, C. ; **BENSAID, A.** ; EVEN, P. ; GAUDICHON, C. ; SHARP, J. W. ; GIETZEN, D. ; & TOMÉ, D. A high protein diet rather induces satiety than conditioned food aversion in rats. *Eighth Benjamin Franklin/Lafayette Seminar*, La Napoule, Mandelieu, France, 2-8 juin, 2002. Communication orale.
- **BENSAID, A.** ; TOMÉ, D. ; L'HEUREUX-BOURON, D. ; EVEN, P. ; GIETZEN, D. ; MORENS, C. ; GAUDICHON, C. & FROMENTIN, G. A high protein diet does not induce a conditioned food aversion in rats. *FASEB Experimental Biology*, New Orleans, LA, USA, 20-24 avril, 2002. Communication orale.

- FROMENTIN, G. ; **BENSAID, A.** ; EVEN, P. ; GAUSSERES, N. ; & TOMÉ, D. Satiety Effect of Proteins in Rats. *Annual meeting of the society for the study of ingestive behavior (SSIB)*, Dublin, Irlande, 24-29 juillet, 2000. Communication Orale.
- LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; NAVIS, ML. ; **BENSAID, A.** ; LACROIX, M. ; FROMENTIN, G. ; GAUSSERÉS, N. & TOMÉ, D. Influence of nibblings and strains on body weight gain and food intake of rats, Wistar vs Dark Agouti. *Annual meeting of the society for the study of ingestive behavior (SSIB)*, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 26-30 juin, 2001. Communication orale.
- **BENSAID, A.** & FROMENTIN, G. Un régime hyperprotéique n'induit pas d'aversion gustative conditionnée chez le rat. *Colloque Sciences Alimentaires de l'Ecole Doctorale ABIES*. Massy, France, 28-29 mai 2001. Communication orale.
- **BENSAID, A.** ; FROMENTIN, G. ; EVEN, P. ; GAUSSERES, N. & TOMÉ, D. Effet satiétogène des protéines alimentaires chez le rat. *17^{ème} Journées Francophones de la Nutrition (AFERO)*. Paris, France, 27-28 janvier 2000. Communication affichée.
- **BENSAID, A.** ; FROMENTIN, G. ; EVEN, P. ; GAUSSERES, N. & TOMÉ, D. Effet satiétogène des protéines alimentaires chez le rat. *18^{ème} Journées Francophones de la Nutrition (AFERO)*. Toulouse, France, 30 novembre-1 décembre 2000. Communication orale et affiché.
- **BENSAID, A.** ; FROMENTIN, G. ; EVEN, P. ; GAUSSERES, N. & TOMÉ, D. Effet satiétogène des protéines alimentaires chez le rat. *3^{èmes} Journées Francophones de Nutrition (JFN)*, Strasbourg, France, 6-8 décembre, 1999. Communication Orale.

INTRODUCTION GENERALE

1. Introduction

Les animaux monogastriques régulent en grande partie leur consommation d'aliments de façon à couvrir leur besoin énergétique. Un accroissement de la concentration énergétique de l'aliment peut ainsi se traduire par une réduction de la quantité ingérée et inversement, de telle sorte que l'énergie ingérée varie peu. Mais la consommation est aussi en partie influencée par la teneur en protéine et en acides aminés essentiels de l'aliment. Les animaux doivent donc trouver dans leur alimentation l'ensemble des constituants nécessaires à leur fonctionnement dont les protéines. Il est admis que le besoin en protéines de l'organisme correspond à celui nécessaire à la couverture des besoins en azote et en acides aminés essentiels pour les synthèses protéiques corporelles.

Chez l'homme, dans les sociétés occidentales, les régimes alimentaires sont fréquemment caractérisés par des apports protéiques élevés. En effet, les recommandations d'apport minimal sont de 0.83 g/kg/jour¹, et les études épidémiologiques rapportent des consommations moyennes de 1 à 2 g/kg/jour (FAO, 1990 ; Rigaud *et al.*, 1997). De plus, dans certains milieux sportifs (musculture) la consommation de protéines dépasserait les 4 à 5 g/kg/jour. Certains auteurs préconisent l'utilisation de régimes hyperprotéiques à des fins d'amaigrissement (Howard, 1989 ; Apfelbaum, 1993). D'autres auteurs préconisent le contraire prenant comme argument le faible choix de produits à haute teneur protéique, de la méconnaissance des conséquences nutritionnelles à long terme de l'utilisation de régime à haute teneur en protéines (AHA, 2001). Chez le rat adulte, une commission *ad hoc* (National Research Council aux USA, NRC) a fixé à 14% de caséine enrichie en cystéine, la teneur en protéines que doit fournir le régime normal (NRC, 1995). Cet apport couvre largement le besoin en acides aminés essentiels et en azote nécessaire à l'entretien des besoins du rat adulte (Reeves, Nielsen & Fahey, 1993). Toutefois, diverses études font aussi apparaître chez le rat des consommations spontanées nettement au-dessus de cette valeur lorsque l'animal en a la possibilité.

Les recherches conduites sur l'influence de la teneur en protéine du régime sur la prise alimentaire se sont en grande partie intéressées aux régimes carencés en protéines ou en acides aminés essentiels. Ces études ont montré : (i) une aversion pour les régimes très pauvres en protéines ou déficients en un acide aminé essentiel ; (ii) une augmentation de la consommation de l'aliment à teneur limitée en protéine afin d'atteindre un certain niveau de protéine. Concernant les régimes riches en protéines, il est établi que, à court terme, l'ingestion par un omnivore

¹ Recommandations du comité d'experts de la FAO (réunion du 10 au 17 avril 2002 à Genève).

d'un régime hyperprotéique s'accompagne dès les premières heures d'une diminution de la prise alimentaire, suivi par une perte de poids. Les conséquences à long terme d'une consommation élevée de protéines restent mal connues et controversées. Lorsque l'apport d'AA dépasse les besoins de l'organisme, l'excès est catabolisé et éliminé principalement sous forme d'urée car les acides aminés apportés en excès par rapport aux besoins ne sont pas stockés en l'état (revue dans Waterlow, 1996). Si l'organisme a une grande capacité d'élimination d'un excès d'azote alimentaire, il existe une limite supérieure à partir de laquelle le cycle de l'urée ne fait plus face et on voit apparaître un excès d'ammoniaque, substance hautement neurotoxique. Après plusieurs jours d'excès protéique, l'organisme pourra plus ou moins adapter ses capacités de dégradation enzymatique du cycle de l'urée et ainsi procéder à un accroissement de ses capacités du catabolisme des AA.

La baisse de l'ingestion provoquée par les régimes hyperprotéiques pourrait être le fruit de l'installation d'une aversion conditionnée. En effet, outre une anorexie partielle, les rats, lorsqu'ils ont en le choix, évitent les régimes hyperprotéiques et préfèrent des régimes à plus faible teneur en protéines. Ceci reste vrai même lorsque les rats sont habitués au régime hyperprotéique. Tews, Repa & Harper (1992) ont montré que des rats, habitués à un régime à 70% MS de caséine, choisiront invariablement, entre un régime à 6% MS de caséine et à 65% MS de caséine, le régime le moins riche en protéines. D'autres expériences réalisées par Harper (Peters, 1983) ont montré qu'un rat adapté à un régime à 35% MS caséine, s'il a le choix entre un régime à 15 ou 55% MS de caséine, préfère aussi celui à plus faible teneur protéique. Selon Semon *et al.* (1987a), l'aversion induite à court terme par un régime hyperprotéique est due dans un premier temps à des effets oro-sensoriels immédiats (faible palatabilité de l'aliment) relayés par l'installation d'une aversion conditionnée alimentaire associée à des mécanismes post-ingestifs. Les signaux déclencheurs de cette aversion conditionnée ne sont pas connus. Ils pourraient, par exemple, être soit une détection directe de l'élévation des acides aminés plasmatiques (hypothèse aminostatique), soit un effet indirect lié à l'élévation de l'ammoniémie, soit un signal indirect lié à d'autres conséquences toxiques de l'élévation d'un acide aminé en particulier. ***Cependant, la dépression de la prise énergétique provoquée par les régimes hyperprotéiques pourrait aussi être le fruit de l'installation d'un mécanisme de satiété.*** En effet, il semble que les protéines soient le macronutriment au plus fort pouvoir satiétogène.

Le projet de cette thèse vise à identifier et étudier les mécanismes qui sont à l'origine de la dépression de prise alimentaire induite par l'ingestion des protéines.

Ce travail s'articule de ce fait en deux parties :

- L'étude du rôle éventuel de l'aversion gustative et/ou de la satiété conditionnée dans la dépression de la prise énergétique induite par l'ingestion de régimes hyperprotéiques. A cette fin nous avons tout d'abord étudié, dans nos conditions expérimentales, l'influence de l'ingestion de régimes hyperprotéiques sur la prise énergétique et l'évolution du poids corporel à long terme. Afin de caractériser les modifications des repas induites par l'ingestion du régime hyperprotéique, nous avons réalisé une analyse de la séquence alimentaire, un test de préférence entre deux régimes l'un normoprotéique et l'autre hyperprotéique et, enfin, une analyse de la séquence comportementale de satiété suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques.
- La caractérisation de l'effet satiétogène des protéines alimentaires sur la prise énergétique et sur l'évolution du poids en fonction de la composition en macronutriments (protéines par rapport aux glucides), de la teneur en protéines et de la nature de protéines. Afin de mettre en évidence quels paramètres biochimiques pourraient être des précurseurs des signaux métaboliques à l'origine de la dépression de la prise alimentaire suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques, nous avons entrepris une analyse des différences des réponses métaboliques périprandiales associées à l'ingestion d'un repas hyperprotéique par rapport à un repas hyperglucidique isoénergétique. Nous avons plus particulièrement étudié l'insuline et la leptine, qui sont les hormones principales impliquées dans le contrôle du devenir métabolique des substrats énergétiques apportés par le repas. Nous avons aussi étudié le glucose et les acides aminés, pour le suivi des principaux substrats énergétiques impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire. Le dosage des taux d'urée plasmatique a aussi été réalisé pour estimer les taux d'oxydation des acides aminés.

Auparavant, je présenterai dans la partie bibliographique tout d'abord des données générales concernant les protéines, leur influence sur la prise alimentaire, puis un résumé des mécanismes fondamentaux qui sous-tendent l'action des protéines dans l'établissement de la satiété. Enfin, j'exposerai l'état actuel des connaissances sur l'intégration au niveau du système nerveux central des informations relatives à la quantité de protéines ingérées.

2. Données Bibliographiques

L'existence de mécanismes de régulation de la prise alimentaire, visant à adapter l'ingestion en protéines aux besoins, est reconnue (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970 ; Anderson, 1979 ; Harper & Peters, 1989). Il faut cependant distinguer diverses situations (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970) comprenant d'une part la teneur en protéines du régime et d'autre part sa teneur en acides aminés essentiels. Ces différentes situations influencent différemment la prise alimentaire.

2.1. Données générales concernant les protéines

2.1.2. Propriétés nutritionnelles des protéines alimentaires

La valeur nutritionnelle d'une protéine alimentaire peut être définie comme son aptitude à satisfaire les besoins quantitatifs de l'organisme en matières azotées pour couvrir ses besoins d'entretien, et éventuellement de croissance ou de lactation. La valeur nutritionnelle dépend donc en premier lieu de la composition de la protéine en AA. Mais encore faut-il que les AA soient disponibles. La disponibilité d'un AA est influencée par des facteurs liés à l'état physiologique de l'animal et aussi à l'aliment lui-même. La disponibilité d'un AA dans une protéine va donc dépendre de la composition protéique de l'aliment mais aussi de toute une série d'éléments comme la présence de facteurs antinutritionnels, l'état de vieillissement de l'aliment (conditions de stockage) et les transformations technologiques subies par l'aliment. Par exemple, les traitements thermiques peuvent induire une réaction de Maillard au cours de laquelle les AA impliqués sont rendus indisponibles. La diminution de la disponibilité peut, dans certaines conditions, atteindre 100%. La lysine occupe une place particulière compte tenu de sa faible concentration dans diverses protéines alimentaires végétales et de son oxydation facile due à sa structure chimique.

Les apports protéiques recommandés tiennent compte du facteur de variabilité individuelle concernant le besoin. Cependant, de nombreuses incertitudes pèsent encore sur la détermination du besoin en AA et en azote de l'homme mais aussi d'autres animaux tels que le rat, et ceci est principalement dû aux limites méthodologiques des diverses méthodes utilisées (bilan azoté, utilisation de traceurs, etc.). En cas d'alimentation avec un seul aliment tel que souvent pratiqué pour le rat, la moindre qualité nutritionnelle de certaines protéines (par exemple le gluten) sera compensée quand l'aliment en contient une teneur suffisamment haute pour couvrir les besoins en AA de l'animal (Dean & Edwards, 1985). C'est le cas des régimes hyperprotéiques fabriqués à partir du soja ou du gluten. Dans certains cas, l'accroissement du

taux d'incorporation de la protéine ne permettra pas de couvrir l'apport recommandé en tel ou tel AAE (zéine avec la lysine, ou gélatine avec le tryptophane).

Les régimes dits « normo-protéiques » permettent de satisfaire le besoin énergétique et le besoin en azote et en acides aminés essentiels pour assurer les synthèses protéiques corporelles. Dans le cas des régimes « hyper-protéiques », la teneur en protéines (même équilibrée) est excessive. Cet excès correspond à l'ingestion d'un régime contenant au minimum 40% du total de l'énergie ingérée (Harper & Peters, 1989). Néanmoins, cette valeur n'est pas définitive : elle varie selon les auteurs (par exemple 54% pour Miller et Payne, 1963). Dans le cas des régimes à faible teneur protéique, la teneur en protéines, quoique équilibrée, est faible et ne couvre pas les besoins du rat en AAE pour une croissance optimale. Un régime à 6% de caséine fait partie de cette catégorie. Pour le rat adulte, la limite inférieure de la teneur en une protéine équilibrée serait de 4% (Smith & Johnson, 1967). En dessous de ce seuil, un régime serait à classer dans la catégorie des régimes dépourvus d'un AAE et (ou) dans celle des régimes sans protéine. Enfin un régime sans protéine ne contient strictement aucune protéine.

On distingue par ailleurs les régimes déséquilibrés (IMB) pour lesquels un des AAE est apporté à une teneur inférieure à celle nécessaire à une croissance optimale. ***On retiendra la notion d'AAE limitant.*** Dans le cas des déséquilibres, le niveau de l'AAE limitant peut être seulement de 1/5 de celui préconisé par le NRC. Dans les régimes dépourvus en un AAE (DEV) que la teneur en protéine soit suffisante ou non, un des AAE est absent. Enfin dans les régimes toxiques un des AA est en grand excès. Cette notion d'excès dépendra de chaque AA car les conséquences pathologiques de l'ingestion à court ou long terme d'un excès en un AA sont extrêmement variables. Ainsi, une ingestion excessive de tyrosine (de 2.5 à 20% du régime) peut se traduire par des conséquences allant de lésions des yeux jusqu'à la mortalité. A l'autre extrémité, la thréonine est bien tolérée : une ingestion d'un régime contenant 8% de thréonine n'entraîne qu'une légère baisse de prise alimentaire et un petit retard de croissance. Dans le cas d'une toxicité, la concentration de l'AA devrait être au moins de deux fois celle préconisée dans les apports recommandés pour une croissance rapide.

2.1.1. Conséquences nutritionnelles des régimes hyperprotéiques

Ces 20 dernières années, le développement de l'épidémiologie descriptive et des enquêtes alimentaires a permis de mettre en évidence une augmentation de la consommation de produits d'origine animale et de matières grasses dans tous les pays occidentaux, se traduisant par des ingestions de 1 à 2 g/kg/jour de protéines dans les pays industrialisés, ce qui correspond à une surconsommation de protéines par rapport aux recommandations estimées à

0,83 g/kg/j. Ces données conduisent à essayer de comprendre les conséquences de l'ingestion d'un régime riche en protéines. Cette consommation à long terme d'un régime riche en protéines a fait l'objet de critiques nutritionnelles. Parallèlement, la proportion d'individus en surpoids a nettement augmenté ces dernières années dans les pays industrialisés. De ce fait, Rolland-Cachera *et al.* (1995), par exemple, ont émis l'hypothèse que l'ingestion d'un régime trop riche en protéines trop tôt au début de la vie, pourrait favoriser le développement de l'obésité en provoquant une maturation accélérée des tissus et une multiplication plus précoce des cellules du tissu adipeux.

Les résultats des études à long terme d'une surnutrition protéique chez l'animal de laboratoire semblent cependant en contradiction avec l'hypothèse d'un rôle des protéines sur le développement de l'obésité chez le jeune rat (Toyomizu *et al.*, 1989) et chez l'animal de ferme (Bass *et al.*, 1990). Pour un niveau d'apport énergétique donné, l'engraissement de la carcasse de porc augmente quand la participation relative des protéines à l'apport énergétique total (le rapport protéine/calorie (P/E)) diminue, et ceci pour un poids corporel final identique. Lorsque le rapport P/E est constant, le niveau d'engraissement augmente en fonction de l'apport énergétique de la ration. Chez le jeune rat, nourri à niveau énergétique constant, Hartsook, Hershberger & Nee (1973) ont montré que l'engraissement diminuait quand le rapport P/E augmentait. Les résultats sont identiques d'une part chez le jeune rat nourri *ad libitum* (Sgarbieri *et al.*, 1973), et d'autre part chez le rat adulte (Parks, 1970) ou chez la souris adulte (Toyomizu *et al.*, 1989), ces animaux étant nourris depuis le sevrage sur un même régime.

Inversement les régimes hyperprotéinés sont de plus en plus utilisés dans l'optique d'une perte de poids ou en complément alimentaire pour l'exercice physique, et peuvent être également employés à des fins thérapeutiques dans les cas d'hyperinsulinémie associée à l'obésité (Baba, 1999). L'influence d'une consommation élevée de protéines sur l'insulinorésistance et l'obésité est donc controversée. En effet, les régimes hyperprotéiques pauvres en glucides favorisent une réduction de la masse adipeuse, une réduction de la glycémie et par conséquent une insulínémie basale basse (Jean *et al.*, 2001). Par contre, il a récemment été montré chez l'homme qu'une adaptation à long terme (six mois) à un régime hyperprotéique (1,8 g/kg/j) entraînait une insulínorésistance, et ce malgré un apport glucidique réduit (Linn *et al.*, 2000). Enfin, d'autres auteurs ont montré chez l'homme que l'ingestion de protéines ne modifie pas l'insulínémie basale (Pacy *et al.*, 1994 ; Forslund *et al.*, 2000).

Parmi les autres effets potentiellement néfastes qui ont été explorés, une seule étude s'est intéressée à l'influence de la teneur en protéines du régime sur le stress oxydant,

notamment l'apparition de produits finaux de la peroxydation lipidique (Petzke *et al.*, 2000), pour conclure que la consommation d'un régime riche en protéines pendant 4 mois ne provoquait pas d'augmentation du stress oxydant chez le rat. En ce qui concerne la fonction rénale, les conséquences de l'ingestion d'un régime riche en protéines sont controversées. L'administration d'un régime riche en protéines chez des patients insuffisants rénaux augmente le taux de pression intra-glomérulaire, diminue le taux de filtration glomérulaire et aggrave leur état (Rudman, 1988). Par contre, il n'a jamais été prouvé qu'un régime hyperprotéique entraînait une dégradation de la fonction rénale chez des sujets sains. On connaît aussi l'effet calciurique des protéines (Orwoll, Weigel & Oviatt, 1987 ; Kerstetter & Allen, 1990), par acidification des urines suite à l'augmentation de l'excrétion des sulfates provenant des acides aminés soufrés. Une modification durable de la balance calcique pourrait entraîner une déminéralisation donc une fragilisation osseuse (Garn & Kangas, 1988). Le sujet reste actuellement très discuté (Pannemans, Schaafsma & Weterterp, 1997 ; Massey, 1998 ; Heaney, 1998).

2.2. Influence des protéines sur la prise alimentaire

2.2.1. Protéines et satiété

La *satiété* est définie comme l'absence de faim ou plus exactement de motivation alimentaire, qui caractérise les périodes interprandiales. Elle a souvent été distinguée du *rassasiement*, qui désigne l'ensemble des mécanismes qui mettent fin à l'ingestion d'un aliment ou d'un repas.

Actuellement, on considère que parmi les trois macronutriments, les protéines ont le pouvoir de satiété le plus élevé chez le rat et l'homme (Booth, Chase & Campbell, 1970 ; Hill & Blundell, 1986 ; Teff, Young & Blundell, 1989 ; French *et al.*, 1992 ; Reid & Hetherington, 1997 ; Porrini, 1997 ; Long, Jeffcoat & Millward, 2000). Toutefois, les différences relatives dans les effets des macronutriments ont été expliquées aussi par l'état physiologique ou physiopathologique des sujets ou par les différences méthodologiques, tels que la durée de la charge ou sa voie d'administration, intragastrique, intraduodénale ou intraveineuse (Geliebter, 1979 ; Rolls, Hetherington & Burley, 1988 ; Barkeling, Rossner & Björvell, 1990 ; Trigazis, Ortmann & Anderson, 1997 ; Reid & Hetherington, 1997 ; Burton-Freeman, Gietzen & Schneeman, 1997).

La satiété d'un repas peut être décrite de façon comportementale par l'intervalle de temps séparant ce repas de la sensation de *faim* déclenchant le début du repas suivant, et/ou par la quantité énergétique ingérée lors de ce second repas. Booth & Thibaut (2000)

contestent les conséquences de la distinction faite entre ces deux termes rappelant qu'ils viennent tous deux de la même racine « *to sate* », cesser ou rassasier ou satisfaire un appétit. En effet, établir une distinction entre les deux termes peut amener, de façon erronée, à vouloir attribuer tels ou tels mécanismes à l'un des deux concepts : facteurs sensoriels ou satiété conditionnelle à la base du rassasiement alors que facteurs viscéraux et métaboliques seraient à la base de la satiété. Or on sait, pour ne citer qu'un exemple, que l'envoi de messages métaboliques commencent bien avant l'arrêt du repas. Donc, le rassasiement et la satiété correspondraient plus à deux facettes d'un même processus continu d'intensité variable au cours du temps en fonction de la nature du repas, des habitudes alimentaires, de l'individu, etc. L'état rassasié commencerait dès le début du repas, augmenterait et continuerait après le repas. On passerait de la satiété à la faim lorsque la demande métabolique de l'organisme dépasse les nutriments disponibles après absorption.

Malgré de nombreuses études, on ne sait pas par quel (s) mécanisme (s), les protéines seraient le macronutriment le plus satiétogène. En outre, si on sait que cette action n'est pas due à l'ingestion de certains acides aminés précurseurs des neurotransmetteurs (Anderson *et al.*, 1994b), la question concernant l'effet satiétogène comparatif d'une protéine entière ou hydrolysée partiellement (à l'état de peptides) ou totalement (mélange d'acides aminés) n'est pas encore résolue (Anderson *et al.*, 1994 a ; b ; c ; Burton Freeman, Gietzen & Schneeman, 1997). Enfin, l'influence de la nature de la protéine intervient sur son pouvoir satiétogène.

2.2.2. Existence d'un appétit spécifique pour les AAE et pour les protéines

L'existence d'appétits spécifiques pour les micronutriments a été démontrée depuis longtemps. Ainsi, par exemple, Richter (1956) a montré que des rats, dont le régime est déficient en sodium, affichent une préférence marquée pour le sodium. De même, Harris, Hargreaves & Ward (1933) ont montré que des rats, déficients en vitamine B₁ (thiamine), avaient une préférence pour le micro nutriment manquant. Scott et son équipe ont vérifié à nouveau les résultats de Harris et les ont étendus à plusieurs vitamines B (pyridoxine et riboflavine) (Scott & Quint, 1946a ; b ; Scott & Verney, 1947 ; 1948). Par contre, aucune préférence n'a été montrée dans le cas du penthoténate et des vitamines A et D. Cependant, dans le cas du penthoténate (vitamine B₅), quand les deux aliments sont différenciés à l'aide d'un arôme, les rats expriment une préférence pour le régime corrigé. Rodgers (1967) a montré que des rats déficients en calcium, avaient une préférence pour le régime enrichi en ce minéral. L'appétit pour le potassium a aussi été démontré (revue dans Rozin, 1976).

L'existence d'appétits spécifiques pour les AAE a aussi été montrée. Halstead et Gallagher (1962) ont montré que des rats, nourris avec un régime sans protéine, peuvent

discriminer deux solutions d'un mélange d'AA distinctes uniquement par la présence ou l'absence de thréonine. La plupart des rats déficients en protéine ont ingéré significativement plus de la solution contenant l'ensemble des AAE. Rogers et Harper (1970) ont montré que des rats élevés avec un régime déséquilibré en histidine ont choisi préférentiellement une solution contenant de l'histidine par rapport à de l'eau. Des rats nourris avec un régime témoin ou un régime corrigé ont préféré l'eau. Torii, Mimura et Yugari (1987) ont montré que des rats déficients en histidine ont su choisir la solution contenant de l'histidine parmi 15 solutions. Néanmoins les rats étaient regroupés en lot de 5 par cage et ceci n'est pas sans incidence sur le comportement des rats car ils ont pu s'influencer les uns les autres.

Un appétit spécifique pour les protéines a aussi été démontré par Booth et collègues (Booth, Stoloff & Nicholls 1974 ; Gibson & Booth, 1986 ; Baker *et al.*, 1987) lorsque des rats, élevés avec un régime complet, sont auparavant privés de nourriture pendant quelques heures. C'est cette légère privation qui créerait le besoin en protéines. Cet appétit ne serait pas lié à l'apport énergétique de la protéine, mais à des effets post ingestifs qui feraient intervenir, compte tenu des délais, le système nerveux central. Par contre, un jeûne de longue durée (5 jours) ne se traduirait plus par un appétit spécifique pour les protéines mais pour les lipides (Piquard, Schaeffer & Haberey, 1978 ; Thouzeau, Le Maho & Larue-Achagiotis, 1995 ; Larue-Achagiotis & Thouzeau, 1996). Cependant, Deutsch, Moore & Heinrichs (1989) ont montré l'existence d'un appétit non appris pour certaines protéines chez des rats préalablement élevés 4 jours avec un régime sans protéine. Lors du choix, les rats partiellement carencés en protéine marquent une préférence immédiate (après quelques minutes) pour le régime riche en protéine, et ceci pour toute une série de protéines sauf la caséine et la lactalbumine (protéines laitières).

2.2.3. Régulation de l'ingestion des protéines

Il est admis depuis longtemps que les rats soumis à un choix de régimes contenant des teneurs protéiques variées vont sélectionner une teneur constante en protéines montrant ainsi l'existence d'une régulation de l'ingestion des protéines. Concernant la régulation à long terme de l'ingestion des protéines, dès 1918, Osborne et Mendel ont fait émerger l'idée que les rats, quand ils en ont la possibilité, sélectionnent une quantité constante et adéquate d'énergie sous forme de protéines. Beaucoup plus tard, l'équipe d'Anderson (Munsten, Peace & Anderson, 1974 ; Ashley & Anderson, 1975 a et b ; Anderson *et al.*, 1987 ; 1988) a montré que des rats soumis à un choix de nutriments savent réguler simultanément la quantité absolue de protéines d'une part, et le rapport protéine/énergie d'autre part. *D'une façon générale, il apparaît que le niveau spontané d'ingestion protéique n'est pas régulé par le seuil minimum (P/E égal 10 à*

12% chez un rat adulte) qui permet l'obtention d'un bilan azoté équilibré, mais se situe à des niveaux nettement plus élevés.

Cependant, le concept de régulation fine de l'ingestion protéique a été contesté par Harper, tant sur l'hypothèse même, que sur les mécanismes sous-jacents tels que proposés par Anderson (Peters & Harper, 1987 ; Harper & Peters, 1989). Le rapport protéine/énergie sélectionné varie en effet selon les expériences (Leathwood & Ashley, 1983). Si tant est qu'il existe, ce rapport semble plutôt être régulé à un niveau qui dépend de l'âge du rat et des conditions expérimentales (les autres composantes du régime, la forme physique des protéines, le type de protéines, l'ajout séparé de lipides dans le choix, etc...). L'équipe de Harper s'interroge sur l'intérêt pour l'animal de maintenir un taux fixe de protéines comme cela apparaissait dans les recherches d'Anderson (1979). Pour Harper, il n'en existe pas. Au contraire, la possibilité de l'animal tel que le rat à s'adapter à une relative large gamme de concentration protéique a une large valeur adaptative (Harper & Peters, 1989). Elle est principalement due d'une part à une capacité d'épargne des acides aminés en cas de régime à basse teneur protéique et d'autre part à la grande capacité de dégradation enzymatique de l'excès d'acides aminés apportés par un régime riche en protéines alimentaires. Cette capacité, par contre, permet de réguler de façon étroite la teneur plasmatique et cérébrale en acides aminés (Peters & Harper, 1985 ; 1987).

La technique de choix utilisée influence la nature des résultats obtenus. Ainsi, lorsque le rat doit choisir entre les trois macronutriments purs, voire entre la protéine et un mélange des deux autres macronutriments la quantité de protéines ingérée est largement augmentée et dépasse même la limite supérieure de 40% (P/E) telle que définie par Harper et Peters (1989). Notre laboratoire (Larue-Achagiotis *et al.*, 1992 ; Jean *et al.*, 2002) a relevé un choix des protéines sensiblement égale à 44% (P/E) chez des rats adultes soumis à ce choix à long terme. Un tel taux de protéines de qualité (protéines totales de lait) dépassant largement les besoins recommandés pour le rat adulte questionne la pertinence de la définition même de ces besoins. Il reste à déterminer l'intérêt nutritionnel et/ou métabolique de tels choix pour l'animal.

Il existerait aussi une régulation nyctémérale de l'ingestion des macronutriments (Shor-Posner *et al.*, 1986 ; Larue-Achagiotis *et al.*, 1992). Les protéines (ainsi que les lipides) sont plus ingérées en fin de cycle nuit alors que les glucides le sont en début.

2.2.4. Influence des régimes hyperprotéiques sur la prise alimentaire

L'ingestion des régimes hyperprotéiques se traduit par une dépression de la prise alimentaire chez le rat et la souris. Chez le rat, la transition d'un régime normoprotéique vers un régime hyperprotéique induit une dépression de la prise alimentaire après le début de l'ingestion puis, au cours des jours suivants, un retour progressif mais incomplet à la prise alimentaire correspondant au régime normoprotéique (Anderson, Benevenga & Harper, 1968 ; Li & Anderson, 1982 ; Peret *et al.*, 1984 ; Peters & Harper, 1985 ; Semon *et al.*, 1987a ; Harper & Peters, 1989 ; MacArthur *et al.*, 1993 ; Tews, Repa & Harper, 1992 ; Jean *et al.*, 2001 ; Morens *et al.*, 2001).

Chez le singe (rhésus), Hannah, Dubey & Hansen (1990) ont montré qu'un régime hyperprotéique contenant 50% de protéines (P/E) se traduisait par une dépression de la prise alimentaire chez tous les singes. Une variation du rapport des glucides et des lipides qui composent le reste du régime n'affectait pas le résultat. Par contre il n'y a pas eu d'adaptation à ce régime pendant la période expérimentale (3 à 6 semaines). Aucune aversion à ce régime n'a été repérée par les expérimentateurs. Probablement, une autre étude avait situé le seuil de dépression suite à l'ingestion d'un régime hyperprotéique aux alentours de 35%. Qu'en est-il chez d'autres monogastriques ? Pratiquement ce problème n'a pas été abordé à notre connaissance chez les volailles et chez le porc. Pour ces espèces d'élevage, compte tenu du coût de l'alimentation et de celui des protéines, l'influence de la teneur en protéines n'a été étudiée qu'à des teneurs moindres (15 à 30%) et le plus souvent dans le cas d'alimentation limitée. Aucune étude de ce type n'a été effectuée, à ce jour, chez l'homme.

Les préférences alimentaires sont aussi influencées par le contenu protéique du régime. Quand les rats ont à choisir entre deux régimes l'un contenant une teneur normale et l'autre contenant un excès de protéines, ils choisissent le régime normoprotéique. En d'autres termes, ils évitent le régime hyperprotéique (Harper & Peters, 1989 ; Tews, Repa & Harper, 1992). La dépression alimentaire induite par le régime hyperprotéique ainsi que l'évitement de ce régime, quand les animaux en ont la possibilité, ont amené de nombreux auteurs à soupçonner la présence d'une aversion gustative conditionnée induite par l'ingestion de ce régime hyperprotéique.

La nature de la dépression induite par l'ingestion d'un régime hyperprotéique reste incertaine. Elle serait due à une faible palatabilité du régime hyperprotéique (McArthur *et al.*, 1993), combinée ou non, avec l'induction d'une aversion gustative conditionnée (Harper & Peters, 1989 ; Semon *et al.*, 1987a ; Tews, Repa & Harper, 1992) ou encore avec l'induction

d'une satiété renforcée (Geliebter, 1979 ; revue dans Stubbs, 1995 ; Reid & Hetherington, 1997).

Plusieurs mécanismes sont ainsi avancés pour expliquer l'origine des modifications de la prise alimentaire et pour identifier les voies utilisées pour transmettre les différentes informations vers le système nerveux central :

- La faible palatabilité de l'aliment hyperprotéique : les informations d'origine orale, tels que le goût, la consistance et la flaveur de l'aliment, jouent de toute évidence un rôle important dans l'apparition de la satiété. Une teneur élevée en protéines pourrait ainsi être détectée très tôt par le cerveau.
- Après l'absorption des aliments, de nombreux médiateurs sont véhiculés par le sang vers le système nerveux central. Par exemple, une concentration plasmatique élevée en acides aminés (conséquence directe de l'absorption d'une quantité élevée en protéines) pourrait influencer directement le cerveau. Déjà des zones sensibles aux variations d'acides aminés circulants sont connues et étudiées (Gietzen & Magrum, 2001).

D'après Geliebter *et al.* (1984), le pouvoir satiétogène d'un mélange des trois macronutriments serait égal à la moyenne pondérée des effets satiétogènes de chaque macronutriment pur. Walls et Koopmans (1992) ont montré qu'une perfusion intraveineuse d'acides aminés avec les autres macronutriments potentialisait l'effet satiétogène des autres macronutriments perfusés seuls. Cependant, on ne connaît pas l'effet satiétogène de l'ingestion orale d'une charge composée soit de protéines soit d'un mélange de protéines et des autres macronutriments.

Bien qu'une certaine quantité d'énergie soit nécessaire pour maintenir un poids constant, ceci ne nécessite pas une régulation finement contrôlée. Au moins à court terme, de l'énergie manquante peut être prélevée sur les réserves et inversement un excès d'énergie ingérée peut être stocké ou dépensé. A long terme cependant l'énergie ingérée ne peut excéder un certain plafond, fonction du niveau de dépense énergétique. L'homme et vraisemblablement d'autres animaux comme le rat, ont été programmés pour pouvoir mettre en réserve un excédent d'énergie ingérée pour pallier les manques d'aliments pouvant arriver dans des périodes ultérieures. Dans cette perspective, Berthoud (2002) pense que l'animal est génétiquement programmé pour manger sauf quand il est rassasié, qu'il dort ou qu'il s'adonne à d'autres comportements. L'inhibition des facteurs de satiété serait suffisante pour initier un repas ou de la recherche de nourriture sans besoin de stimuli spéciaux pour déclencher. Néanmoins, d'autres auteurs pensent qu'il existe des facteurs qui participent au déclenchement

d'un repas tel que l'état physiologique de l'individu (niveau glycémique), l'état de remplissage de l'estomac, la palatabilité des aliments, la diversité de l'offre etc...

2.3. Mécanismes intervenant dans l'influence des protéines sur la prise alimentaire

Parmi les mécanismes physiologiques qui régissent la satiété, il existe des événements à court terme, à moyen terme et à long terme. Les événements de court terme sont ceux qui interviennent au cours d'un même repas (événements principalement de nature sensorielle), les événements à moyen terme sont ceux qui dépendraient des événements métaboliques (événements majoritairement liés à l'activité de la zone viscérale) induits par les aliments au cours des heures suivant leur ingestion (à l'échelle de la journée) Enfin, le long terme impliquerait une modulation du comportement alimentaire en fonction de l'état des réserves énergétiques, en particulier des réserves adipeuses. Ces composantes temporelles sont intégrées au niveau central du contrôle de la prise alimentaire. Cependant, aucune donnée ne permet de conclure définitivement sur un lien entre la prise alimentaire lors d'un repas et le maintien du poids à long terme.

2.3.1. Rôle des informations sensorielles oropharyngées

Le processus de rassasiement met en jeu des stimulations orales, olfactives et gustatives, normalement procurées par la prise alimentaire. La vision et l'olfaction, qui sont sollicitées avant l'entrée des aliments en bouche, contribuent à la sélection alimentaire en permettant le rejet de tout ce qui n'aurait pas des propriétés métaboliques adéquates. Puis les aliments étant en bouche, parallèlement à l'olfaction et à la gustation, les sensibilités mécaniques, thermiques et chimiques communes de la cavité buccale contribuent à l'appréciation des qualités des aliments, notamment de leurs propriétés hédoniques. Les informations captées à ce premier stade de l'acte alimentaire ne sont cependant pas suffisantes pour totalement informer le cerveau sur la composition et la valeur calorique exacte des ingesta et donc, pour compenser à court terme, la prise énergétique. Ceci peut être réalisé grâce à la mesure des ingesta réalisée en d'autres points du tube digestif ou dans le milieu intérieur. Cependant, Berkun, Kessen & Miller (1952) furent les premiers à montrer qu'une ingestion orale était plus rassasiant que celle induite par l'instillation de la même nourriture directement dans l'estomac.

Il est connu depuis longtemps que la palatabilité (**cf. Annexe 1 Définitions, 2**) des régimes hyperprotéiques est faible (MacArthur *et al.*, 1993). La faible palatabilité des régimes hyperprotéiques n'est pas facilement modifiable par l'ajout par exemple de saccharose

(Scharrer, Baile & Mayer, 1970). Scott et Quint (1946c) ont montré, à l'aide de régimes contenant 24% de protéines (caséine, lactalbumine, albumine de l'œuf, fibrine), que les palatabilités de diverses protéines différaient. Semon *et al.* (1987a) ont confirmé que le type de protéines utilisé pour fabriquer le régime hyperprotéique, influençait la palatabilité initiale du régime sans pour autant influencer le niveau de la dépression de la prise alimentaire.

2.3.2. Le rôle du tube digestif et notamment du nerf vague

Classiquement, on attribue l'arrêt de la prise alimentaire à la distension gastrique par les aliments venant d'être ingérés. En réalité, cette distension n'est pas un signal physiologique de rassasiement, mais elle peut constituer un signal de sécurité pour arrêter la prise alimentaire quand, en étant excessive, celle-ci pourrait être source de danger pour le bon fonctionnement gastrique.

Le tube digestif n'est pas seulement pourvu de récepteurs de tension. Les travaux du groupe de Mei ont révélé la présence d'une très riche innervation duodénale chémosensible (Mei, 1978). La muqueuse de ces viscères, qui collectent les aliments après leur ingestion, est équipée de très nombreux récepteurs nerveux qui sont pour la plupart hautement spécifiques de fonctions chimiques définies : il existe des récepteurs sensibles spécifiquement ou non, aux glucides, aux acides aminés et aux lipides (Jeanningros, 1981 ; Phifer & Berthoud, 1998). Leur fréquence de décharge est proportionnelle à la concentration de leurs stimuli spécifiques dans la lumière digestive. Cette information est transmise au cerveau par la voie des nerfs vagues pour la partie haute du tube digestif (dont l'estomac et le duodénum qui sont concernés par le rassasiement), ou par la voie mésentérique pour l'intestin plus distal. Or, de telles données, couplées à celles des mécano- et volorécepteurs de l'estomac indiquant le volume intra digestif, sont en théorie suffisantes pour permettre une complète identification par le cerveau de la nature et de la quantité des divers nutriments ingérés.

Cependant, si cette chémosensibilité duodénale contribue à certains aspects du rassasiement (**cf. Annexe 1 Définitions 1**), elle ne peut rendre compte seule de cette fonction puisque la dénervation du haut du tube digestif par vagotomie altère certes, mais ne supprime pas totalement le contrôle de la prise alimentaire après adaptation. Au cours de la prise alimentaire le cerveau doit donc recevoir du tube digestif des signaux d'autre nature sur son contenu réel, notamment des signaux humoraux. Un volume gastrique important inhibe la prise alimentaire, et cela indépendamment de la nature du contenu de l'estomac (Phillips & Powley, 1996). Ce mécanisme apparemment non spécifique pourrait être influencé par une concentration élevée en protéines car les protéines ralentissent la vidange de l'estomac et augmenteraient le volume gastrique ou au moins le maintiendrait élevé plus longtemps.

Si l'estomac n'émet pas d'informations spécifiques à la nature des nutriments (Phillips & Powley, 1996 ; Schwartz, 2000), il a été montré que des informations spécifiques à la nature des nutriments et notamment des informations relatives aux quantités de protéines ingérées sont transmises via le nerf vague depuis le duodénum vers le système nerveux central (Phifer & Berthoud, 1998). Néanmoins, il semble que les acides aminés soient les nutriments qui activent le moins le noyau du tractus solitaire (NTS).

Depuis 1973 et la démonstration par Gibbs, Young & Smith qu'une administration de cholecystokinine inhibe la prise alimentaire, de nombreux travaux ont suggéré qu'un ou plusieurs messagers chimiques, sécrétés par le tube digestif ou ses glandes annexes (notamment par le pancréas) sous l'effet des aliments ou des nutriments absorbés, seraient déversés dans le milieu intérieur et transportés par voie sanguine jusqu'au cerveau pour y exercer un effet inhibiteur de l'ingestion.

2.3.3. Rôle de la dépense énergétique

Pour certains auteurs, le contrôle de la prise alimentaire dépendrait de la capacité énergétique de senseurs, centraux ou hépatiques, spécialisés dans le contrôle de la prise alimentaire. Ainsi, la théorie ischymétrique proposée par Nicolaidis (Nicolaidis & Even, 1989) suggère que rassasiement et/ou satiété soient caractérisés par une bonne bio-disponibilité de l'ATP au sein de récepteurs hypothalamiques, que cet ATP provienne de l'oxydation du glucose, ou de celle des acides gras ou des acides aminés; réciproquement la faim résulterait d'une chute de cette disponibilité.

La thermogénèse constitue avec le métabolisme basal et l'activité physique les principales composantes de la *dépense énergétique*. La prise alimentaire augmente les dépenses énergétiques de l'individu au repos et ce de manière proportionnelle à la quantité d'énergie ingérée. Cette thermogénèse alimentaire diffère selon le type d'aliment (5 à 10% pour les glucides, 0 à 2% pour les lipides et 20 à 30% pour les protéines). Elle est en majeure partie expliquée par le coût énergétique associé à l'absorption intestinale, au stockage et à la transformation des aliments (Flatt, 1979). La thermogénèse alimentaire peut être influencée par des facteurs internes (l'état nutritionnel de l'individu et l'activité du système nerveux sympathique) et des facteurs externes (la prise alimentaire).

Les protéines sont connues pour leur effet thermogénique plus fort que celui des autres macronutriments, un phénomène habituellement connu sous le nom d'action dynamique spécifique des protéines (ADS) (Bradfield & Jourdan, 1973). Ce phénomène a été suspecté de contribuer à l'effet satiétogène des protéines (Crovetti *et al.*, 1998) et peut être d'autres

mécanismes sous-tendent ce phénomène, tel que l'augmentation de la température corporelle (thermostatique ; Brobeck, 1948).

2.3.4. Facteurs (Signaux) post-absorptifs

Dans les années 1950, de nombreux chercheurs ont tenté de corréler le comportement ingestif avec les fluctuations, dans le milieu intérieur, du taux des divers métabolites qui fournissent l'énergie aux cellules, ou à certains de leur corrélés tel que la pression osmotique, la température interne, etc... (Russek, 1971).

Mellinkoff *et al.* (1956) se sont intéressés à la relation entre le taux d'acides aminés circulants et l'appétit. Ils ont expérimenté sur des sujets humains avec 4 protocoles différents : prise d'un petit déjeuner à 20g de protéines, infusion de caséine hydrolysée et de glucose, infusion de caséine hydrolysée seule, ingestion de caséine hydrolysée. Il ont conclu qu'il existe une relation inverse entre le taux d'acides aminés circulants et l'appétit (hypothèse aminostatique), ainsi qu'entre glycémie sanguine et appétit, et ce quelque soit le mode d'administration. L'infusion de caséine seule induisant la baisse simultanée de la glycémie et de l'appétit. Cependant, cette étude ne suffit pas, d'après l'auteur lui même, à trouver l'explication causale du phénomène observé. En effet, il existe des contre-exemples (diabétiques hyperphagiques à haut taux d'acides aminés circulants, anorexiques avec faibles taux d'acides aminés).

Chez des rats nourris avec un régime hyperprotéiné, on observe dès le premier jour une diminution de la prise alimentaire et une élévation du taux sanguin et, dans une moindre mesure cérébral, d'acides aminés essentiels, notamment les acides aminés branchés (Peters & Harper, 1987). Après adaptation, le retour à la norme de ces taux circulants, par stimulation du catabolisme des acides aminés, s'accompagne d'une normalisation de la prise alimentaire (Peters & Harper, 1985). Ainsi, les variations des taux plasmatiques et intracérébraux d'acides aminés sembleraient conditionner la prise alimentaire à court terme (repas suivant). Cette hypothèse est contredite par Anderson *et al.* (1994a) pour qui l'hypothèse aminostatique n'est pas applicable au court terme. Ainsi, ils ont montré que l'administration d'albumine par gavage intragastrique entraînait bien une dépression de la prise alimentaire, mais sans liens corrélatifs avec les taux circulants d'acides aminés.

Parmi les acides aminés essentiels on s'est aussi intéressé aux précurseurs de neurotransmetteurs, par exemple le tryptophane, précurseur de la sérotonine médiateur connu pour inhiber l'appétit (Latham & Blundell, 1979). Anderson postule que les rapports [Trp/acides aminés neutres] plasmatique et cérébral régulent l'ingéré protéique (Ashley &

Anderson, 1975b). De même, les acides aminés précurseurs des autres neurotransmetteurs (tyrosine et histidine) pourraient influencer par leurs variations l'action des neurotransmetteurs comme la noradrénaline et l'histidine. Ces hypothèses sont en partie infirmées (Anderson *et al.*, 1994a ; b ; c). Aucune réelle différence n'a pu être observée entre les acides aminés essentiels et les acides aminés non essentiels quant au pouvoir satiétogène (Anderson *et al.*, 1994a).

Enfin, l'ingestion d'aliments qui permettent un approvisionnement énergétique cellulaire soutenu à partir du glucose (par exemple les aliments glucidiques à faible index glycémique) semble prolonger la satiété ou est suivie d'une moindre ingestion au repas suivant (Holt, Brand-Miller & Petocz, 1996). De même, pour les tenants de la théorie glucostatique, le pouvoir satiétogène des protéines serait lié à un apport lent plus long et retardé du glucose issu de la néoglucogenèse.

2.3.5. Rôle de l'ammoniaque ou d'un excès éventuel de l'ingestion d'un acide aminé apporté par le régime hyperprotéique

L'aversion conditionnée éventuellement provoquée par les régimes hyperprotéiques proviendrait d'une augmentation de l'ammoniémie plasmatique et cérébrale. L'oxydation du surplus d'acides aminés exogènes serait responsable d'une augmentation immédiate de la production d'ammoniaque débordant temporairement le double système de détoxification hépatique (cycle de l'urée et glutamine) (Herrero *et al.*, 1994). Chez le rat, l'ingestion d'un régime hyperprotéique provoque une hyperammoniémie transitoire et une augmentation de la concentration cérébrale de glutamine qui proviendrait de la diffusion d'ammoniaque au niveau de la barrière hémato-encéphalique puis de son association au niveau central avec du glutamate sous l'action de la glutamine synthétase (Semon *et al.*, 1987b ; Semon *et al.*, 1989). De plus, la perfusion d'acétate d'ammonium (0.001 mmoles) au niveau de l'artère carotide diminue la prise alimentaire de 50%, ce qui montre que le cerveau est sensible à l'ammoniaque et que ce dernier pourrait être à l'origine d'une suppression de la prise alimentaire (Semon *et al.*, 1987a).

Il faut aussi considérer les conséquences toxiques liées à l'ingestion d'un acide aminé en excès. L'ingestion d'un (ou plusieurs) acide (s) aminé (s) ajouté (s) en excès dans un régime à teneur modérée en protéines provoque de nombreux effets chez l'homme et le rat, notamment une aversion gustative conditionnée, une dépression de la prise alimentaire, une diminution de la croissance, des lésions tissulaires (hépatiques et rénales), le développement de troubles mentaux et/ou une diminution du taux de survie des rats (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970 ; Benevenga & Steele, 1984 ; Tews, Repa & Harper, 1987). Ces effets sont

plus ou moins importants en fonction de la nature et de la quantité de l'acide aminé en excès, du type de régime (notamment sa teneur protéique), de l'âge de l'animal et de la disponibilité de l'acide aminé au niveau tissulaire (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970). La méthionine, le tryptophane et l'histidine sont des acides aminés indispensables généralement disponibles en faible quantité au niveau des tissus. De plus, leur catabolisme est à l'origine de nombreux métabolites aux fonctions multiples. Ils sont plus toxiques, lorsqu'ils sont ingérés en excès, que d'autres acides aminés essentiels présents de manière plus abondante dans les tissus de l'organisme (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970). L'anorexie induite par un régime hypercaséinique pourrait en particulier provenir de l'ingestion d'un excès de méthionine. En effet, la méthionine est l'acide aminé dont le seuil de toxicité est le plus bas (2 à 2.5% de méthionine) et il a été montré que l'addition de 2% de méthionine à un régime à 18 à 24% MS de caséine diminue de 50 à 80% le taux de croissance des jeunes rats et provoque une hypertrophie rénale et hépatique, une altération des cellules acineuses du pancréas, et une accumulation d'ions au niveau de la rate (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970). Or, les régimes hypercaséiniques sont riches en méthionine (2.7% ou plus dans un régime à 70% MS caséine) et lors de l'ingestion par le rat d'un régime à 55% MS de caséine, la concentration plasmatique de méthionine augmente considérablement (Peters & Harper, 1985). Le signal métabolique induit par un surplus de cet acide aminé proviendrait selon Benevenga, de la gestion, par le foie de son groupement methyl-thiol (Benevenga & Steele, 1984) mais d'autres métabolites pourraient en être aussi la cause (amines, dérivés du catabolisme de la cystéine).

2.4. Intégration des informations au niveau du système nerveux central

Si le comportement alimentaire chez les omnivores a pour origine une multiplicité de facteurs : physiologiques, émotionnels, contextuel, seul le système nerveux central (SNC) est capable d'intégrer cette somme d'informations et de gérer l'acte alimentaire. De nombreuses études ont mis en évidence que les états de satiété ou de faim pouvaient être corrélés avec l'activation de régions du cerveau.

Bien que les expériences de lésions n'aient pas mis en évidence des zones cérébrales spécifiquement impliquées dans le contrôle de l'ingestion de régimes hyperprotéiques (Fromentin *et al.*, 2000), le système nerveux central joue un rôle clé dans ces comportements en recevant et en intégrant les informations relatives à la quantité de protéines ingérées. Les principaux axes de communication empruntés par ces informations sont le nerf vague et la voie sanguine. Deux voies de communication semblent alors se dessiner. L'une nerveuse transmettrait les informations pré-absorptives, et l'autre humorale ou tout du moins sanguine servirait de support aux informations post-absorptives. Pour une large majorité d'entre elles,

les informations pré-absorptives seraient collectées par le nerf vague, qui innerve notamment une partie de la sphère oro-sensorielle, l'estomac et le duodénum. La projection principale du nerf vague dans le système nerveux central est le noyau du tractus solitaire (NTS).

Un régime hyperprotéique pourrait avoir comme conséquence un maintien d'un volume gastrique élevé, ce qui induirait la satiété, et cela très précocement. Il a plusieurs fois été montré que les informations relatives à la distension de l'estomac sont transmises au cerveau par l'intermédiaire du nerf vague et modulent l'activité des neurones du NTS. Le gonflement d'un ballon gastrique dans l'estomac d'un rat, par exemple, provoque des variations de l'activité de neurones du NTS (Traub, Sengupta & Gebhart, 1996). Des informations relatives à la quantité de protéines ingérées seraient transmises depuis le duodénum vers le système nerveux central par l'intermédiaire ici encore du nerf vague, la zone du système nerveux central impliquée étant le NTS. Par exemple, des études ont montré une augmentation de l'activité de neurones du NTS après une injection d'acides aminés à un rat par l'intermédiaire d'un cathéter intraduodéal, (Phifer & Berthoud, 1998). Les messages relatifs à la quantité de protéines ingérées circulant dans le sang (concentrations d'acides aminés, de peptides, d'hormones etc...) auraient comme cible des zones du cerveau connues pour être sensibles à des signaux circulants comme, par exemple, le cortex pyriforme antérieur (CPA) et l'*area postrema* pour les acides aminés (Phifer & Berthoud, 1998 ; Gietzen & Magrum, 2001) ou le noyau arqué, leptine/insuline (Schwartz, 2000). Des "chemosenseurs" du cerveau pourraient ainsi détecter les conséquences post absorptives de l'ingestion d'un repas hyperprotéique.

Concernant les protéines il semble donc que le noyau du tractus solitaire, l'*area postrema*, le noyau parabrachial et le CPA sont les premiers relais de l'information relative à la quantité de protéines ingérées. Le NTS, situé dans le bulbe rachidien, est le premier relais central des fibres du nerf vague. Cette zone intègre les informations sensorielles issues de la cavité buccale (goût) et celles issues du tube digestif (Grundy, 2002). L'*area postrema*, région voisine du NTS est souvent citée comme aire cérébrale participant au contrôle de la prise alimentaire. Cette région possède la particularité anatomique d'être dépourvue de barrière hémato-méningée, ce qui lui permet de collecter des informations provenant du sang. Le noyau parabrachial latéral, situé au niveau du pont dans le cerveau postérieur, est le principal relais de l'*area postrema* et du NTS, il joue un rôle dans le traitement des informations d'origine viscérale (Cubero *et al.*, 2001). L'activation de cette région du cerveau est souvent associée à l'établissement d'une aversion (Reilly, 1999). Néanmoins l'équipe du laboratoire a montré qu'une lésion électrolytique du noyau parabrachial ne semblait pas affecter l'ingestion d'un régime hyperprotéique (Fromentin, 2000). Le CPA est d'une part un relais des voies

olfactives et d'autre part une aire du cerveau sensible aux concentrations circulantes d'acides aminés. Par exemple, le CPA joue un rôle de premier plan dans la reconnaissance des régimes déséquilibrés en acides aminés. Il s'agit du détecteur central des variations d'acides aminés (Rogers & Leung, 1973).

L'hypothalamus représente le point de convergence de ces nombreuses informations périphériques et participe grandement au contrôle de l'homéostasie énergétique corporelle et de la prise alimentaire. Il comporte de nombreux noyaux. Le noyau paraventriculaire est très fortement pressenti pour être impliqué dans l'établissement de la satiété (Rowland, Crews & Gentry, 1997). Le noyau arqué projette vers différents noyaux participant au contrôle de l'appétit, comme le noyau paraventriculaire. Le noyau arqué produit le neuropeptide Y qui stimule la prise alimentaire (Williams, Harold & Kutler, 2000). L'aire hypothalamique latérale est connue pour participer au contrôle de la prise alimentaire, son système dopaminergique régulerait la prise alimentaire par le contrôle de la taille des repas (Yang *et al.*, 1997). L'hypothalamus ventro-médian est une région centrale reliée au système sympathique. Il est fortement pressenti pour participer au contrôle de la prise alimentaire. Sa lésion, par exemple entraîne une hyperphagie, avec une prise de poids. (Weingarten, Chang & McDonald, 1985 ; Tokunaga *et al.*, 1989). Le système sérotoninergique de l'hypothalamus ventro-médian serait influencé par la nature des nutriments ingérés. Enfin, le noyau *accumbens* et l'amygdale qui interagissent fortement avec l'hypothalamus, sont impliqués dans l'association, le renforcement et la mémorisation des sensations (Ono, Nishijo & Uwano, 1995).

TRAVAUX PERSONNELS

Les travaux présentés dans cette thèse ont pour but de mieux connaître le rôle de *l'aversion gustative conditionnée* et de la *satiété* dans la dépression de la prise énergétique suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques chez le rat.

A cette fin, nous avons tout d'abord étudié, dans nos conditions expérimentales, l'influence de l'ingestion de régimes hyperprotéiques sur la prise énergétique et l'évolution du poids corporel à long terme (Etude 1). Afin de caractériser les modifications des repas induites par l'ingestion du régime hyperprotéique, nous avons réalisé une analyse de la séquence alimentaire, un test de préférence entre deux régimes l'un normoprotéique et l'autre hyperprotéique et, enfin, une analyse de la séquence comportementale de satiété suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques.

Ensuite, nous avons étudié le pouvoir satiétogène des protéines alimentaires (Etude 2). Pour cela nous avons caractérisé l'effet satiétogène des protéines alimentaires sur la prise énergétique et sur l'évolution du poids en fonction de la composition en macronutriments (protéines par rapport aux glucides), de la teneur en protéines et de la nature de protéines. Afin de mettre en évidence les paramètres biochimiques pouvant être des précurseurs des signaux métaboliques à l'origine de la dépression de la prise alimentaire suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques, nous avons entrepris une analyse des différences des réponses métaboliques périprandiales associées à l'ingestion d'un repas hyperprotéique par rapport à un repas hyperglucidique isoénergétique. Nous avons plus particulièrement suivi les variations de l'insuline et la leptine, qui sont les hormones principales impliquées dans le contrôle du devenir métabolique des substrats énergétiques apportés par le repas. Nous avons aussi étudié le glucose et les acides aminés, pour le suivi des principaux substrats énergétiques impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire. Le dosage des taux d'urée plasmatique a aussi été réalisé pour estimer les taux d'oxydation des acides aminés.

1. Matériel et Méthodes

1.1. Animaux

Dans toutes les études présentées, nous utilisons, comme modèle, le rat *Wistar* mâle (*Harlan*, Ganat, France) dont le poids initial, à l'arrivée au laboratoire, est compris entre 170-190g ou 200-220g, selon les expériences. Les rats sont installés individuellement dans des cages et ont, au moins, une semaine d'acclimatation à leur nouvel environnement. La température ($21\pm 1^\circ\text{C}$) ainsi que le cycle lumineux (cycle 12h/12h, période nocturne de 05h30-17h30 ou 10h-22h, selon les expériences), sont maintenus constants dans toutes les expériences, et l'eau est fournie *ad libitum*. Toutes les expériences sont réalisées conformément aux directives du Comité National sur le Bien-Etre des Animaux de Laboratoire.

1.2. Régimes

1.2.1. Régime standard

Dans les expériences de choix ([cf. Chapitre 2.1.2](#)), nous utilisons l'aliment standard, *Teklad Global* 14%, N° 2014 (*Harlan*, Pays-Bas) donné aux groupes témoins et expérimentaux (avant le choix-test), comme tel, c'est-à-dire sans ajout d'eau. Cet aliment est une formulation standard de laboratoire, présenté sous forme de poudre, complète assurant les besoins pour l'élevage et la reproduction des rats et souris ([Tableau 1](#)). Dans les autres expériences, nous utilisons un régime de base équilibré dénommé AIN 93M (Reeves, Nielsen & Fahey, 1993) modifié en utilisant de la protéine totale de lait (PLT) à la place de la caséine. Il est constitué à 14% de protéines totales de lait (P14%), d'amidon ; de glucose, de fibres, de sels minéraux et vitamines en quantités appropriées ([Tableau 2](#)). Il est présenté aux animaux sous forme semi-liquide (1v/1v). Ce régime est aussi utilisé comme régime témoin pour les régimes hyperprotéiques. Il est fabriqué spécifiquement par l'Atelier de Préparations des Aliments Expérimentaux (INRA-UPAE, Jouy-en-Josas, France).

1.2.2. Régimes expérimentaux

Hormis la teneur en protéines et en glucides, la composition en vitamines, sels minéraux, et lipides est strictement identique entre le régime P14 (14% de protéines) et les régimes P50 (50% de PLT), G50 (50% de protéines de gluten) et S50 (50% de protéines de soja). Les régimes hyperprotéiques P50, G50 et S50 sont mélangés avec de l'eau en quantité

double (1v/2v). L'ajout de l'eau pour ces régimes évite la dispersion de l'aliment par le rat. La composition des régimes expérimentaux (**Tableau 2**) suit les recommandations du National Research Council (NRC, 1978).

La composition en acides aminés des protéines utilisées dans nos expériences (PLT, gluten et protéine de soja) est représentée dans le **Tableau 3**.

1.2.3. Charges

Les charges glucidiques et protéiques (**Tableau 4**) sont utilisées comme un quatrième repas. Elles sont représentées, respectivement, par l'amidon de froment et les hydrolysats de gluten de blé (*Nutrinov* PRO DHE 4, réf. 9706PH806), protéines de lait totales (*Nutrinov* caséine 80 [HECDB01] et lactosérum 20 [Protarmor 90], réf. PP98324), protéines de soja (*Nutrinov* 10003HI01, réf. 99196-018). Elles sont administrées sous forme liquide (mélangée à 2 fois sa masse d'eau 1v/2v) à un niveau énergétique et volumique constants (55 kJ, 10ml), une heure avant le « dîner » pendant 10 min. Le débit de perfusion est de 1ml/min. L'eau est laissée en libre accès tout au long de l'expérience.

1.3. Analyse de la séquence alimentaire

1.3.1. Enregistrement du signal de prise alimentaire

L'enregistrement de la séquence alimentaire est effectué pendant une heure (**cf. Chapitre 2.2**) ou plus (**cf. Chapitre 2.1.1**), selon l'expérience. Cet enregistrement est réalisé à l'aide de mangeoires enregistreuses placées sur des jauges de contraintes (Entran SA, 26 rue des Dames, F78340 Les Clayes-sous-Bois, FRANCE, sensibilité 0.1 g) connectées à un système d'acquisition de données (Unité d'acquisition 34970A, Agilent technology, Les Ulis, France) lui-même relié à un ordinateur assurant une acquisition des mesures et leur stockage dans un tableur à intervalle de 10 secondes (Dac Express software, Agilent Technology, Les Ulis, France) (**cf. Annexe 2 Techniques 1**). Pour chaque animal, la séquence alimentaire est établie selon les critères suivants : un événement ingestif est considéré comme un repas s'il est de plus de 0.1g et dure plus de 10s. Deux événements ingestifs sont considérés comme des repas différents s'ils sont séparés de plus de 10 minutes, sinon ils sont considérés comme faisant partie d'un même repas interrompu par une pause (Castonguay, Kaiser & Stern, 1986 ; Feurté *et al.* 2002). Les quantités de nourriture ingérées sont converties en kJ d'énergie métabolisable en fonction de leur composition et de leur digestibilité. Cette technique permet de suivre l'évolution de l'ingestion des différents aliments proposés, à tout moment de la journée, et notamment la succession et la fréquence des repas, leur durée et la quantité ingérée (la taille du repas). Ainsi il est possible de préciser les changements du comportement

alimentaire observées sur 24 heures. L'enregistrement du signal de prise alimentaire est réalisé durant la phase nocturne; phase où le rat s'alimente de façon prépondérante. Un premier filtrage du signal de prise alimentaire est réalisé d'une part, afin d'éliminer tout artefact ou bruit de fond du signal, et d'autre part pour recenser toutes les pauses entre deux bouffées de prise d'aliment.

1.3.2. Caractérisation de la séquence alimentaire

1.3.2.1. Analyse globale

Après définition d'un IMI_{mini} , les signaux de prise alimentaire sont une nouvelle fois filtrés. Tous les repas sont recensés selon les critères suivants : (i) un repas doit être de taille $> 0,1$ gr et durée > 10 s et (ii) un intervalle inter-repas (IMI) doit être d'une durée $\geq IMI_{\text{mini}}$. De ce filtrage, un certain nombre de paramètres caractérisant la structure d'alimentation du rat encore appelée la séquence alimentaire, sont déterminés pour chaque rat, tels que la **taille** (kJ) et la **durée** (min) de chaque repas, ainsi que la **vitesse d'ingestion** (kJ/min), calculée par le rapport de la taille du repas sur sa durée. La durée moyenne de tous les **intervalles inter-repas (IMI)**, ainsi que la **fréquence des repas**, est calculée. Un paramètre supplémentaire, qui n'entre pas dans le cadre de la séquence alimentaire, mais que nous avons néanmoins étudié, est la **prise alimentaire cumulée** du rat en fonction du temps, durant les 16h d'expérience. La **prise alimentaire cumulée** et la **taille du repas** sont rapportées en quantité de matière sèche ingérée (g), puis en quantité énergétique métabolisable (kJ), en appliquant à chaque fois le facteur de correction adéquate ([Tableau 5](#)).

1.3.2.2. Analyse par quart de cycle

La simple représentation d'une moyenne de chaque paramètre de la séquence alimentaire sur la globalité de l'expérience ne peut pas rendre compte de variations plus discrètes de ces paramètres au cours du cycle nocturne. Ainsi, nous avons décidé de découper la période d'enregistrement en quatre quarts : 0-3h, 3-6h, 6-9h et 9-12h et d'y représenter l'évolution des paramètres du repas : **taille et durée du repas, vitesse d'ingestion et fréquence des repas**. Pour chaque rat et chaque variable, nous avons représenté la moyenne de la variable en question au cours du quart de cycle. Lorsqu'un rat n'a ingéré aucune nourriture durant un quart donné, il n'y a eu aucune valeur affectée à la taille du repas, ni à sa durée, ni à la vitesse d'ingestion. Le repas n'existant pas, il est statistiquement impossible d'affecter une valeur à cette variable. Seule la valeur « 0 » a été attribuée à la variable fréquence du repas, indiquant clairement l'absence de repas.

1.4. Analyse de la séquence comportementale de satiété et le test de réactivité gustative (vidéo analyse)

Le comportement et les expressions faciales et somatiques du rat sont filmés lors de la première heure qui suit la présentation *du repas* avec une caméra vidéo (JVC, Digital Still Camera GR-DVL557), durant la présentation du régime P14 au jour J₀, et lors de la présentation du régime HP aux jours J₁, J₂, J₃ et J₁₄. Chaque film vidéo est enregistré sur une cassette VHS (VHS-C, EC-60) et visualisé à l'aide d'un magnétoscope à une vitesse réduite (image par image jusqu'à 1/2 de la vitesse de défilement normale) pour recenser dans un premier temps les 3 phases de la séquence comportementale de satiété, puis dans un deuxième temps toutes les expressions faciales et somatiques du rat (image par image jusqu'à 1/6 de la vitesse de défilement normale) (Grill & Norgren, 1978 ; Peciña & Berridge, 1996). Les comportements sont recensés et classés de façon mutuellement exclusives dans les catégories suivantes : (i) bouffées alimentaires, (ii) boisson, (iii) activité, (iv) toilettage et (v) repos. L'activité regroupe la marche, la course, le saut et l'élévation. Ces comportements décrits, sont comptés et recensés différemment selon leur mode d'apparition : *événementielle* ou *continue*. Une action *événementielle* apparaît de façon très furtive (de l'ordre de la milliseconde) tandis que l'action *continue* se prolonge dans le temps (sur plusieurs secondes). Dans le premier cas, un score de 1 est donné à chaque apparition d'une action *événementielle*. Dans le cas des actions *continues*, un score de 1 est attribué par seconde d'apparition de l'action. Les bouffées alimentaires, les boissons, le toilettage, les activités locomotrices telles que la marche, la course, et l'élévation du rat sur ses pattes arrières (*rearing*) ainsi que le repos ont été recensées sur un mode continu, tandis que l'activité de saut a été recensée sur un mode événementiel. Une analyse microstructurale du comportement est réalisée. Les données recueillies sur une heure sont regroupées en périodes de 5min (300s) (HalFord, Wanninayake & Blundell, 1998). Les quantités de chaque comportement sont comptabilisées puis présentés sous forme de pourcentage par tranche de 5 minutes. Les expressions faciales et somatiques se classent en trois catégories : aversives, neutres et hédoniques qui sont décrites dans le **Tableau 6, Figure 1 & Figure 2**. Les différents comportements sont aussi comptabilisés sous forme de pourcentage pour la période totale. Les paramètres décrivant les bouffées alimentaires sont calculés : nombre, durée (s) et vitesse d'ingestion réelle (kJ/s) ainsi que la durée totale et la quantité totale ingérée (kJ).

1.5. Administration des charges et prélèvement sanguin

1.5.1. Chirurgie

1.5.1.1. Implantation de cathéters buccaux

L'utilisation de la technique des cathéters buccaux, selon Phillips et Norgren (1970), permet de garantir l'ingestion de la quantité voulue de la charge quelle que soit sa composition et sa taille. De plus, le choix de l'emplacement du cathéter dans la bouche garantit l'absence de rejet. La technique de préparation du cathéter buccal est montrée en annexe (cf. [Annexe 2 Technique 2](#)). La technique de placement du cathéter est inspirée des travaux de Nicolaïdis & Rowlandal (1976). Les rats sont mis à jeun pendant 12h, avant l'opération, puis anesthésiés par une injection intra-péritonéale (IP) de 50 mg/kg de poids de pentobarbital sodique (Sanofi Santé, France). Ensuite une incision de la peau du crâne est effectuée et 4 vis (diamètre : 0,9 mm) (Phymep, France) sont fixées sur l'os, de part et d'autre de la suture, devant le point lambda et devant le point bregma. Elles serviront de fondation pour fixer le cathéter et le ciment acrylique d'enrobage. Ensuite, l'animal est placé de face afin de percer, à l'aide d'une tige métallique adaptée, le canal de passage du cathéter buccal. Celui-ci part du fond de la bouche (au niveau des molaires), contre la joue, traverse la mâchoire en sous-cutané et ressort au niveau du crâne. Il est alors arrimé entre les vis par un enrobage avec du ciment acrylique (Dentalon Plus, Heraeus, Kuzler, Dormagen, Allemagne). Les rats sont traités avec 0,05 ml d'antibiotique (Gentamycine: 0,5 mg/kg), après l'opération.

1.5.1.2. Implantation de cathéters veineux

L'utilisation de la technique des cathéters longs, au niveau de la veine cave inférieure, selon Burvin, Zloczower & Karnieli (1998) consiste à venir implanter un cathéter dans la veine jugulaire et à le faire descendre jusque dans la veine cave en franchissant l'atrium ([Figure 3](#)). La technique de fabrication du cathéter est montrée en annexe (cf. [Annexe 2 Technique 2](#)). Avant le début de la période d'adaptation au régime, un cathéter jugulaire est implanté chez les animaux afin de permettre soit le prélèvement de sang, soit la perfusion de sérum physiologique. Les animaux sont mis à jeun pendant 12h, avant l'opération, puis anesthésiés au pentobarbital de sodium (4,2 mg/kg, Sanofi Santé, France) et un cathéter long de 70 mm (602-135 Silastic Brand, Dow Corning Corporation, Medical Products, Midland, MI, USA) est inséré dans la veine jugulaire externe, selon la méthode décrite par Nicolaïdis *et al.* (1974) et descendu dans la veine cave comme expliqué par Burvin, Zloczower & Karnieli (1998). Le cathéter est rempli de sérum physiologique et doucement poussé d'avant en arrière jusqu'à ce qu'il passe dans la veine cave. Le cathéter est ensuite attaché à la veine jugulaire, passé en sous-cutané le long de l'épaule et du cou jusqu'à atteindre le crâne où il est fixé grâce

à des vis et du ciment dentaire (Dentalon Plus, *Heraeus, Kuzler, Dormagen, Allemagne*). Le cathéter est ensuite rempli d'une solution visqueuse de polyvinylpyrrolidone à 10% (Prolabo, France) afin d'éviter l'occlusion du tube (Steffens, 1969). A la fin de l'opération, les rats reçoivent une dose d'antibiotique (Gentamycine: 0,5 mg/kg) contre l'infection. puis restent maintenus dans les mêmes conditions d'animalerie, en cage individuelle de plexiglass. Chaque jour suivant l'opération, la perméabilité du cathéter est vérifié à l'aide de sérum physiologique hépariné (50 U.I./ml), et rempli par « bouchon biologique » en polyvinylpyrrolidone (PVP : 1g dans 2 ml d'une solution de sérum physiologique héparinée à 500 U/ml). Trois jours après l'opération, les rats ont une prise alimentaire stable et équivalente au stade pré-opératoire.

1.5.2. Administration des charges

L'infusion de la charge se fait par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique (BIOTECH IPC-S à 12 canaux, débit 4 µl à 40,5 ml/minutes/canal) vers la canule buccale grâce au cathéter alimentaire de 1,14 mm de diamètre intérieur (tubes Manifold Tygon, réf. G88245). Les vitesses de perfusion sont réglées sur la pompe de façon à ce que les charges soient administrées à raison de 1 ml/min ([cf. Annexe 2 Technique 1](#)).

1.5.3. Prélèvements sanguins

Au cours des prélèvements, le rat en expérience est maintenu dans sa cage de plexiglas, dont le couvercle a été préalablement retiré. Pour obtenir un échantillon de sang, le rat est pris par l'expérimentateur et le bouchon de la pièce de tête fixant le cathéter veineux est retiré et immédiatement remplacé par un cathéter Silastic 602-175 (Dow Corning Médical) de 35cm de long, et connecté à une seringue de 1 ml. Le rat est alors libéré, puis le sang aspiré lentement jusqu'à ce que le volume de 500 µl soit atteint ([cf. Annexe Technique 1](#)). Le cathéter est alors déconnecté et le sang est immédiatement mélangé avec une solution EDTA-Trasyol à 25% (Bayer AG, Leverkusen, Allemagne), centrifugé (3000g, 4°C, 15 min) et le plasma est congelé jusqu'à analyse. Après chaque prise de sang, 500 µl d'une solution NaCl 9% - Citrate 6% ont été ré-injectés à l'animal. Enfin, le cathéter implanté est nettoyé avec 25 µl de sérum physiologique hépariné et tiédi à 37°C et la pièce de tête est rebouchée jusqu'au prélèvement suivant. Dans la pratique, la stabilité des niveaux de glycémie et d'insulinémie que nous avons obtenue dans des conditions basales témoignent que les rats sont déjà habitués sans stress à la contention du fait de l'opération et des manipulations quasi quotidiennes effectuées pour entretenir le cathéter implanté. Les rats n'ont pas montré de signe évident de fatigue ou de malaise.

1.5.4. Analyses Biochimiques

1.5.4.1. Dosages enzymatiques

La concentration plasmatique du glucose est déterminée par une méthode enzymatique utilisant la Glucose Oxydase (kit Glucose GOD-DP, Koné, Evry, France). La concentration d'urée plasmatique est déterminée par une méthode enzymatique utilisant l'Uréase / Glutamate Déshydrogénases (kit Urea Nitrogen, n° 640, Sigma, France).

1.5.4.2. Dosages hormonaux

Les concentrations plasmatiques d'insuline et de leptine sont déterminées par dosage radioimmunologique (RIA). Les protocoles de dosages fournis par le distributeur des trousseaux Insuline [INSIK-5 (P2796) de DiaSorin, Antony, France] et leptine [RL-83K de Linco Research Inc., St Charles, MO, USA] sont légèrement modifiés afin d'augmenter la capacité de dosage de ces kits.

1.5.4.3. Analyse des acides aminés plasmatiques

1.5.4.3.1. Préparation des échantillons

Les protéines sont précipitées par ajout d'acide 5-sulfosalicylique (50 mg/ml de plasma). Le mélange est laissé une heure à 4°C puis centrifugé (15 minutes, 3000 g, 4°C). Le surnageant est récupéré et séché au speed-vac. L'échantillon sec est repris dans du Tampon lithium citrate (pH=2.2) et filtré (0.22 µm) avant d'être injecté sur l'analyseur d'acides aminés. Le standard interne utilisé est le GABA (Acide α-amino butyrique) à 10 µmol./ml. L'analyse des acides aminés est réalisée par HPLC suivie d'une dérivation post-colonne à la ninhydrine et détection par absorptiométrie à 570 nm, 440 nm pour la proline (Biotek Instruments, St Quentin en Yvelines, France).

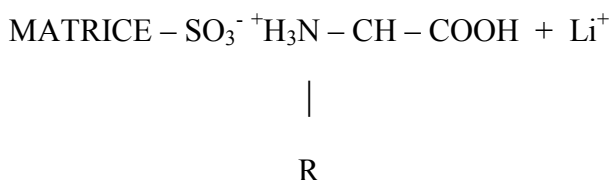
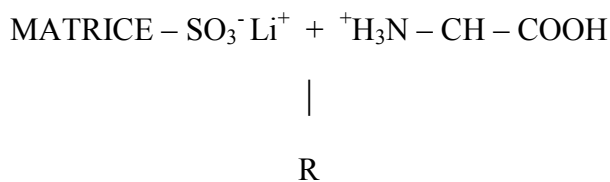
1.5.4.3.2. Principe du dosage

L'échantillon est chargé sur une colonne de résine échangeuse de cations. Des tampons de pH et de force ionique croissants sont ensuite pompés sur la colonne pour séparer les différents acides aminés. La température de la colonne est strictement contrôlée. L'éluat de la colonne est mélangé au réactif ninhydrine, ce mélange passe ensuite dans une bobine de réaction à haute température où la ninhydrine réagit avec les acides aminés pour donner des composés colorés. La quantité de composés colorés produite est directement proportionnelle à la quantité d'acides aminés présents dans l'éluat. La quantité de chaque composé coloré est déterminée par mesure de l'absorbance au niveau de l'unité photométrique, et ce, à 2

longueurs d'ondes, 570 et 440 nm car les iminoacides (Proline et Hydroxyproline) produisent un composé coloré qui absorbe à 440nm alors que les autres acides aminés absorbent à 570 nm. Le signal est alors envoyé à un ordinateur où un logiciel représente les concentrations sous la forme de pics. Le temps de rétention des pics permet d'identifier les acides aminés, l'aire sous le pic indiquant la quantité d'acides aminés présents. Une analyse de calibration doit être réalisée afin d'obtenir un tracé standard.

1.5.4.3.3. Analyseur Bio-Tek (St Quentin-en-Yvelines)

Le système d'analyse est constitué de 2 pompes – l'une pour la ninhydrine, l'autre pour les solvants, d'un injecteur automatique, d'un four de colonne Peltier, d'une barrette de diode avec lampe deutérium et d'un sélecteur de solvants. Les solvants sont pompés à travers une colonne désammoniacante (300×4.6 mm, CIL Cluzeau, France) puis à travers une colonne analytique chargée de lithium (300×3.2 mm, CIL Cluzeau, France). La résine présente dans la colonne analytique est constituée de billes en polystyrène réticulé par l'incorporation de groupes divinylbenzène sulfonaté couplés à des ions Li⁺.



Les acides aminés sont injectés à un pH acide et sont par conséquent chargés positivement. Ils vont se fixer sur les sites SO₃⁻ à la place des ions Li⁺. L'élution s'effectue par une augmentation du pH, de la force ionique des tampons d'élution et de la température de la colonne analytique. Les acides aminés se détachent de la résine lorsque leur pH isoélectrique est atteint. Les acides aminés résiduels sont élués avec une solution d'hydroxyde de lithium de pH basique. En sortie de colonne, les acides aminés sont dérivés par de la ninhydrine à 120°C dans un four de réaction.

1.6. Analyse Statistique

Les résultats sont exprimés sous la forme Moyenne \pm SEM. Les différences intra-groupes sont testés par une analyse de variance monofactorielle (ANOVA) à l'aide du programme STATGRAPHICS (Statistical Graphics System, Vers. 5.1, 1992, USA). $P < 0.05$ est considéré comme statistiquement significatif. Les différences inter-groupes, sont testés par une ANOVA à 1 facteur ou à 1 facteur avec mesures répétées (Proc GLM, SAS/STAT, 6.11, SAS Institute, Cary, NC, USA). $P < 0.05$ est considéré comme statistiquement significatif. Une ANOVA à 2 facteurs est effectuée pour tester l'effet global du régime, du temps et de leur interaction (régime x temps) sur certains paramètres calculés sur la totalité de la période d'étude (Proc GLM, SAS/STAT, 6.11, SAS Institute, Cary, NC, USA). $P < 0.05$ est considéré comme statistiquement significatif.

2. Résultats

2.1. Etude du rôle éventuel de l'aversion gustative et/ou de la satiété conditionnée dans la dépression de la prise énergétique induite par l'ingestion de régimes hyperprotéiques

2.1.1. Etude des rythmes de prises alimentaires induits par l'ingestion de régimes hyperprotéiques

L'objectif de cette étude est, d'une part, de caractériser la dépression de la prise énergétique à la suite de l'ingestion d'un régime HP, avant et après adaptation chez le rat, et d'autre part, d'en analyser les conséquences sur la prise de poids. De plus, nous avons comparé les résultats obtenus avec trois régimes HP concernant trois protéines différentes (PLT, la protéine de soja et le gluten) afin de mettre en évidence un éventuel effet de la nature des protéines.

2.1.1.1. Expérience 1

L'objectif de cette expérience est de (i) Mettre en évidence, dans nos conditions expérimentales, la dépression de la prise énergétique induite par l'ingestion d'un régime hyperprotéique (HP) contenant de la protéine de lait totale, chez le rat adapté à un régime normoprotéique (NP) ; et (ii) Comparer l'évolution de la prise énergétique et du poids corporel des rats recevant un régime HP (P50) et des rats recevant un régime NP (P14).

Des rats *Wistar* mâles (n=16) ont été habitués aux conditions d'environnement et adaptés à un régime P14, pendant 10 jours (J₉ - J₀). Ils ont été ensuite répartis en 2 groupes de 8 rats, dénommés respectivement P14 et P50, et nourris *ad libitum* avec le régime correspondant à leur nom, pendant deux semaines (J₁-J₁₄). Les quantités d'aliment consommées par les animaux ainsi que leur poids corporel ont été mesurés à la fin de la période de pré-régime (J₀) et durant l'expérience (J₁-J₁₄).

Au jour J₀, la prise énergétique des deux groupes de rats, nourris au P14, n'est pas significativement différente [P50 (360.0 ± 6.5 kJ) *versus* P14 (361.4 ± 4 kJ)]. Pendant l'expérience (J₁-J₁₄), les rats nourris au P50 diminuent leur prise énergétique moyenne de 20 ± 1% par rapport aux rats nourris au P14 (**Figure 4**). La dépression de la prise énergétique dans le groupe P50 est due à une baisse importante enregistrée au jour J₁ (25%, *p*<0.001). Les quantités d'énergie ingérées au jour J₁, dans les groupes P50 et P14, sont respectivement de :

269.7 ± 7.5 kJ/j *versus* 365.0 ± 6.2 kJ/j, $p < 0.01$. Le poids corporel des deux groupes de rats n'est pas significativement différent au jour J₀ [P50 (213.2 ± 1.6 g) *versus* P14 (217.2 ± 1.6 g)]. Pendant l'expérience (J₁-J₁₄), le poids corporel des rats nourris au P50 augmente moins (~12 ± 1%) par rapport aux rats nourris au P14 (**Figure 5**). Au dernier jour de l'expérience, le gain de poids est d'environ 47 ± 4.9 g dans le groupe P50 et 75.8 ± 3.9 g dans le groupe P14 ($p < 0.001$).

Conclusion. *L'ingestion d'un régime hyperprotéique réduit significativement la prise énergétique et le poids corporel, par rapport à un régime normoprotéique contenant la même protéine à 14% (P14). La décroissance d'ingestion apparaît dès le premier jour et perdure, par la suite, en s'amointrissant. Toutefois, elle reste inférieure lors du régime P50 par rapport au régime P14 même après adaptation.*

2.1.1.2. Expérience 2

Cette expérience a pour but de vérifier si les résultats obtenus avec la protéine de lait totale (**cf. Chapitre 2.1.1.1**) sont toujours valables quand d'autres protéines sont utilisées. Pour cela, nous avons comparé l'ingestion, et ses conséquences sur le poids corporel, de rats nourris avec un régime hyperprotéique (HP) contenant de la PLT (P50), avec ceux contenant la protéine de soja (S50), et la protéine de gluten (G50).

Des rats *Wistar* mâles (n=20) sont habitués aux conditions d'environnement et adaptés au régime P14 pendant 10 jours (J₋₉ - J₀). Ils sont ensuite répartis en quatre groupes, puis nourris *ad-libitum* pendant 2 semaines (J₁-J₁₄), avec un régime HP contenant 50% de protéines, sous forme de PLT (P50), de protéines de soja (S50) ou de protéines de gluten (G50). Les quantités d'aliment consommées par les animaux ont été mesurées quotidiennement et leur poids corporel a été mesuré à la fin de la période de pré-régime (J₋₁ et J₀) et durant l'expérience (J₁ et J₁₄). En raison des différences de poids entre les groupes de rats utilisés, la quantité d'énergie quotidienne ingérée du régime HP sera exprimée en pourcentage du rapport entre la prise énergétique quotidienne du régime HP (J₁-J₁₄) et la prise énergétique du régime P14, lors de la période basale. La croissance corporelle est exprimée sous forme de gain de poids.

La prise énergétique est réduite de façon significative au jour J₁ de l'expérience, surtout dans le cas du gluten. La décroissance d'ingestion, dans les groupes P50, S50 et G50, est respectivement de : 26.5%, 34.3% et 41.2%. Par la suite, cet effet disparaît au jour J₇ et J₁₄ de l'expérience dans les 3 groupes (**Figure 6**). La prise énergétique n'est pas différente de

façon significative entre les 3 groupes. De même, le gain de poids, n'est pas significativement différent entre les 3 groupes, P50, S50 et G50 (**Figure 7**).

Conclusion. *Ce résultat confirme celui de l'expérience précédente à savoir une baisse importante de la prise alimentaire lors du premier jour de régime hyperprotéique, quelque soit la protéine utilisée (gluten ou protéine de soja) suivi d'un retour progressif mais pas total par rapport au dernier jour de régime à 14% de PLT.*

2.1.1.3. Expérience 3

L'objectif de cette expérience est de caractériser la séquence alimentaire du rat suite à l'ingestion d'un régime HP contenant de la PLT (P50), lors de la phase de transition, en analysant la prise énergétique cumulée et les différents paramètres : nombre de repas, IMI (intervalle inter repas), taille de repas, durée de repas, et vitesse d'ingestion.

Des rats mâles *Wistar* (n=8) sont installés dans des modules d'enregistrements en continu de la prise alimentaire. Ces rats sont adaptés au régime P14 pendant 10 jours ($J_{-9} - J_0$) puis nourris avec le régime P50 pendant 2 jours (J_1 et J_2). La nourriture est disponible à volonté pendant 16h à partir du début du cycle nuit. La prise énergétique cumulée et les paramètres de la séquence alimentaire lors des deux jours de régime P50 (J_1 et J_2) sont comparés par rapport au dernier jour de l'adaptation au P14 (J_0).

La **Figure 8** montre une diminution de la prise énergétique cumulée du régime P50 par rapport au régime P14, malgré un accroissement significatif au jour J_2 . Il existe une différence inter-jour entre P14 (J_0), P50 (J_1) et P50 (J_2) [$F(2, 18) = 27.6, p < 0.001$]. Durant les 30 premières minutes, l'ingestion d'un régime P50 induit une dépression immédiate que ce soit le premier ou le deuxième jour d'ingestion du régime P50 [$F(2, 45) = 17.9, p < 0.001$] (**Figure 9**). En terme de **quart de cycle**, on observe une baisse significative de la prise énergétique lors des trois premiers quart de cycle au jour J_1 de régime P50 : ~40% (0-3h) ; ~55% (3-6h) et ~60% (6-9h) et lors des 2 premiers quart de cycle au jour J_2 de régime P50 : ~40% (0-3h et 3-6h) (**Figure 10**).

Les paramètres de la séquence alimentaire sont représentés sur la **Figure 11** et **Tableau 7**. **Le nombre de repas** diminue significativement au jour J_2 de régime P50 par rapport au dernier jour de régime P14 (J_0) [$J_0 (16.1 \pm 1.3)$ versus $J_2 (12.7 \pm 0.8), p < 0.05$]. Toutefois, on observe une diminution significative du nombre de repas au jour J_1 lors du 3^{ème} quart de cycle (6-9h). La baisse enregistrée au jour J_2 apparaît lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h). Pour ce qui est de **l'IMI**, il n'y a pas de différence significative. **La taille du repas** diminue significativement au jour J_1 de régime P50 par rapport au dernier jour de régime P14

(J₀), [J₀ (22.1 ± 1.2 kJ) *versus* J₁ (12.6 ± 1.9 kJ), $p < 0.01$] mais n'est plus différente au jour J₂. La diminution de la taille du repas observée au jour J₁ apparaît lors du 2^{ème} (3-6h) et 3^{ème} quart de cycle (6-9h). Au jour J₂, on peut observé une baisse significative de la taille du repas lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h). En ce qui concerne **la durée du repas**, il n'y a pas d'effet lors des deux jours de régime P50 par rapport au dernier jour de régime P14 (J₀). Enfin, **la vitesse d'ingestion** diminue de façon significative au jour J₁ et J₂ de régime P50 par rapport au jour J₀ de régime P14 [J₀ (3.7 ± 0.2) *versus* J₁ (2.2 ± 0.6) et J₂ (2.8 ± 0.3), $p < 0.05$]. On observe cette diminution dès le 1^{er} quart de cycle (0-3h) et persiste lors du 2^{ème} (3-6h) et 3^{ème} quart de cycle (6-9h) au jour J₁ de régime P50. Toutefois, la vitesse d'ingestion diminue significativement que lors du 2^{ème} (3-6h) et 3^{ème} quart de cycle (6-9h) lors du jour J₂ de régime P50.

Conclusion. *La dépression de la prise alimentaire apparaît dès les deux premières minutes, ce qui pourrait signifier des problèmes de néophobie et/ou d'une moindre palatabilité immédiate du nouveau régime hyperprotéique. La palatabilité du régime hyperprotéique ne semble pas s'accroître le deuxième jour. Bien qu'il y ait une baisse progressive du nombre de repas et un retour plus ou moins net à la stabilité de la taille du repas, la vitesse d'ingestion reste faible. L'analyse par quart de cycle des paramètres du repas confirme et affine les conclusions issues de l'analyse globale du rythme de prise alimentaire.*

2.1.1.4. Expérience 4

Cette expérience a pour but de comparer la prise énergétique cumulée et la séquence alimentaire des rats nourris avec un régime hyperprotéique (HP) contenant soit de la PLT (P50), soit de la protéine de soja (S50) ou du gluten (G50), lors de la phase de transition.

Des rats *Wistar* mâles (n=20) sont installés dans des modules d'enregistrement en continu de la prise alimentaire. Ces rats sont adaptés au régime P14 pendant 10 jours (J₋₉ – J₀) puis répartis en trois groupes homogènes nourris pendant 2 jours (J₁ et J₂), avec le régime P50, G50 et S50, respectivement. La prise énergétique cumulée et les paramètres de la séquence alimentaire, lors des deux jours de régime P50 (J₁ et J₂), sont comparés aux résultats du dernier jour de l'adaptation au P14 (J₀).

La **Figure 12** montre une diminution de la prise énergétique cumulée lors des deux jours de régime P50, G50 et S50 par rapport au jour J₀ (P14) [P50: $F(2, 18) = 27.6$, G50 : $F(2, 18) = 60.1$ et S50 : $F(2, 18) = 57.1$, $p < 0.001$; respectivement]. De plus, il y a une différence inter-jour, lors du régime S50 (J₁ *versus* J₂, $p < 0.05$). L'ANOVA en mesure répétée montre un effet Temps [$F(2, 18) = 199.0$, $p < 0.001$] et Temps x Groupe seulement [$F(2, 18) =$

3.7, $p < 0.001$]. En effet, l'énergie cumulée ingérée dans le groupe G50 est significativement plus faible par rapport au groupe P50, au jour J₂ [$F(2, 18) = 3.7, p < 0.05$]. La **Figure 13** montre que la dépression de la prise alimentaire apparaît dès les deux premières minutes lors des trois régimes HP au jour J₁. Elle montre aussi une diminution de la prise énergétique cumulée au jour J₂ par rapport au jour J₁ dans le groupe P50 seulement. Il n'y a pas de différence significative entre les groupes P50, G50 et S50. **En terme de quart de cycle**, la **Figure 14** montre une dépression significative de la prise énergétique au jour J₁ lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h), dans les 3 groupes, lors du 2^{ème} quart de cycle (3-6h) dans les 2 groupes P50 et S50, lors du 3^{ème} quart de cycle (6-9h) dans le groupe P50 et G50 et lors du dernier quart de cycle (9-12h) dans le groupe S50 seulement. Toutefois, il y a une différence intergroupe, G50 et S50 *versus* P50 au 1^{er} quart de cycle, P50 et S50 *versus* G50 au 2^{ème} quart de cycle, P50 *versus* S50 au 3^{ème} quart de cycle et P50 *versus* S50 lors du dernier quart de cycle. Enfin au jour J₂, la dépression de la prise énergétique est significative dans les 3 groupes lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h) et 2^{ème} quart de cycle et uniquement dans le groupe P50 lors du 3^{ème} quart de cycle. Enfin, il n'y a plus de différence lors du dernier quart de cycle dans les 3 groupes. Il y a une différence intergroupe (P50 *versus* G50 et S50) lors du 1^{er} quart de cycle.

En ce qui concerne la séquence alimentaire les résultats sont présentés sur la **Figure 15** et **Tableau 7**, **Tableau 8** et **Tableau 9**. **Le nombre de repas** diminue significativement lors du régime S50 par rapport au dernier jour de P14 [$J_0 (15.9 \pm 0.6)$ *versus* $J_1 (10.6 \pm 1.7, p < 0.01)$ et $J_2 (12.0 \pm 0.5, p < 0.05)$]. Il diminue seulement au jour J₂ dans le groupe P50. On observe que la diminution du nombre de repas dans le groupe S50 au jour J₁ apparaît dès le 1^{er} quart de cycle (0-3h) et se maintient au 2^{ème} (3-6h) et au 4^{ème} quart de cycle (9-12h). Lors du deuxième jour, la diminution du nombre de repas dans le groupe S50 n'est significative que lors du 1^{er} (0-3h) et dernier quart de cycle (9-12h) et dans le groupe P50 que lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h). En ce qui concerne **VIMI**, il n'y a pas de différence significative dans les trois groupes, P50, G50 et S50. **La durée du repas** augmente significativement dans le groupe G50 au jour J₂ par rapport au jour J₀ (P14) [$J_0 (7.6 \pm 0.7)$ *versus* $J_2 (11.5 \pm 0.6), p < 0.001$]. Cette augmentation apparaît dès le 2^{ème} quart de cycle (3-6h). Pour ce qui est de **la taille de repas**, elle diminue dans les 3 groupes au premier jour de régime HP par rapport au jour J₀ (P14) [G50 : $J_0 (25.5 \pm 2.3)$ *versus* $J_1 (14.8 \pm 1.0, p < 0.01)$, S50 : $J_0 (23.8 \pm 1.2)$ *versus* $J_1 (17.1 \pm 2.4, p < 0.05)$ et P50 : $J_0 (22.1 \pm 1.2\text{kJ})$ *versus* $J_1 (12.6 \pm 1.9\text{kJ}), p < 0.01$]. Par contre, cette diminution ne reste significative que dans le cas du régime G50, au jour J₂ ($16.6 \pm 1.5, p < 0.01$). On observe une diminution du 1^{er} (0-3h) au 3^{ème} quart de cycle (6-9h) au jour J₁ et jusqu'au 2^{ème} quart de cycle (3-6h) au jour J₂. Dans le groupe S50, cette diminution n'apparaît que lors du 3^{ème} quart de cycle (6-9h) au jour J₁ ($p < 0.05$) et lors du 1^{er} quart de cycle (0-3h)

au jour J₂. Enfin, la vitesse d'ingestion diminue dans les 3 groupes, lors de l'ingestion du régime HP par rapport au régime P14 (J₀) [G50 : J₀ (4.5 ± 0.4) versus J₁ (2.0 ± 0.2, p<0.001) et J₂ (1.7 ± 0.2, p<0.01) et S50 : J₀ (3.3 ± 0.2) versus J₁ (1.6 ± 0.2, p<0.001) et J₂ (2.0 ± 0.3, p<0.01) et P50 : J₀ (3.7 ± 0.2) versus J₁ (2.2 ± 0.6) et J₂ (2.8 ± 0.3), p<0.05]. On observe une diminution de la vitesse d'ingestion dès le 1^{er} quart de cycle et persiste lors des autres quarts de cycle dans le groupe G50 et dans le groupe S50 lors des trois premiers quarts de cycle au jours, J₁ et J₂.

Conclusion. *Ce résultat confirme celui de l'expérience précédente à savoir une dépression de la prise alimentaire dès les deux premières minutes, ce qui pourrait signifier des problèmes de néophobie et/ou d'une moindre palatabilité immédiate des nouveaux régimes hyperprotéiques. A 30 minutes, la moindre palatabilité paraît plus importante avec le gluten ou le soja qu'avec la protéine de lait. Toutefois, pour les deux protéines utilisées (protéines totales du lait et soja), il y a augmentation de la quantité ingérée lors du deuxième jour d'ingestion du régime hyperprotéique en comparaison avec le niveau ingéré le premier jour. Dans le cas du gluten, cette augmentation est en partie masquée par le plus haut niveau d'ingestion à l'issue du premier jour et par le niveau plus faible le second jour. Bien qu'il y ait une baisse progressive du nombre de repas dans deux cas sur trois, PLT et Soja, et un retour plus ou moins net à la stabilité de la taille du repas, la vitesse d'ingestion reste faible. L'analyse par quart de cycle des paramètres du repas indique que quel que soit le régime hyperprotéique utilisé dans notre expérience, la vitesse d'ingestion diminue dès le premier quart de cycle du premier jour de régime hyperprotéique. Cette diminution de la vitesse d'ingestion persiste durant les quarts de cycle suivants.*

2.1.1.5. Expérience 5

L'objectif de cette expérience est de caractériser la séquence alimentaire (nombre de repas, IMI, taille de repas, durée de repas, et vitesse d'ingestion) et la prise énergétique cumulée du rat suite à l'ingestion d'un régime HP contenant de la PLT après adaptation.

Des rats *Wistar* mâles (n=20) sont installés dans des modules d'enregistrement en continu de la prise alimentaire. Ces rats sont adaptés au régime P14 pendant 10 jours (J₋₉ - J₀) puis répartis de façon homogène en deux groupes nourris pendant deux semaines (J₁ - J₁₄), avec le régime P50 et P14, respectivement.

Au jour J₁₄, à l'issue des 16h d'enregistrement, l'énergie cumulée ingérée, dans le groupe P14 et P50 est respectivement de : 390.0 ± 10.0 kJ versus 305.0 ± 15.0 kJ, p<0.01. On note une moindre ingestion du régime P50. Néanmoins, la différence d'ingestion par le groupe

P50 n'apparaît qu'au bout de 340 min (**Figure 16**). *En terme de quart de cycle*, la prise énergétique dans le groupe P50 est significativement inférieure par rapport au groupe P14 lors du 2^{ème} quart de cycle (3-6h) (**Figure 17**). Les paramètres de la séquence alimentaire sont représentés sur la **Figure 18**. On observe une baisse significative du *nombre de repas* dans le groupe P50 par rapport au groupe P14. Dans le même temps, on n'observe pas de différences significatives des autres paramètres de la séquence alimentaire (*IMI*, durée et taille du repas et vitesse d'ingestion) entre les deux groupes.

Conclusion. *L'absence de diminution immédiate de la prise énergétique cumulée comme lors des deux premiers jours de régime hyperprotéique pourrait signifier une augmentation de la palatabilité après adaptation au régime hyperprotéique contenant de la protéine de lait totale, une fois que les mécanismes d'adaptation métabolique sont en place. La moindre ingestion du régime hyperprotéique par rapport à celle d'un régime normoprotéique, se traduit par une baisse du nombre de repas sans modification significative des autres paramètres, IMI, durée, taille et vitesse d'ingestion. De tels résultats indiquent plutôt un phénomène de satiété que d'aversion et ceci d'autant plus que, lors d'une aversion gustative conditionnée, on ne voit pas d'adaptation mais un rejet définitif de la nourriture.*

2.1.2. Aversion versus satiété : l'apport des techniques de choix

2.1.2.1. Expérience 1

L'objet de cette expérience est de tester la préférence entre un régime normoprotéique (P14) et un régime hyperprotéique contenant de la PLT (P50) chez des rats, ayant connu un régime HP, lors d'un choix entre un régime NP et un régime HP. Le régime NP fait alors office de nouveau régime. On fait l'hypothèse que ce groupe évitera d'ingérer le régime HP et se précipitera sur le régime NP. En cas d'aversion gustative conditionnée vis à vis du régime HP, la préférence pour le nouveau régime devrait être forte, c'est à dire significativement supérieure à 50 %. L'expérience inverse a aussi été réalisée : des rats, ayant connu le régime NP, sont soumis à un choix NP-HP. Le régime HP fait alors office de nouveau régime. Dans ce cas, comme le régime NP n'induit pas d'aversion gustative conditionnée, on s'attend à ce que le rat exprime plus une néophobie qu'une néophilie. Ainsi la préférence pour le nouveau régime devrait être faible. Enfin des rats naïfs, n'ayant donc jamais connu les régimes NP et HP, sont aussi soumis au choix NP-HP. Dans ce cas, les résultats du choix permettront d'évaluer la préférence relative entre ces deux régimes chez des rats naïfs. Les expériences

suivantes ont, donc, pour objet d'utiliser un tel paradigme pour mettre en avant la présence éventuelle d'une aversion gustative conditionnée induite par l'ingestion d'un régime HP.

Des rats *Wistar* mâles (n=72), pesant 180-200g, sont installés individuellement dans des cages métalliques, et placés sur un cycle jour/nuit (nuit : 10h00-22h00). Pendant 10 jours, tous les rats sont nourris *ad libitum* avec un régime standard (*Teklad Global* 14%, N° 2014 ; Harlan, Pays-Bas) pendant les 8 premières heures du cycle nuit (10-18h). Après cette période d'habituation, ils sont répartis en 9 groupes : témoin , P14, P14-3g, P14-6g, P14-9g, P50, P50-3g, P50-6g et P50-9g. Chaque groupe comprend 8 rats. Au premier jour (J₁), les groupes nommés P14 et P50 sont nourris *ad libitum* avec le régime correspondant à leurs noms pendant les 8 premières heures du cycle nuit (10-18h). Les groupes nommés P14 (3g, 6g et 9g) et P50 (3g, 6g et 9g), ont reçu le régime et la quantité correspondant à leurs noms, pendant les 8 premières heures du cycle nuit (10-18h). Le groupe témoin est maintenu sous le régime standard, *ad libitum*, pendant les 8 premières heures du cycle nuit (10h-18h). Au 2^{ème} et 3^{ème} jour (J₂ et J₃), tous les animaux sont nourris avec le régime standard afin de récupérer d'un déficit énergétique éventuel lors du jour J₁. Au 4^{ème} jour (J₄), tous les groupes sont soumis au choix-test entre les deux régimes (P14 et P50). Par ailleurs, afin d'éviter tout biais lié à une préférence dans la position des mangeoires contenant le repas, celles-ci sont alternées. Une mesure des quantités ingérées de chaque régime est effectuée 1h et 8h après la présentation des deux régimes. Le choix d'une heure nous permet de mesurer une préférence immédiate. Celle-ci s'exprime avant que les rats aient eu entièrement le temps de différencier les conséquences post-ingestives du régime. La préférence est exprimée sous forme du rapport (%): [énergie ingérée du nouveau régime) x 100 / énergie ingérée (nouveau régime + régime expérimenté)].

Au 1^{er} jour (J₁), le groupe P14 a ingéré plus que le groupe P50 [347.7 ± 11.8 kJ (23g) *versus* 233.3 ± 11.4 kJ (15g), *p*<0.01]. Les groupes de rats ayant reçu un repas P14 ou P50 calibré (3, 6 et 9g) ont ingéré la totalité du repas. Au jour J₄, la prise énergétique totale (P14 + P50) à la fin du jour de choix n'est pas significativement différente entre les groupes [Témoin (385.9 ± 9.1 kJ), P14 (375.7 ± 10.9 kJ), P14-9g (362.7 ± 14.9 kJ), P14-6g (380.5 ± 14.9 kJ), P14-3g (371.1 ± 13.8 kJ), P50 (367.2 ± 17.2 kJ), P50-9g (379.0 ± 17.1 kJ), P50-6g (371.0 ± 18.1 kJ) et P50-3g (369.0 ± 15.1 kJ)]. Concernant la préférence, la **Figure 19** montre qu'aucun groupe n'exprime une préférence pour le nouveau régime à 1 heure. Chez le groupe témoin et tous les groupes P14, on observe un refus d'ingestion du nouveau régime (P50). Ce refus est encore plus marqué chez les rats ayant connu précédemment le régime normoprotéique [témoin : *F* (2, 21) = 13.7, *p*<0.001 ; P14-3g : *F* (2, 21) = 30.3, *p*<0.001 ; P14-6g : *F* (2, 21) = 328.1, *p*<0.001 ; P14-9g : *F* (2, 21) = 52.9, *p*<0.001 et P14 : *F* (2, 21) =

35.6, $p < 0.001$]. Dans les groupes P50, l'absence de préférence pour le nouveau régime est moins nette [P50-3g : $F(2, 21) = 12.8, p < 0.001$; P50-6g [$F(2, 21) = 4.1, p < 0.05$ et P50 : $F(2, 21) = 4.9, p < 0.05$]. Seul, le groupe P50-9g ne montre pas de préférence pour aucun des deux régimes. De même qu'à 8 heures, les groupes n'expriment pas de préférence pour le nouveau régime. Chez le groupe témoin et tous les groupes P14, on observe toujours un refus d'ingestion du nouveau régime (P50). Chez les groupes P50, les deux régimes sont ingérés de façon non différente. L'ANOVA à mesure répétée montre un effet Groupe [$F(8, 63) = 13.2, p < 0.001$], un effet Temps [$F(8, 63) = 163.6, p < 0.001$], et un effet Groupe x Temps [$F(8, 63) = 9.0, p < 0.001$]. En effet, à 1h et 8h après le début du choix, les groupes témoin et P14 sont différents des groupes P50.

Conclusion. *Les résultats de cette expérience montrent que l'ingestion d'un régime hyperprotéique ne s'accompagne pas d'un évitement systématique de ce nouveau régime quand les animaux en ont la possibilité. Ceci contredit donc l'hypothèse d'installation d'une aversion gustative conditionnée. Toutefois, Ces résultats indiquent que la palatabilité relative du régime normoprotéique est supérieure à celle du régime hyperprotéique. Néanmoins, les rats testent et ingèrent le régime hyperprotéique (entre 25 et 30%).*

2.1.2.2. Expérience 2

Cette expérience a pour objectif d'étudier l'influence de la nature du régime hyperprotéique sur le choix alimentaire dans le but de vérifier si les résultats obtenus avec le régime hyperprotéique à base de protéine de lait totale (**cf. Chapitre 2.1.2.1**) sont encore valables quand on utilise d'autres régimes hyperprotéiques (à base de soja ou gluten). Dans cette expérience, on compare la préférence pour le nouveau régime chez des rats soumis à un choix entre un régime normoprotéique (P14) et un régime hyperprotéique contenant de la PLT (P50), de la protéine de soja (S50) ou de la protéine de gluten (G50).

Le même protocole expérimental que celui de l'expérience précédente est suivi (**cf. Chapitre 2.1.2.1**). Les rats sont répartis en deux groupes : G50 ($n=6$) et S50 ($n=6$). Deux régimes hyperprotéiques, gluten 50% (G50) et soja 50% (S50) sont utilisés. Au premier jour (J_1) les rats reçoivent un repas calibré à 9g, correspondant au nom du groupe. Lors de cette expérience, nous avons retenu le seuil de 9g de régime pour le pré-choix-test. Le choix de la quantité 9g correspond à deux impératifs : d'une part assurer l'ingestion d'une quantité importante et d'autre part, garantir l'ingestion d'une même quantité de régime hyperprotéique quelle que soit la protéine utilisée. Le groupe témoin est encore nourri *ad libitum* avec le régime standard pendant les 8 premières heures du cycle nuit (10-18h). Au 2^{ème} et 3^{ème} jour (J_2 et J_3) les rats ont comblé un éventuel déficit énergétique en consommant le régime standard

ad libitum, pendant le cycle nuit (10-18h). Au 4^{ème} jour (J₄) les deux groupes sont soumis à un choix test entre le régime normoprotéique (P14) et le régime hyperprotéique (G50 ou S50 selon le groupe), *ad libitum*, pendant le cycle nuit (10-18h). Une mesure à 1 et 8 heures est effectuée le jour du choix-test, après la présentation des deux régimes. Par ailleurs, afin d'éviter tout biais lié à une préférence dans la position des mangeoires, celles-ci ont été alternées.

Au 1^{er} jour (J₁), les deux groupes de rats G50 et S50 ont ingéré la totalité des 9g de régime correspondant à leur nom. Au 4^{ème} jour (J₄), la prise énergétique totale (P14 + P50) à la fin du jour de choix n'est pas différente significativement entre les groupes [Témoin (385.9 ± 9.1 kJ), P14-9g (375.7 ± 10.9 kJ), S50-9g (379.0 ± 17.1 kJ), G50-9g (371.0 ± 18.1 kJ) et P50-9g (382 ± 17.2 kJ)]. Concernant la préférence, la **Figure 20** montre qu'aucun groupe n'exprime une préférence pour le nouveau régime, à 1h et 8h, après le début du choix. La préférence pour le nouveau régime dans les groupes G50 et S50 n'est pas différente de 50%. En revanche, on observe une baisse de la préférence pour le nouveau régime, à 1 heure et 8 heures, dans le groupe témoin [F (2, 21) = 13.7 ; $p < 0.001$] et le groupe P14 [F (2, 21) = 35.6; $p < 0.001$]. Si on compare ces résultats avec ceux de l'expérience précédente (régime P50 contenant de la protéine de lait totale), il n'y a pas de différences significatives. L'ANOVA à mesures répétées montre, un effet Groupe [F (4, 31) = 10.6, $p < 0.001$], un effet Temps [F (4, 31) = 21.7, $p < 0.001$], et un effet Groupe x Temps [F (4, 31) = 8.5, $p < 0.001$]. En effet, à 1h après le début du choix, les groupes S50 et P50 sont différents du groupe P14 et le groupe G50 est différent du groupe témoin. À 8h après le début du choix, les groupes P50, G50 et S50 sont différents du groupe P14 et les groupes P50 et G50 sont différents du groupe témoin.

Conclusion. *Les résultats de cette expérience montrent que l'ingestion d'un régime hyperprotéique contenant de la protéine totale de lait, de soja ou de gluten ne s'accompagne pas d'un évitement systématique de ce nouveau régime quand les animaux en ont la possibilité. Ceci confirme l'absence d'aversion gustative conditionnée.*

2.1.2.3. Expérience 3

Le but de cette expérience est de vérifier dans d'autres conditions expérimentales si un régime HP induit une aversion gustative conditionnée, c'est-à-dire des rats ayant expérimenté un tel régime en association avec une nouvelle flaveur, évitent la nouvelle flaveur dès qu'ils en ont la possibilité. Ils exprimeraient ainsi une néophobie induite.

Des rats Wistar mâles (n=60), pesant 180-200g, sont installés individuellement dans des cages métalliques grillagées, et placés sur un cycle jour-nuit (nuit : 10h00-22h00). Ils sont

habitué aux conditions environnementales et nourris *ad libitum* avec un régime standard (*Teklad Global* 14%, N° 2014 ; Harlan, Pays-Bas), pendant 10 jours. Les rats ont accès à l'eau (avec ou sans saveur) *ad libitum*, pendant toute la durée de l'expérience. Après cette période d'habituation, les rats sont répartis en cinq groupes : témoin, P14, P50, G50 et S50. Le premier jour de l'expérience (J_1), les rats témoins reçoivent, deux biberons d'eau aromatisée, l'une à la vanille et l'autre à l'amande (40 μ l d'arôme/40 ml d'eau fraîche/biberon). Ce groupe sert à montrer que les rats ne choisissent pas préférentiellement une des deux saveurs. Le fait d'utiliser deux arômes (SCA, Paris) permet de s'affranchir de l'importance du choix d'un arôme plus qu'un autre. Les rats P14 reçoivent le régime P14 pour la première fois, et sont divisés en deux sous-groupes de 6 rats : un groupe recevant l'eau aromatisée à la vanille et l'autre recevant l'eau aromatisée à l'amande, *ad libitum*. Les rats P50, G50 et S50 sont constitués sur le même principe hormis le fait qu'ils reçoivent, pour la première fois, le régime correspondant à leurs noms (PLT, gluten et protéine de soja respectivement). Le 2^{ème} et 3^{ème} jour de l'expérience (J_2 et J_3), tous les animaux sont nourris avec le régime standard afin de récupérer d'un déficit énergétique éventuel lors du jour J_1 . Au 4^{ème} jour de l'expérience (J_4) dès le début du cycle nuit, les groupes P14, P50, G50 et S50 reçoivent pendant une heure un choix entre les deux eaux aromatisées. La nourriture n'est présentée qu'à partir de la deuxième heure jusqu'à la fin du cycle de nuit. Par ailleurs, afin d'éviter tout biais lié à une préférence dans la position des biberons d'eau aromatisée à la vanille ou à l'amande, celles-ci sont alternées. Le poids des animaux, la quantité d'aliments ingérés et les quantités d'eau (aromatisée ou nature) bues sont mesurés quotidiennement pendant la période d'adaptation et au jour J_1 . Toutefois, les quantités d'eau bues, au jour J_4 , sont mesurées 1h après le début du choix. La préférence pour la nouvelle saveur est définie comme le rapport (%) [de la quantité de la nouvelle eau aromatisée bues x 100 / la quantité totale des 2 eaux aromatisées bues].

Au jour J_1 , les quantités d'eau aromatisée bues par l'un des cinq groupes correspondants ne sont pas significativement différentes [témoin : Amande (14.4 ± 2.1 ml) *versus* Vanille (15.8 ± 1.0 ml)], [P14 : Amande (9.9 ± 3.9 ml) *versus* Vanille (6.9 ± 2.1 ml)], [P50 : Amande (6.5 ± 2.1 ml) *versus* Vanille (9.2 ± 3.5 ml)], [G50 : Amande (20.1 ± 2.4 ml) *versus* vanille (19.2 ± 1.9 ml)] et [S50 : Amande (15.6 ± 1.3 ml) *versus* Vanille (15.6 ± 1.3 ml)]. Au jour de choix-test (J_4), les cinq groupes de rats (témoin, P14, P50, G50 et S50), ne manifestent pas de préférence pour la nouvelle saveur, à l'issue de la première heure (**Figure 21**). En effet, la préférence n'est pas différente de 50%, ce qui signifie que les animaux se dirigent autant vers la nouvelle saveur que vers la saveur qu'ils avaient connue au jour J_1 . Enfin, en terme de prise énergétique, les rats nourris au régime P14 consomment plus d'énergie que les rats nourris au régime HP au jour J_4 , [P14 : amande (369.7 ± 13.8 kJ) et vanille (361.1 ± 13.1 kJ)] *versus* [P50 : amande (226.1 ± 14.8 kJ) et vanille (219.8 ± 16.1 kJ) ;

G50 : amande (275.0 ± 4.6 kJ) et vanille (267.2 ± 5.8 kJ) ; S50 : amande (277.2 ± 29.5 kJ) et vanille (276.1 ± 6.3 kJ) ; $p < 0.01$].

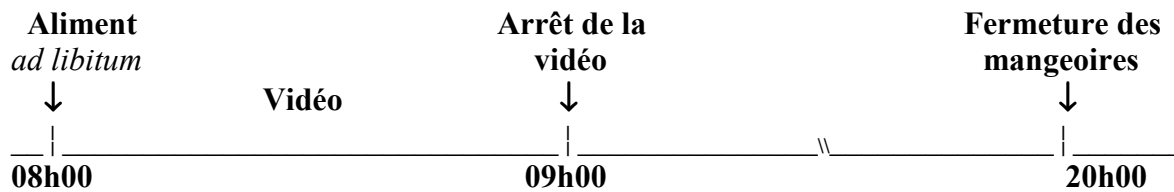
Conclusion. *Les résultats de cette expérience montrent que l'ingestion d'un nouveau régime hyperprotéique, contenant la protéine totale de lait, du gluten ou de la protéine de soja, n'induit pas de rejet de la flaveur associée à ce régime au profit d'une quelconque nouvelle flaveur. Ces résultats n'indiquent donc pas, à priori, l'installation d'une aversion conditionnée gustative. En effet, l'ingestion du régime hyperprotéique n'a pas provoqué une augmentation significative de la quantité de la nouvelle eau bue. De plus, la préférence pour la nouvelle flaveur n'est pas différente dans les groupes ; que la flaveur soit associée avec le régime hyperprotéique ou le régime témoin normoprotéique. Dans le cadre de notre expérience, les deux groupes expriment donc la même néophilie pour la nouvelle flaveur. Concernant les groupes témoins et les groupes normoprotéiques, les résultats ne montrent pas de préférence pour le régime normoprotéique comme lors des expériences de choix précédentes. Ce résultat est difficile à expliquer mais indique peut-être une moindre grande sensibilité de cette deuxième expérience de choix.*

2.1.3. Analyse de la séquence comportementale de satiété (SCS) et le test de réactivité gustative suite à l'ingestion des régimes hyperprotéiques

L'objectif de cette expérience est : (i) d'analyser et de quantifier le pouvoir hédonique, aversif ou neutre de stimulus d'un régime hyperprotéique contenant de la PLT, en utilisant la technique d'observation des mimiques faciales chez le rat ; (ii) de mettre en évidence le développement de la séquence comportementale de satiété quand les rats reçoivent ce régime ; (iii) de comparer le développement de la SCS de rats recevant des régimes hyperprotéiques contenant des protéines de nature différente (PLT, protéine de gluten ou protéine de soja).

Des rats *Wistar* mâles ($n=20$) sont installés dans des cages individuelles en plexiglas cylindriques possédant des mangeoires à fermeture automatique. Le cycle jour nuit imposé a été : 08h à 20h (nuit). Les rats sont répartis en trois groupes : P50 ($n=8$), G50 ($n=6$) et S50 ($n=6$). Ils sont adaptés au régime P14 pendant 10 jours (J_{-9} à J_0) puis au régime hyperprotéique (P50, G50 ou S50) pendant 14 jours (J_1 - J_{14}). Les rats sont nourris *ad libitum* de 08h à 20h. Le comportement du rat est filmé (08h à 09h), lors de la présentation du régime P14 (jour J_0) et lors de la présentation du régime HP (jours : J_1 , J_2 , J_3 et J_{14}). Ensuite, le film est visualisé pour recenser, d'une part, les mimiques faciales du rat pendant les 15 premières minutes du film et la SCS pendant tout le film (cf. Chapitre 1.3). La prise alimentaire des rats

est mesurée à la fin de la séance vidéo (08h à 09h). Le poids corporel des rats est mesuré quotidiennement. Les données de la séquence comportementale de satiété (bouffées alimentaires, toilettage, activité et repos) sont présentées en pourcentage (%) par 5 minutes ($n_{5\text{min}} \times 100 / n_{1\text{h}}$), et ceux des paramètres des bouffées alimentaires (nombre, durée moyenne et vitesse d'ingestion) sont exprimées en valeurs absolues.



2.1.3.1. Expérience 1

Le but de cette expérience est d'étudier l'effet du régime hyperprotéique contenant de la PLT (P50) sur la séquence comportementale de satiété et la réactivité gustative.

2.1.3.1.1. Séquence comportementale de satiété

L'évolution de la SCS lors du régime P14 et P50 est représentée sur la **Figure 22**. Au jour J_0 (P14), le profil de la SCS des rats nourris au P14 apparaît dans un ordre bien précis quand les animaux sont nourris avec le régime NP. Tout d'abord, la phase prandiale est concentrée dans les 15 premières minutes de l'enregistrement. Elle est immédiatement suivie par les phases d'activité et ou de toilettage, elles-mêmes suivies par une large période de repos qui devient maximum à partir de 20 min. La période de repos occupe la plus large place (55% du temps d'enregistrement). Au jour J_1 (P50), le profil de la SCS est très perturbé. La période d'alimentation ne se concentre pas dès la présentation du régime mais se répartit sur toute la période d'enregistrement avec, toutefois, une décroissance progressive de son importance au fur et à mesure du déroulement de l'enregistrement. Sur la totalité de la durée de l'enregistrement, **les bouffées alimentaires** sont augmentées significativement par rapport aux autres jours [$F(4, 35) = 12.1 ; p < 0.001$]. A l'inverse, les autres paramètres (repos, activité et toilettage) évolue de façon non significative. Aux jours J_2, J_3 et J_{14} (P50), les profils et les paramètres de la séquence comportementale de satiété ne sont plus différents de celui du jour de P14. Toutefois, le repos lors du régime P50 est différent entre le jour J_1 et les jours J_3 et J_{14} [$F(4, 35) = 5.4 ; p < 0.01$].

Les paramètres des bouffées alimentaires sont représentés sur le **Tableau 10**. *Le nombre* de bouffées alimentaire est significativement augmenté lors du premier jour de régime P50 (J₁) par rapport au jour de régime P14 (J₀) [F (4, 35) = 6.6, $p < 0.001$]. Dès le deuxième jour de régime P50 (J₂), il n'y a plus de différence. *Leur durée moyenne* n'est pas significativement différente quel que soit le jour d'enregistrement. Par contre la *vitesse d'ingestion* est diminuée le premier et deuxième jour de régime P50 [F (4, 35) = 23.2, $p < 0.001$]. Après adaptation au régime P50 (J₃ et J₁₄), il n'y a plus de différence. Enfin, le régime P50 induit une baisse de *l'énergie ingérée* aux jours J₁ et J₂ seulement [F (4, 35) = 14.3, $p < 0.001$]. Dès J₃, il n'y a plus de différence. *La durée de reniflement* autour de la mangeoire augmente de façon significative au jour J₁ [F (3, 28) = 2.9, $p < 0.05$].

2.1.3.1.2. Test de réactivité gustative (TRG).

Le **Tableau 11** montre qu'il n'y a pas de différence significative entre *le nombre total des réactions hédoniques et aversives* lors 15 premières minutes de régime aux jours J₀, J₁, J₂ et J₁₄. Le TRG montre que le nombre total des réactions aversives augmente, seulement, lors du jour J₁ de régime P50 [F (3, 28) = 3.0 ; $p < 0.05$]. En revanche, *le nombre des réactions aversives hédoniques et neutres* n'est pas différent entre le jour J₀ et les jours J₂ et J₁₄.

Conclusion. *La séquence comportementale de satiété, composée successivement de la phase prandiale, du toilettage et/ou de l'activité puis du repos, est modifiée le premier jour de régime hyperprotéique à 50% de PLT en comparaison de celle observée lors du dernier jour de régime normoprotéique à 14% de PLT. Par opposition, dès le second jour d'ingestion du régime hyperprotéique, on observe un retour à la normale en ce qui concerne la séquence comportementale de satiété. Si la normalité de la séquence comportementale de satiété est rétablie, la vitesse d'ingestion reste encore inférieure à celle du jour témoin. Après l'adaptation, il n'y a plus aucune différence significative pour aucun des paramètres alors que c'est le contraire lorsqu'une aversion gustative conditionnée est installée. De plus, le test de réactivité gustative montre que l'ingestion pour la première fois du repas hyperprotéique (P50, J₁) s'accompagne d'une augmentation relative des expressions aversives sans modification du nombre d'expressions hédoniques.*

2.1.3.2. Expérience 2

Cette expérience a pour but de d'étudier l'influence de la nature du régime hyperprotéique (gluten « G50 » et protéines de soja « S50 ») sur la séquence comportementale de satiété et la réactivité gustative.

2.1.3.2.1. Séquence comportementale de satiété

L'évolution de la séquence comportementale de la satiété (SCS) est représentée sur les **Figure 23** et **Figure 24**. Tout comme dans le groupe P50, le profil de la SCS des rats nourris avec le régime P14 dans les deux groupes G50 et S50 au jour J_0 . Tout d'abord, la phase prandiale est concentrée dans les 15 premières minutes de l'enregistrement. Elle est immédiatement suivie par les phases d'activité et ou de toilettage, elles-mêmes suivies par une large période de repos qui devient maximum à partir de 20 min. La période de repos occupe la plus large place (43-46%) du temps d'enregistrement). Au jour J_1 du régime HP, la SCS est perturbée comme dans le cas du groupe P50. Toutefois, les modifications des paramètres de la SCS dans les deux groupes G50 et S50 ne sont pas significatives. Selon l'expérience, le **toilettage** et l'**activité** connaissent des variations bruitées mais non significatives. Aux jours J_2 , J_3 et J_{14} de régime HP, on assiste à un retour à une SCS non différente de celle du régime P14 au jour J_0 , comme pour le groupe P50. Dans tous les cas il n'y a pas de différence entre les groupes après l'adaptation (J_{14}). Dans le cas des groupes P50 et S50, ce retour apparaît dès J_2 . Dans le cas du gluten, la réinstallation paraît plus progressive. En effet, on observe une différence **des bouffées alimentaires** entre le groupe G50 et les groupes P50 et S50 au jour J_2 [F (2, 17) = 19.5, $p < 0.001$] et J_3 [F (2, 17) = 18.5, $p < 0.001$]. Elles augmentent de façon significative au jour J_3 dans le groupe G50 [F (4, 25) = 4.5, $p < 0.01$]. L'importance des bouffées alimentaires se fait au détriment du repos. Ce qui se traduit par une différence **du repos** entre le groupe G50 et les groupes P50 et S50 au jour J_2 [F (2, 17) = 11.3 ; $p < 0.001$] et J_3 [F (2, 17) = 19.8 ; $p < 0.001$]. Dans les trois groupes, **l'activité et le toilettage** évoluent de façon non différente.

Les paramètres des bouffées alimentaires sont représentés dans les **Tableau 12** et **Tableau 13**. **Le nombre** des bouffées alimentaires augmente de façon significative lors du premier jour de régime S50 (J_1) par rapport au régime P14 au jour J_0 , comme dans le groupe P50 [F (4, 25) = 9.6, $p < 0.001$]. Il revient progressivement à une valeur normale à partir du jour J_2 dans le groupe S50. Dans le groupe G50, le nombre de bouffées alimentaire ne varie pas de façon significative. Quoique leur **durée moyenne** ne varie pas de façon significative, dans les trois groupes P50, G50 et S50, on observe une différence entre le groupe G50 et les groupes S50 et P50 au jour J_1 , et entre le groupe S50 et P50 au jour J_2 et entre le groupe G50 et P50 au jour J_3 , mais pas après l'adaptation (J_{14}). L'ANOVA à mesure répétée montre un effet Groupe [F (2, 17) = 19.0, $p < 0.001$] et un effet Temps seulement [F (2, 17) = 5.6, $p < 0.001$]. En ce qui concerne la **vitesse d'ingestion**, elle diminue significativement au jour J_1 dans le groupe S50 comme dans le groupe P50 [F (4, 25) = 4.0, $p < 0.05$] et se maintient jusqu'au jour J_3 dans le groupe G50 [F (4, 25) = 7.2, $p < 0.001$]. Elle est différente entre le groupe G50 et le groupe S50 au jour J_3 [F (2, 17) = 4.7, $p < 0.05$]. Enfin, **l'énergie ingérée**

diminue significativement dans les deux groupes G50 et S50 comme dans le groupe P50 au jour J₁ et dans le groupe G50 au jour J₂ [G50 : F (4, 25) = 8.8, $p < 0.001$ et S50 : F (4, 25) = 10.5, $p < 0.001$]. L'ANOVA à mesure répétée montre un effet Groupe [F (2, 17) = 7.1, $p < 0.01$], un effet Temps [F (2, 17) = 46.9, $p < 0.001$] et un effet Temps x Groupe [F (2, 17) = 2.2, $p < 0.01$]. En effet, on observe une différence de l'énergie ingérée entre le groupe G50 et le groupe S50 au jour J₁ [F (2, 17) = 5.6, $p < 0.01$] et J₃ [F (2, 17) = 15.0, $p < 0.001$]. Il y a une différence de l'énergie ingérée entre le groupe P50 et le groupe S50 au jour J₃ [F (2, 17) = 15.0, $p < 0.001$]. En revanche, il n'y a pas de différence au jour J₂ et après l'adaptation (J₁₄).

Conclusion. *La nature de protéine ne semble pas influencer les résultats obtenus avec la protéine totale de lait. Quelle que soit la protéine utilisée dans nos expériences, il y a apparition de la perturbation du profil de la séquence comportementale de satiété (phase prandiale, du toilettage et/ou de l'activité et repos) lors du premier jour de régime hyperprotéique. Dès le second jour d'ingestion du régime hyperprotéique, on observe un retour à la normale.*

2.2. Etude du pouvoir satiétogène de charges protéiques

2.2.1. Expérience 1

Le but de cette expérience est : (i) de comparer le pouvoir satiétogène des protéines à celui des glucides, en utilisant deux charges isoénergétiques et isovolumiques, l'une contenant le gluten de blé comme protéine et l'autre contenant l'amidon de blé comme glucide; (ii) de mettre en évidence l'effet satiétogène de la teneur en protéine sur la prise alimentaire, en utilisant quatre charges isoénergétiques et isovolumiques, contenant des quantités croissantes de protéines sous forme de gluten : 0%, 35%, 50% et 100% et (iii) d'étudier l'influence de la nature des protéines sur la prise alimentaire, en utilisant quatre charges isoénergétiques et isovolumiques, contenant 50% de protéine sous forme de : gluten, PLT, alpha-lactalbumine¹ et soja.

Des rats *Wistar* mâles (175-200g) (n=101) sont installés dans des cages cylindriques en plexiglas, équipées de mangeoires à ouverture et fermeture automatique, placées dans une pièce thermostatée ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Les rats, habitués au cycle de lumière inversée (nuit : 05h00 – 17h00), sont nourris avec un aliment standard “P14” et adaptés à un rythme alimentaire de trois repas quotidiens : “petit déjeuner” (44,7 kJ, 15 min), “déjeuner” (*ad libitum*, 1 h) et “dîner” (*ad libitum*, 1 h), pendant toute l'expérience. Au début de la deuxième semaine, un cathéter est implanté dans la cavité buccale du rat. Après une semaine de récupération, une charge, isoénergétique (55kJ) et isovolumique (10ml), est administrée au rat, par l'intermédiaire du cathéter buccal, pendant 10 min, **une heure** avant le dîner. Cette procédure est répétée pendant **4 jours**. Huit groupes de rats sont utilisés, lors de cette expérience : GLT-0% (n=14), GLT-35% (n=12), GLT-50% (n=15), GLT-100% (n=14), PLT-50% (n=12), SOJA-50% (n=14) et ALB-50% (n=12). Chaque groupe reçoit la charge correspondant à son nom (**cf. Chapitre 1.2.3**). L'expérience se déroule en trois semaines : (i) semaine 1 (adaptation au régime P14 et au rythme alimentaire de 3 repas) ; (ii) semaine 2 (implantation du cathéter buccal et récupération) et (iii) semaine 3 (administration de la charge). La prise alimentaire est mesurée à chaque repas. Le poids corporel des rats est relevé quotidiennement.

Afin de pondérer l'effet de variations quotidiennes des prises alimentaires, la prise énergétique basale est la moyenne de l'énergie ingérée lors des deux derniers jours de la période d'adaptation (J_{-1} et J_0). En raison de la variabilité inter rat, la prise énergétique basale des différents groupes, lors des trois repas, est présentée sous forme de pourcentage par

¹ L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés, comptant 3 variants génétiques (ABC). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi

rapport à l'énergie ingérée totale [énergie ingérée lors du repas (n) x 100/ énergie ingérée totale]. L'effet de la charge, sur les repas suivants, est exprimé sous forme de rapports : (i) rapport d'énergie ingérée au dîner [(énergie ingérée au dîner, lors d'un jour de charge x 100)/ énergie ingérée au dîner lors de la période basale] ; (ii) rapport de l'énergie ingérée au dîner + charge [énergie ingérée (dîner + charge), lors d'un jour de charge x 100 / énergie ingérée (dîner) lors de la période basale] ; (iii) rapport de l'énergie ingérée au déjeuner [énergie ingérée (déjeuner), lors d'un jour de charge x 100 / énergie ingérée (déjeuner) lors de la période basale] ; (iv) rapport de l'énergie ingérée totale (charge + dîner + petit déjeuner + déjeuner) [énergie ingérée totale lors d'un jour de charge x 100 / énergie ingérée totale lors de la période basale] ; (v) prise énergétique moyenne des trois derniers jours la période de charge. Le premier jour étant exclu, en raison de l'absence de l'apprentissage conditionné à ce jour.

Les quantités basales d'énergie ingérées lors des trois repas (petit déjeuner, déjeuner et dîner) ne sont pas différentes de façon significative entre les groupes GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% et entre les groupes GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% (**Tableau 14**). Au dîner, les charges GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% induisent une dépression de l'énergie ingérée, durant chaque jour de la période de charge [F (4, 55) = 18.4, $p < 0.001$; F (4, 55) = 24.8, $p < 0.001$ et F (4, 55) = 47.5, $p < 0.001$; respectivement]. L'énergie ingérée au dîner des groupes recevant les charges protéiques n'est pas différente (**Figure 25**). En revanche, la charge GLT-0% entraîne une baisse de l'énergie ingérée au dîner, à J₃ et J₄, seulement [F (4, 55) = 3.6, $p < 0.05$]. Toutefois, le groupe GLT-0% est différent des groupes GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% lors de chaque jour de la période de charge [J₁ : F (3, 52) = 8.6, $p < 0.001$; J₂ : F (3, 52) = 16.3, $p < 0.001$; J₃ : F (3, 52) = 5.7, $p < 0.01$ et J₄ : F (3, 52) = 6.7, $p < 0.001$]. L'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée au dîner, montre un effet Groupe [F (3, 52) = 20.0, $p < 0.001$], un effet Temps [F (4, 52) = 154.2, $p < 0.001$] et un effet Temps x Groupe [F (12, 52) = 3.5, $p < 0.001$]. Tout comme la charge GLT-50%, les charges protéiques PLT-50% et ALB-50% induisent une diminution de l'énergie ingérée au dîner, durant chaque jour de la période de charge [F (4, 55) = 24.8, $p < 0.001$; F (4, 55) = 26.3, $p < 0.001$ et F (4, 55) = 18.8, $p < 0.001$; respectivement]. En revanche, la charge SOJA-50% diminue l'énergie ingérée au dîner à partir de J₂ de la période de charge, seulement [F (4, 65) = 10.7, $p < 0.001$]. De plus, l'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée au dîner montre un effet Groupe [F (3, 49) = 6.9, $p < 0.001$], Temps [F (3, 49) = 73.2, $p < 0.001$] et Temps x Groupe [F (3, 49) = 3.1, $p < 0.01$]. En effet, le groupe SOJA-50% est différent des trois

sphérique) à 123 acides aminés dont 8 cystéines, elle joue un rôle indispensable dans la synthèse du lactose (étant un des constituants de la lactose synthétase : dernière enzyme de la synthèse).

groupes à J₁ et des groupes GLT-50% et ALB-50% à J₂ de la période de charge [F (4, 56) = 8.6, $p < 0.001$ et F (4, 56) = 6.2, $p < 0.001$; respectivement] (**Figure 26**).

En terme de compensation (énergie de la charge + énergie ingérée lors du dîner), le groupe GLT-0% ajuste moins bien sa prise énergétique, et le groupe GLT-35% compense sa prise énergétique, durant chaque jour de la période de charge. Le groupe GLT-50% ajuste sa charge énergétique à partir de J₂, de la période de charge. En revanche, le groupe GLT-100% réduit l'énergie ingérée totale, durant les trois derniers jours de la charge [F (4, 55) = 4.4, $p < 0.01$] (**Figure 27**). L'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée totale pour les groupes GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100%, montre un effet Groupe [F (3, 52) = 11.5, $p < 0.001$] et un effet Temps x Groupe [F (4, 52) = 10.7, $p < 0.001$]. Lorsqu'on compare l'effet des charges protéiques GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% sur l'énergie ingérée totale, l'ANOVA à mesures répétées montre un effet Temps [F (3, 49) = 3.4; $p < 0.05$] et un effet Temps x Groupe [F (3, 49) = 2.7; $p < 0.01$], seulement. En effet, le groupe SOJA-50% est différent du groupe ALB-50% à J₁ [F (3, 49) = 3.9, $p < 0.05$] et des groupes GLT-50% et ALB-50% à J₂ [F (3, 49) = 5.2, $p < 0.01$] de la période de charge. Le groupe ALB-50% ne compense pas sa charge énergétique à J₁ et J₂ de la période de charge, respectivement (**Figure 28**).

Au déjeuner, les charges GLT-0%, GLT-35% et GLT-100% ne modifient pas l'énergie ingérée. Dans le groupe GLT-50%, l'énergie ingérée au déjeuner augmente au dernier jour de la période de charge J₄ seulement [F (4, 70) = 4.2, $p < 0.01$] (**Figure 29**). L'ANOVA à mesures répétées montre un effet temps x groupe seulement [F (4, 55) = 4.7, $p < 0.01$]. Comme le groupe GLT-50%, l'énergie ingérée au déjeuner augmente dans le groupe PLT-50%, suivant le dernier jour de charge (J₄) [F (4, 55) = 6.1, $p < 0.001$]. L'énergie ingérée au déjeuner n'est pas significativement différente dans les groupes SOJA-50% et ALB-50% (**Figure 30**). L'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée au déjeuner dans les groupes GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50%, montre un effet Temps [F (3, 49) = 8.3; $p < 0.001$] et un effet Temps x Groupe [F (3, 49) = 2.3, $p < 0.05$], seulement. En effet, il y a une différence entre le groupe GLT-50% et le groupe SOJA-50%, suivant le dernier jour de charge [F (3, 49) = 3.0, $p < 0.05$].

En 24h, la prise énergétique diminue dans le groupe GLT-100% (87.8 ± 4.0 %, $p < 0.05$). Toutefois, elle ne varie pas significativement dans les autres groupes (**Figure 31**). L'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée en 24h des groupes GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100%, montre un effet Groupe [F (3, 52) = 4.7; $p < 0.01$], un effet Temps [F (4, 55) = 2.8; $p < 0.05$] et un effet Temps x Groupe [F (4, 55) = 7.8; $p < 0.001$]. De plus, il y a une différence inter-groupe à J₁ [F (3, 52) = 3.2, $p < 0.05$], J₂ [F (3, 52) = 5.8, $p < 0.001$] et J₄ [F

(3, 52) = 5.1, $p < 0.01$]. En ce qui concerne les charges protéiques 50%, l'énergie ingérée moyenne en 24h n'est pas différente après la charge SOJA-50% (98.1 ± 4.0 %) et les charges GLT-50%, PLT-50% (95.2 ± 3.0 %), et ALB-50% (94.8 ± 2.2 %), malgré l'augmentation observée au dernier jour de la période de charge (**Figure 32**). L'ANOVA à mesures répétées de l'énergie ingérée en 24h montre un effet Temps, seulement [F (3, 49) = 8.0; $p < 0.001$].

En terme d'évolution corporelle, le gain de poids cumulé du groupe GLT-100% est inférieur à celui du groupe GLT-0% lors du dernier jour de la période de charge (J₄) [F (3, 52) = 4.2, $p < 0.05$] (**Tableau 15**). En ce qui concerne les charges protéiques 50%, l'ANOVA à mesures répétées des gains de poids cumulés, montre un effet Groupe [F (3, 49) = 3.9, $p < 0.05$], effet Temps [F (3, 49) = 206.5, $p < 0.001$], et un effet Temps x Groupe [F (3, 49) = 8.0, $p < 0.001$]. Le gain de poids cumulé est différent entre le groupe SOJA-50% et ALB-50% à J₁, et entre le groupe SOJA-50% et les groupes GLT-50% et ALB-50%, à J₄ de la période de charge [F (3, 49) = 3.4, $p < 0.05$] (**Tableau 15**).

Conclusion. *Notre expérience a montré qu'une charge protéique donnée par voie orale induit une satiété plus forte qu'une charge glucidique isovolumique et isocalorique chez le rat. Dans notre étude, le gluten induit une baisse de 14% de l'énergie ingérée au dîner même lorsque l'énergie (55kJ) de la charge est ajoutée. Cette diminution n'est pas compensée par l'augmentation de la prise énergétique lors du déjeuner suivant. Elle reste significative lorsque l'énergie ingérée totale (déjeuner + dîner) est prise en compte (-9%). Nos résultats ont aussi montré qu'un jour est nécessaire avant l'observation d'une réduction significative de l'énergie ingérée lors du dîner après une charge 100% de protéines. Ceci pourrait signifier que dès le second essai (jour 2 de la période de charge), les rats ont appris à associer les propriétés sensorielles de la charge avec ses conséquences post-ingestives. Nos résultats ont montré que la protéine totale de lait, le gluten, le soja et l' α -lactalbumine ont le même effet sur la prise énergétique. Les résultats observés avec quatre protéines, de composition différente ne semblent pas montrer de liens entre l'influence des charges protéiques sur la prise alimentaire et les caractéristiques spécifiques de chaque protéine.*

2.2.2. Expérience 2

Le but de cette expérience est d'analyser la séquence alimentaire (*taille* (kJ), *durée* du repas (min), ainsi que la *vitesse d'ingestion* (kJ/min), calculée par le rapport de la taille du repas sur sa durée) à la suite de quatre charges isoénergétiques et isovolumiques, contenant des quantités croissantes de protéines sous forme de gluten : 0%, 35%, 50% et 100%.

Des rats *Wistar* mâles (n=24) sont soumis au même protocole que celui décrit précédemment (cf. chapitre 2.2.1). L'analyse de la séquence alimentaire est effectuée seulement lors du repas test (dîner). Pour enregistrer la prise alimentaire, les rats sont répartis en 4 groupes (n=6x4) installés dans des cages cylindriques en plexiglas reliées au système d'enregistrement de la prise alimentaire (cf. Annexe 2 Techniques 1). On considère la bouffée alimentaire comme repas, lorsque l'intervalle inter-repas minimum (IMI_{mini}) qui la sépare de la bouffée alimentaire suivante est ≥ 10 min.

Selon le critère de l' IMI_{mini} (10 min), les prises alimentaires sont regroupées en 1 repas seulement, lors du dîner. Pendant la période basale, la taille du repas, la durée et la vitesse d'ingestion ne sont pas différentes entre les groupes. Il y a une différence de la durée moyenne du repas des trois jours de charge [F (3, 23) = 9.3, $p < 0.01$]. Par rapport à la période basale, les charges GLT-0% et GLT-100% ne modifient pas la moyenne de la durée du repas des trois jours de charge. En revanche, les charges GLT-35% et GLT-50% induisent une baisse de la moyenne de la durée de repas des trois jours de charge. La taille du repas diminue dans le groupe GLT-0%, à un moindre degré, par rapport aux autres groupes [F (3, 23) = 11.8, $p < 0.001$]. De même, la vitesse d'ingestion diminue dans tous les groupes. Toutefois, la baisse est plus importante dans le groupe GLT-100% [F (3, 23) = 3.0, $p < 0.05$] (Tableau 16).

Conclusion. *L'analyse de la séquence alimentaire a montré que la diminution de la taille du repas induite par les charges protéiques 35% et 50% semblait plus liée à un effet satiétogène qu'aversif. De plus, bien que les charges utilisées diminuent la vitesse d'ingestion, la charge GLT-100% possède l'effet le plus élevé. En effet, lorsqu'une charge protéique pure est donnée, la taille du repas diminue et la durée du repas augmente résultant en une diminution de la vitesse d'ingestion.*

2.2.3. Expérience 3

Le but de cette expérience est de mettre en évidence les corrélations entre le pouvoir satiétogène et les variations des paramètres biochimiques des rats recevant une charge glucidique (GLT-0%) et ceux recevant une charge protéique (GLT-35%). Des rats *Wistar* mâles (190-220g) (n=12) sont soumis au même protocole que celui décrit précédemment (cf. Chapitre 2.2.1). Au début de la deuxième semaine, un *cathéter buccal* et *cathéter sanguin* sont respectivement implantés dans la cavité buccale et dans la veine jugulaire du rat. Au début de la troisième semaine, les rats sont répartis en deux groupes (n=2x6) : GLT-0 % et GLT-35%. Chaque rat reçoit une charge isoénergétique (55 kJ) et isovolumique (10 ml), correspondant au nom de son groupe. Le sang est prélevé à l'aide d'une seringue reliée au cathéter implanté au niveau de la veine jugulaire. L'animal étant éveillé et libre de ses

mouvements. Le prélèvement du sang est effectué cinq minutes avant le début du repas test (dîner) et cinq minutes après la fin du dîner, pendant la période basale et la période de charge. Les paramètres sanguins suivants sont mesurés: glucose, urée, insuline, leptine et acides aminés. La prise énergétique et le poids corporel sont mesurés quotidiennement. L'effet de la charge sur la prise énergétique est présenté de jour en jour et sous forme de moyenne des trois derniers jours de charge ($J_2 - J_4$). Le 1^{er} jour de la charge n'est pas pris en compte dans la moyenne en raison de l'absence du phénomène d'apprentissage.

Pendant la période basale ($J_{-1} - J_0$), les quantités d'énergie ingérées lors des repas, ne sont pas différentes entre les deux groupes d'animaux (**Tableau 17**). Lors du dîner, les deux charges GLT-0% et GLT-35% entraînent une diminution de la prise énergétique moyenne (99.1 ± 7.0 kJ, $p < 0.05$ et 78.7 ± 9.7 kJ, $p < 0.01$; respectivement). L'effet des deux charges sur le dîner est différent entre les groupes GLT-0% et GLT-35% ($p < 0.05$). La prise énergétique moyenne totale (dîner + charge) est compensée après une charge GLT-35% mais n'est pas compensée après une charge GLT-0% (133.7 ± 9.7 kJ et 156.1 ± 8.4 kJ, respectivement) (**Figure 33**). Lors du déjeuner, la prise énergétique moyenne n'est pas modifiée de façon significative dans les deux groupes GLT-0% et GLT-35% (111.9 ± 4.7 kJ et 97.3 ± 3.4 kJ, respectivement) (**Figure 33**). Lors des 24h qui suivent la charge, la prise énergétique moyenne n'est pas différente dans le groupe GLT-35% par rapport à la période basale (275.6 ± 9.9 kJ). En revanche, elle augmente dans le groupe GLT-0% (310 ± 11 kJ, $p < 0.05$). Il y a une différence de la prise énergétique moyenne entre les deux groupes ($p < 0.05$) (**Figure 33**). En terme d'évolution de poids corporel, le gain de poids n'est pas différent entre les deux groupes GLT-35% et GLT-0% (**Figure 34**).

L'évolution des teneurs plasmatiques en glucose, urée, insuline, leptine, ammoniacque et acides aminés a été enregistrée avant et après le repas-test (**Figure 35**).

2.2.3.1. Glycémie

Pendant la période basale (J_0), la concentration du glucose n'est pas différente entre les deux groupes de rats, que ce soit avant [GLT-0% ($0.95 \pm 0,07$ g/l et GLT-35% ($0.96 \pm 0,05$ g/l)] ou après le dîner [GLT-0% ($1.12 \pm 0,01$ g/l) et GLT-35% ($1.13 \pm 0,04$ g/l)], respectivement. Par rapport au jour J_0 , les deux charges n'augmentent pas la glycémie moyenne avant le dîner. Après le dîner, dans le cas de la charge GLT-0%, la glycémie moyenne ($J_2 - J_4$) augmente significativement (1.29 ± 0.07 g/l, $p < 0.05$). En revanche, dans le cas de la charge GLT-35%, la glycémie moyenne n'est pas modifiée. Ceci se traduit par une différence significative de la glycémie moyenne entre les groupes GLT-0% et GLT-35%, après le dîner (1.29 ± 0.07 g/l *versus* 1.07 ± 0.05 g/l, respectivement).

2.2.3.2. Insulinémie

Pendant la période basale (J_0), la concentration de l'insuline n'est pas différente entre les deux groupes de rats, avant et après le dîner [GLT-0% ($58.6 \pm 5.2 \mu\text{U/ml}$ et $170.9 \pm 22.4 \mu\text{U/ml}$) et GLT-35% ($50.9 \pm 1,6 \mu\text{U/ml}$ et $178.9 \pm 21.3 \mu\text{U/ml}$)]. Par rapport au jour J_0 , les deux charges augmentent significativement, mais de la même façon, l'insulinémie moyenne, avant le dîner (GLT-0% : $120.1 \pm 10.2 \mu\text{U/ml}$ et GLT-35% : $122.6 \pm 21.0 \mu\text{U/ml}$, $p < 0.01$). Après le dîner, l'insulinémie moyenne diminue significativement dans le groupe GLT-35% seulement ($112.8 \pm 11.1 \mu\text{U/ml}$, $p < 0.01$). Cependant, il n'y a pas de différence significative de l'insulinémie moyenne entre les groupes GLT-0% et GLT-35% après le dîner.

2.2.3.3. Leptinémie

Pendant la période basale (J_0), la concentration de la leptine n'est pas différente entre les deux groupes de rats, avant et après le dîner [GLT-0% ($6.6 \pm 0.6 \text{ ng/ml}$ et $4.8 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$) et GLT-35% ($5.6 \pm 1,1 \text{ ng/ml}$ et $5.4 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$)]. Par rapport au jour J_0 , la charge GLT-35% augmente significativement la leptinémie moyenne, avant le dîner ($8.8 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$, $p < 0.05$). En revanche, la charge GLT-0% ne modifie pas, de façon significative, la leptinémie avant le dîner. Ceci se traduit par une leptinémie moyenne significativement différente entre les groupes GLT-0% et GLT-35%, avant le dîner (5.82 ± 0.6 *versus* 8.8 ± 0.9 , $p < 0.05$). Après le dîner, la leptinémie moyenne augmente significativement dans les deux groupes (GLT-0% : $8.9 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ et GLT-35% : $10.2 \pm 0.6 \text{ ng/ml}$, $p < 0.01$). Il n'y a pas de différence significative de la leptinémie moyenne entre les groupes GLT-0% et GLT-35%, après le dîner.

2.2.3.4. Urémie et ammoniémie

Pendant la période basale (J_0), la concentration de l'urée plasmatique n'est pas différente entre les deux groupes de rats, avant et après le dîner [GLT-0% ($12.3 \pm 1.5 \text{ mg/dl}$ et $16.5 \pm 0.7 \text{ mg/dl}$) et GLT-35% ($14.6 \pm 1.0 \text{ mg/dl}$ et $15.4 \pm 0.3 \text{ mg/dl}$)], respectivement. Par rapport au jour J_0 , les deux charges GLT-0% et GLT-35% n'entraînent pas de modifications significatives de l'urémie plasmatique avant le dîner. Après le dîner, la concentration de l'urée plasmatique moyenne diminue seulement dans le groupe GLT-0%, ($16.5 \pm 0.7 \text{ mg/dl}$ et $13.6 \pm 0.7 \text{ mg/dl}$, $p < 0.05$). Il n'y a pas de différence de l'urémie plasmatique entre les deux groupes, GLT-0% et GLT-35%, avant et après le dîner. En ce qui concerne l'ammoniémie, la concentration basale de l'ammoniaque plasmatique (J_0) n'est pas différente de façon significative entre les deux groupes de rats, avant et après le dîner [GLT-0% ($92.6 \pm 19.4 \mu\text{mol/l}$ et $118.4 \pm 31.5 \mu\text{mol/l}$) et GLT-35% ($95.1 \pm 21.2 \mu\text{mol/l}$ et $122.0 \pm 31.7 \mu\text{mol/l}$)], respectivement. De même, par rapport au jour J_0 , la concentration moyenne de l'ammoniaque

n'est pas modifié de façon significative, avant et après le dîner, dans les groupes GLT-0% et GLT-35%. Il n'y a pas de différences significatives entre les deux groupes.

2.2.3.5. Acides aminés totaux (AAT)

Pendant la période basale (J_0), la concentration des AAT plasmatiques (**Figure 36**), n'est pas différente entre les deux groupes de rats, que ce soit avant ou après le dîner [GLT-0% ($2166.0 \pm 240.2 \mu\text{mol/l}$) et $3095.8 \pm 258.1 \mu\text{mol/l}$) et GLT-35% ($2224.7 \pm 181.6 \mu\text{mol/l}$) et $2912.2 \pm 262.3 \mu\text{mol/l}$]. Pendant la charge, la variation opposée de la concentration moyenne des AAT dans les deux groupes n'est pas significative, avant le dîner. Ceci se traduit par une différence significative de la concentration moyenne des AAT, entre les groupes GLT-0% et GLT-35% ($p < 0.01$). Après le dîner, la concentration moyenne des AAT ne varie pas de façon significative dans les groupes GLT-0% et GLT-35% et entre les deux groupes. En ce qui concerne les *acides aminés essentiels* (AAE) totaux, pendant la période basale (J_0), la concentration moyenne des AAE totaux plasmatiques n'est pas différente entre les deux groupes de rats, avant le dîner [GLT-0% ($863.5 \pm 96.3 \mu\text{mol/l}$) et GLT-35% ($892.7 \pm 78.4 \mu\text{mol/l}$)]. Par contre, elle est différente après le dîner [GLT-0% ($1437.5 \pm 120.2 \mu\text{mol/l}$) et GLT-35% ($764.2 \pm 76.1 \mu\text{mol/l}$), $p < 0.01$], respectivement. Par rapport au jour J_0 , les charges GLT-0% et GLT-35% ne modifient pas la concentration moyenne des AAE totaux, avant le dîner. Après le dîner, il n'y a pas de variations significative dans les deux groupes. Toutefois, la différence de la concentration moyenne des AAE totaux après le dîner au niveau basal, est maintenu lors de la période de charge entre les deux groupes ($p < 0.01$). Concernant les *acides aminés non essentiels* (AANE) totaux, la concentration moyenne ne varie pas de façon significative après la charge GLT-0%, avant le dîner. En revanche, la charge GLT-35% augmente significativement la concentration moyenne des AANE totaux avant le dîner ($p < 0.05$). Après le dîner, il n'y a pas de différence significative dans les deux groupes. Toutefois, il y'a une différence significative entre les groupes avant et après le dîner ($p < 0.001$). En ce qui concerne les *acides aminés à chaîne latérale ramifiée* (AACLR) totaux, leur concentration moyenne diminue significativement dans le groupe GLT-0% ($p < 0.05$) et n'est pas affectée dans le groupe GLT-35%, avant le dîner. Ceci, se traduit par une différence significative entre les deux groupes ($p < 0.001$). Après le dîner, la concentration moyenne des AACLR totaux n'est pas différente dans les deux groupes. Enfin, en ce qui concerne les *acides aminés néoglucogéniques* (AANG) totaux, leur concentration moyenne ne varie pas de façon significative, avant le dîner dans les deux groupes. Ceci se traduit tout de même par une différence intergroupe, avant le dîner ($p < 0.01$). Après le dîner, la concentration moyenne des AANG totaux ne varie pas de façon significative dans les deux groupes.

2.2.3.6. Acides aminés essentiels (AAE)

La charge GLT-35%, augmente significativement la concentration plasmatique de l'isoleucine et la thréonine avant le dîner. Le reste des AAE ne varie pas de façon significative. En revanche, certains AAE sont plus sensibles à la charge GLT-0% avant le dîner. En effet, on observe une diminution significative pour les AAE : His, Met, Leu, et Ile et une augmentation significative pour la Thr. L'évolution de certains AAE dans le groupe GLT-0%, entraîne des différences significatives par rapport au groupe GLT-35%. C'est le cas des AAE : His, Met, Leu, Ile, Val, avant le dîner. Après le dîner, on observe pas de variations significatives des AAE dans les deux groupes GLT-0% et GLT-35%. Enfin, la différence de certains AAE entre les deux groupes, au niveau basal, se maintient pendant la période de charge. C'est le cas de la Thr, avant et après le dîner, et de la Phe avant le dîner (Figure 37).

2.2.3.7. Acides aminés non essentiels (AANE)

La charge GLT-0% diminue significativement la concentration moyenne de certains acides aminés avant le dîner, tels que la Tyr, l'Asn, l'Asp, le Glu, l'Orn, la Gln et l'Arg. A l'inverse, la charge GLT-35% augmente significativement la concentration moyenne de la Tyr, l'Arg, l'Asn, la Ser et la Pro. Après le dîner, le Glu diminue significativement après le dîner dans le groupe GLT-0%. Dans le groupe GLT-35, seule la Pro augmente significativement après le dîner. L'évolution de certains acides aminés est différente de façon significative entre les deux groupes GLT-0% et GLT-35%, avant le dîner. En effet, le Glu, la Gln, la Gly, la Ser, la Tyr et la Pro (avant et après le dîner) sont plus élevés dans le groupe GLT-35% par rapport au groupe GLT-0% (Tableau 18).

Conclusion. *Tout d'abord, nous avons bien observé une diminution de la prise alimentaire moyenne de l'ordre de 20% pendant le dîner, après une charge protéique versus une charge glucidique. Ceci confirme les résultats de notre étude durant laquelle nous avons étudié et comparé l'effet satiétogène des protéines et des glucides. Pour tous les paramètres biochimiques étudiés, il n'y a pas de différence inter-groupe dans les conditions basales que ce soit avant le repas-test ou après. L'ingestion de deux types de charges, l'une ne contenant que de l'amidon et l'autre contenant un mélange « amidon / protéines (65-35%) », n'influence pas tous les paramètres biochimiques de la même façon tout en se traduisant par une différence d'ingestion lors du dîner suivant. Certains paramètres biochimiques évoluent plus ou moins par rapport à la situation basale des jours sans charge mais dans la même direction (glycémie, insulinémie). L'évolution d'autres paramètres hormonaux ou biochimiques (leptinémie, aminoacidémie totale) est influencée par la nature de la charge. L'augmentation de la leptinémie plasmatique, avant le dîner,*

pourrait expliquer l'effet sur-satiétogène de la charge hyperprotéique GLT-35%. L'ingestion des deux types de charge influence différemment le niveau total d'acides aminés principalement à cause des acides aminés non essentiels dont la somme augmente significativement après une charge GLT-35%, avant le dîner. En effet, cette charge augmente significativement certains acides aminés non essentiels, tels que la Tyr, la Ser et la Pro par rapport à la charge GLT-0%. En ce qui concerne les acides aminés essentiels, après la charge GLT-35%, on a observé une augmentation des acides aminés à chaîne ramifiée ainsi que de l'His et la Met mais pas de la somme des AAE.

DISCUSSION GENERALE

Notre travail confirme que l'ingestion par le rat d'un régime hyperprotéique s'accompagne d'une dépression immédiate de la prise alimentaire puis d'un retour progressif, mais pas total, vers le niveau d'ingestion d'un régime normoprotéique. Cette dépression de la prise alimentaire ainsi que l'évitement de ce régime n'est pas du à l'installation d'une aversion gustative conditionnée mais à une palatabilité faible de la nourriture combiné au pouvoir satiétogène des protéines et au délai nécessaire à l'adaptation métabolique aux régimes hyperprotéiques.

1. Dépression de la prise alimentaire et moindre prise de poids induites par un régime hyperprotéique

Notre étude (cf. **Chapitre 2.1.1.1**) a confirmé que l'ingestion d'un régime hyperprotéique modifie la prise énergétique et la prise de poids à long terme chez le rat. En effet, l'ingestion d'un régime hyperprotéique réduit significativement la prise énergétique et le poids corporel, par rapport à un régime normoprotéique contenant la même protéine à 14% (P14).

La décroissance d'ingestion apparaît dès le premier jour et perdure, par la suite, en s'amointrissant. Pour deux des protéines utilisées (protéines totales du lait et soja), il y a augmentation de la quantité ingérée lors du deuxième jour d'ingestion du régime hyperprotéique en comparaison avec le niveau ingéré le premier jour. Dans le cas du gluten, cette augmentation est en partie masquée par le plus haut niveau d'ingestion à l'issue du premier jour et par le niveau plus faible le second jour. La prise énergétique lors du régime P50 reste inférieure par rapport au régime P14 même après adaptation. Nos résultats obtenus chez le rat confirment ceux mentionnés dans la littérature (Semon *et al.*, 1987a ; Harper & Peters, 1989 ; Jean *et al.*, 2001). Par ailleurs, il faut remarquer que la consommation des protéines de qualité différente, sous forme de PLT, de gluten ou de soja n'entraîne pas de différences majeures au niveau des paramètres étudiés. Ceci pourrait être lié au fait que la part non protéique de ces régimes (en majorité glucidique ~40%) pourrait couvrir un éventuel effet de la nature protéique.

1.1. Faible palatabilité des régimes hyperprotéiques

La dépression de la prise alimentaire apparaît dès les deux premières minutes, ce qui pourrait signifier des problèmes de néophobie et/ou d'une moindre palatabilité immédiate du nouveau régime hyperprotéique. La moindre palatabilité immédiate est vraisemblablement due aux propriétés organoleptiques des régimes hyperprotéiques. Ce programme n'avait pas pour objet de déterminer les propriétés organoleptiques mises en jeu. Néanmoins, les propriétés organoleptiques différaient en fonction de la protéine utilisée (protéine de lait totales, soja ou gluten) et pourtant il y a eu, dans tous les cas, une faible palatabilité initiale. A 30 minutes, par exemple, la moindre palatabilité paraît plus importante avec le gluten ou le soja qu'avec la protéine de lait. Ceci pourrait être le fruit de l'acceptabilité immédiate des protéines totales de lait ou bien une conséquence du protocole dans la mesure où le régime témoin utilisé par les 3 groupes était également fabriqué avec de la protéine totale de lait. Dans le cas du groupe PLT, seule la quantité de protéines utilisée variait alors que, pour les

deux autres groupes, le type de protéine variait, augmentant vraisemblablement la différence organoleptique entre le régime témoin et le régime expérimental hyperprotéique. La moindre palatabilité immédiate ne peut être le fruit, faute de temps, de conséquences métaboliques qui, par contre, viennent par la suite renforcer et mettre en place une moindre palatabilité conditionnée du régime hyperprotéique au moins lors de la période de transition. Il faut néanmoins remarquer que la palatabilité du régime hyperprotéique ne semble pas s'accroître le deuxième jour. Par contre, elle augmente après adaptation au régime hyperprotéique contenant de la protéine de lait totale, une fois que les mécanismes d'adaptation métabolique sont en place.

Les résultats de notre expérience de choix (cf. Chapitre 2.1.2.1) indiquent que les rats du groupe Témoin expriment une préférence nette pour le régime P14, par rapport au régime P50, dès la première heure et ceci se confirme tout au long du premier jour de choix alors que les rats n'avaient expérimenté aucun des deux régimes proposés. *Ceci indique que la palatabilité relative du régime normoprotéique est supérieure à celle du régime hyperprotéique.* Néanmoins, les rats testent et ingèrent le régime hyperprotéique (entre 25 et 30%). L'analyse du **profil de réactivité gustative** (cf. Chapitre 2.1.3.1) montre que l'ingestion pour la première fois du repas hyperprotéique (P50, J₁) s'accompagne d'une augmentation relative des expressions aversives sans modification du nombre d'expressions hédoniques. L'ingestion d'un régime hyperprotéique ne peut donc être complètement comparée à ce qui se passe lors de l'ingestion d'une solution de quinine ou lors d'un empoisonnement au chlorure de lithium qui induisent une augmentation des expressions aversives mais également une réduction des expressions hédoniques (Berridge & Grill, 1983 ; Berridge & Grill, 1984).

1.2. Régime hyperprotéique et absence d'aversion gustative conditionnée, présence de satiété

Les résultats de nos différentes expériences (analyse du rythme de prise alimentaire, expériences de choix et séquence comportementale de satiété) montrent que la décroissance d'ingestion d'un régime hyperprotéique semble être plus la conséquence d'une satiété accrue que d'une aversion gustative conditionnée, au moins après adaptation à un régime hyperprotéique contenant de la protéine totale de lait.

Lors de l'analyse globale des paramètres du repas, la lecture des résultats, durant de la phase de transition, est brouillée (cf. Chapitre 2.1.1). Bien qu'il y ait une baisse progressive du nombre de repas dans deux cas sur trois, PLT et Soja, et un retour plus ou moins net à la stabilité de la taille du repas, la vitesse d'ingestion reste faible. Par contre après

adaptation, la moindre ingestion du régime hyperprotéique par rapport à celle d'un régime normoprotéique, se traduit par une modification significative du nombre de repas seulement. Les autres paramètres de la séquence alimentaire ne sont pas modifiés (IMI, durée et taille du repas et vitesse d'ingestion). De tels résultats indiquent plutôt un phénomène de satiété que d'aversion et ceci d'autant plus que, lors d'une aversion gustative conditionnée, on ne voit pas d'adaptation mais un rejet définitif de la nourriture. **L'analyse par quart de cycle des paramètres du repas**, lors de la phase de transition, confirme et affine les conclusions issues de l'analyse globale du rythme de prise alimentaire. Elle indique une chronologie dans l'évolution des paramètres. Quel que soit le régime hyperprotéique utilisé dans notre expérience, la vitesse d'ingestion diminue dès le premier quart de cycle lors du premier jour de régime hyperprotéique. Cette diminution de la vitesse d'ingestion persiste durant les quarts de cycle suivants. Dans le cas des régimes PLT et soja, seul ce paramètre évolue significativement lors du premier quart de cycle. Puis, la diminution de la vitesse d'ingestion s'accompagne d'une baisse de la taille du repas à partir du deuxième quart de cycle. Dans le cas du gluten, la taille du repas diminue lors du premier quart de cycle. Lors du deuxième jour de régime hyperprotéique, la situation est plus nuancée selon la protéine utilisée. Dans le cas du gluten, la situation reste pratiquement identique. A l'opposé, dans le cas du PLT, pendant plusieurs quarts de cycle, il n'y a plus diminution significative de la taille ou de la vitesse d'ingestion ou des deux. Dans le cas du soja, la situation est intermédiaire seule la vitesse d'ingestion reste diminuée quel que soit le quart de cycle. En ce qui concerne le nombre de repas, la situation est pratiquement inverse de celle de la vitesse d'ingestion. Dans le cas du gluten, il n'y a pas de diminution du nombre de repas. Dans le cas du soja, la baisse du nombre de repas apparaît dès le premier quart de cycle puis persiste les quarts de cycle suivants. La situation est de même nature le deuxième jour. Dans le cas du PLT, la baisse du nombre de repas est moins marquée : elle n'apparaît que durant le troisième quart de cycle. De même, le deuxième jour, elle n'est significative que durant le premier quart de cycle.

Les résultats de nos expériences de choix montrent que l'ingestion d'un régime hyperprotéique ne s'accompagne pas d'un évitement systématique de ce nouveau régime quand les animaux en ont la possibilité. Ceci contredit donc aussi l'hypothèse d'installation d'une aversion gustative conditionnée.

Comme les rats témoins, les rats des groupes P14 ont une préférence immédiate pour le P14 qui reste très significative à 8h. Vraisemblablement, la néophobie d'une part, et la palatabilité supérieure du régime P14 d'autre part, s'ajoutent au fait que les animaux ont déjà expérimenté ce régime. A l'opposé de notre hypothèse de départ, les rats des groupes ayant testé au préalable le régime hyperprotéique, n'évitent pas ce régime lors du choix. Le fait

qu'ils ne soient plus naïfs quant aux conséquences post-ingestives du régime hyperprotéique, ne se traduit pas par un évitement de ce régime. Bien au contraire, ce sont les seuls groupes qui en ingèrent lors de la première heure et finalement au bout de la journée malgré une palatabilité plus faible.

Ces résultats ne sont pas en accord avec certaines données dans la littérature. En effet, selon Semon *et al.* (1987a), l'aversion induite à court terme par un régime hyperprotéique est due dans un premier temps à des effets oro-sensoriels immédiats (goût, caractéristiques physiques) relayés par l'installation d'une aversion conditionnée alimentaire associée à des mécanismes post-ingestifs. Dans un tel cas, des animaux ayant expérimenté ce régime ou une nouvelle saveur associée à ce régime, devraient l'éviter au profit d'un nouveau régime ou d'une nouvelle saveur s'ils en ont la possibilité.

Ce résultat est confirmé par l'expérience de choix des saveurs. Cette expérience (cf. Chapitre 2.1.2.3) utilise un paradigme d'apprentissage qui relie la découverte d'une nouvelle saveur avec les conséquences post-ingestives induites par l'ingestion d'un nouvel aliment. L'hypothèse est que si une aversion gustative s'est installée, les animaux, s'ils en ont la possibilité, éviteraient la saveur associée au régime délétère. Ils exprimeraient, alors, une préférence significative pour une nouvelle saveur (néophilie induite) (Booth & Simson, 1971 ; Le Magnen, 1992).

Les résultats de cette expérience montrent que l'ingestion d'un nouveau régime hyperprotéique, contenant la protéine totale de lait, le gluten ou la protéine de soja, n'induit pas de rejet de la saveur associée à ce régime au profit d'une quelconque nouvelle saveur. Ces résultats n'indiquent donc pas, à priori, l'installation d'une aversion conditionnée gustative. En effet, l'ingestion du régime hyperprotéique n'a pas provoqué une augmentation significative de la quantité de la nouvelle eau bue. De plus, la préférence pour la nouvelle saveur n'est pas différente dans les groupes ; que la saveur soit associée avec le régime hyperprotéique ou le régime témoin normoprotéique. Dans le cadre de notre expérience, les deux groupes expriment donc la même néophilie pour la nouvelle saveur.

Utilisant un protocole de même nature, Naito-Hoopers *et al.* (1993) avaient montré que des rats, ingérant pour la première fois un régime dépourvu d'isoleucine, évitaient, par la suite, la saveur associée à ce régime au profit d'une nouvelle saveur. Dans ce cas d'aversion gustative bien connue, la préférence pour la nouvelle saveur était proche de 88%.

Dans cette expérience, l'utilisation de deux arômes permet d'éviter que les résultats soient dictés par un choix intempestif en faveur d'une saveur donnée. Leung, Larson & Rogers (1972) n'ont pas montré de préférence entre deux mangeoires identiques (P6 caséine)

contenant ou non de la vanille ou de l'amande. De même, Tews, Repa & Harper (1992) sont arrivés à un résultat identique utilisant un régime à 15 % de caséine aromatisé ou non à la vanille.

Concernant les groupes témoins et les groupes normoprotéiques, les résultats ne montrent pas de préférence pour le régime normoprotéique comme lors des expériences de choix précédentes. Ce résultat est difficile à expliquer mais indique peut-être une moindre grande sensibilité de cette deuxième expérience de choix.

L'analyse de la séquence comportementale de satiété (cf. Chapitre 2.1.3) ne montre plus, dès le deuxième jour d'ingestion du régime hyperprotéique, de différences avec celle induite par un régime normoprotéique. Cependant, lors du premier jour d'ingestion du régime hyperprotéique, les rats découvrent pour la première fois ce nouveau régime. La séquence comportementale de satiété, composée de la phase prandiale, du toilettage et/ou de l'activité puis du repos, est alors modifiée en comparaison de celle observée lors du dernier jour de régime normoprotéique. Il y a augmentation de la durée totale des bouffées alimentaires, diminution de la phase de repos sans modification significative du toilettage et de l'activité. Plus qu'une désorganisation de la séquence comportementale de satiété, on observe une modification avec respect de la séquence. Ceci indique néanmoins, que la terminaison du premier repas hyperprotéique n'est pas due à un développement normal de la satiété. Les caractéristiques des bouffées alimentaires sont modifiées : on constate une augmentation de leur nombre, accompagnée d'une diminution de la vitesse d'ingestion, sans modification de la durée. Ceci se traduit par une moindre ingestion. Nos résultats précédents avaient déjà montré une diminution significative de l'ingestion du régime hyperprotéique dès les premières minutes.

Le profil de la séquence comportementale de satiété obtenue dans le cas du premier jour de régime hyperprotéique semble différent de celui induit par un empoisonnement au chlorure de lithium. Dans ce dernier cas, Blundell, Rogers & Hill (1985) ont observé un pic de toilettage pris entre deux pics de repos après le repas. Halford, Wanninayake & Blundell (1998) ont indiqué que l'induction d'une nausée avec le Chlorure de Lithium entraîne la réduction de tous les comportements et de la fréquence des bouffées alimentaires. Ce profil est aussi différent de celui obtenu quand des rats expriment une aversion conditionnée suite à l'ingestion d'un régime dépourvu de thréonine.

Par opposition, dès le second jour d'ingestion du régime hyperprotéique, on observe un retour à la normale en ce qui concerne la séquence comportementale de satiété. En fait, il est possible que ce retour à la normale s'effectue au cours du premier jour d'ingestion du

régime hyperprotéique. Cependant, notre protocole d'enregistrement (début du cycle nuit) ne nous permet pas de répondre à cette question. Si la normalité de la séquence comportementale de satiété est rétablie, la vitesse d'ingestion reste encore inférieure à celle du jour témoin. Après l'adaptation, il n'y a plus aucune différence significative pour aucun des paramètres alors que c'est le contraire lorsqu'une aversion gustative conditionnée est installée.

1.3. Un régime hyperprotéique ne se traduit pas par un « sur-rassasiement »

La décroissance d'ingestion ne serait pas la conséquence d'un rassasiement accru puisque l'analyse des paramètres du repas n'indique, ni pendant la transition ni après adaptation, une diminution de la durée des repas. De même, l'absence de différences entre la séquence comportementale de satiété du jour témoin et celles enregistrées après adaptation au régime hyperprotéique ne fait pas penser à un sur-rassasiement induit par un régime hyperprotéique. En effet, on ne repère aucun déplacement des 4 phases de la séquence comportementale de la satiété (bouffées alimentaires, toilettes, activité et repos) et notamment pas d'apparition plus précoce de la phase de repos.

2. Effet satiétogène des protéines

2.1. Caractérisation du pouvoir satiétogène des protéines

Un repas protéique est plus satiétogène qu'un repas glucidique. Notre expérience (**cf. Chapitre 2.2.1**) a montré qu'une charge protéique donnée par voie orale induit une satiété plus forte qu'une charge glucidique isovolumique et isocalorique chez le rat. Dans nos conditions expérimentales, l'utilisation d'un cathéter buccal assure que les rats ont reçu oralement une charge définie. Ainsi, les rats ont reçu une charge isovolumique et isocalorique à la même heure, une heure avant le dîner, et durant 10 minutes. Il a été montré qu'une charge isovolumique d'eau n'a pas d'effet sur la prise alimentaire (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984 ; Anderson *et al.*, 1994 a, b et c). De plus, lorsque le kaolin est utilisé comme charge, le poids de cette dernière n'apparaît pas être un facteur commun expliquant l'effet satiétogène induit par les différents macronutriments utilisés dans les charges (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984).

Nos résultats sont en accord avec le fait que les protéines alimentaires entraînent une plus forte sensation de satiété que les glucides. Il est établi qu'une charge protéique induit une dépression plus forte de la prise alimentaire qu'une charge d'amidon de maïs (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984 ; Anderson *et al.*, 1994 a, b et c ; Trigazis, Orttmann & Anderson, 1997). Par exemple, il a été montré qu'une charge contenant 1,5g d'albumine d'oeuf induit une dépression de la prise alimentaire jusque 14h suivant la charge (Trigazis, Orttmann & Anderson, 1997) et que, après trois jours d'administration répétée, une charge protéique (albumine) a l'effet dépressif le plus fort sur la période 3-5h (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984). Dans notre étude, le gluten induit une baisse de 14% de l'énergie ingérée au dîner même lorsque l'énergie (55kJ) de la charge est ajoutée. Cette diminution n'est pas compensée par l'augmentation de la prise énergétique lors du déjeuner suivant. Elle reste significative lorsque l'énergie ingérée totale (déjeuner + dîner) est prise en compte (-9%).

Contrairement aux protéines, il y a une diminution non significative de l'énergie ingérée pendant le dîner (charge incluse) après la charge d'amidon de blé. Quant à l'effet satiétogène des glucides, malgré quelques différences méthodologiques, ces résultats confirment ceux obtenus par d'autres auteurs (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984 ; Trigazis, Orttmann & Anderson, 1997 ; Booth, 1972).

Dans chacune de ces études antérieures, la charge est donnée par gavage, ce qui élimine le rôle des facteurs orosensoriels dans la réponse du comportement ingestif. Il est clair

que la réponse physiologique peut changer si les facteurs orosensoriels sont également pris en compte. Cependant, ceci ne semble pas être le cas, si l'on considère les similitudes entre nos résultats et ceux des études antérieures. Nos résultats ont aussi montré qu'un jour est nécessaire avant l'observation d'une réduction significative de l'énergie ingérée lors du dîner après une charge 100% de protéines. Ceci pourrait signifier que dès le second essai (jour 2 de la période de charge), les rats ont appris à associer les propriétés sensorielles de la charge avec ses conséquences post-ingestives.

Lorsque la charge contient l'amidon de blé seulement, la taille du repas diminue aussi significativement après le jour 3 de la période de charge. Bien que chaque macronutriment puisse induire un apprentissage conditionné, ce présent résultat suggère une spécificité pour un macronutriment donné (Sclafani, 1997). Lorsque la charge contient 50% de protéines seulement, la période d'adaptation a été de 2 ou 3 jours (en fonction du type de protéines utilisées dans les essais). Il a été noté qu'après une période d'adaptation de plusieurs jours (3 jours environ), la prise alimentaire totale (24h) est la même indifféremment de la charge (Geliebter, Liang & Van Itallie, 1984). L'homme a besoin d'un délai de 5 jours pour associer les conséquences post-ingestives de la charge et la réponse comportementale (Louis-Sylvestre *et al.*, 1989). Bien que nous ayons utilisé le cathéter buccal, dans nos expériences, pour que les conséquences orosensorielles puissent être prises en compte par les rats pour associer les caractéristiques de la charge avec leurs conséquences post-ingestives, nous ne pouvons pas affirmer que cela ait eu un rôle spécifique dans l'apprentissage.

Le type de protéines ne semble pas influencer l'effet satiétogène de la charge protéique. Nos résultats (cf. Chapitre 2.2.2) ont montré que la protéine totale de lait, le gluten, le soja et l' α -lactalbumine ont le même effet sur la prise énergétique. Le gluten de blé a été décrit comme étant une protéine de qualité moindre par rapport à la protéine totale de lait (Pol & Den Hartog, 1966) et cette mauvaise qualité pourrait influencer la prise alimentaire des rats. Dans la littérature, plusieurs protéines ont été utilisées dans des expériences similaires et il n'est toujours pas clair si la nature des protéines a un effet quelconque sur la prise alimentaire. Les résultats observés avec quatre protéines, de composition différente, ainsi que les résultats rapportés par la littérature ne semblent pas montrer de liens entre l'influence des charges protéiques sur la prise alimentaire et les caractéristiques spécifiques de chaque protéine. L'utilisation des protéines sous forme peu hydrolysée, dans cette expérience, est le seul moyen technique de pouvoir administrer facilement les charges par le cathéter buccal au moins jusqu'à la proportion de 50%. Toutefois, la modification de la forme protéique a probablement un effet négligeable sur la prise alimentaire. En effet, il a été montré qu'une charge d'albumine ou son équivalent sous forme d'acides aminés entraînent une dépression de

la prise alimentaire identique (Anderson, 1994 a, b et c). De même, il n'a pas été montré une différence de la prise alimentaire après une charge protéique de 35%, donnée sous forme de caséine entière ou hydrolysée (Burton-Freeman, Gietzen & Schneeman, 1997).

L'analyse de la séquence alimentaire a montré que la diminution de la taille du repas induite par les charges protéiques 35% et 50% semblait plus liée à un effet satiétogène qu'aversif. Cette baisse est due à une diminution de la durée du repas sans modification de la vitesse d'ingestion au moins en comparaison avec les paramètres induits par la charge glucidique. On peut noter une diminution systématique de la vitesse d'ingestion pendant le repas test, quelle que soit la charge protéique et même dans une moindre mesure la charge glucidique. Il a été montré que l'effet principal associé au pré-rassasiement induit par une charge est une réduction de la prise alimentaire lors du repas test étroitement lié à la réduction de la durée de repas (Cooper & Francis, 1993). Comme dans le cas de notre expérience, Cooper avait noté une légère baisse de la vitesse d'ingestion comme paramètre de pré-rassasiement. De plus, dans nos expériences, bien que les charges utilisées diminuent la vitesse d'ingestion, la charge GLT-100% possède l'effet le plus élevé. Lorsqu'une charge protéique pure est donnée, la taille du repas diminue et la durée du repas augmente résultant en une diminution de la vitesse d'ingestion. Ainsi, la dépression de la prise alimentaire après une charge protéique 100% pourrait être renforcée par d'autres facteurs tels que la dépression de vitesse d'évacuation gastrique.

2.2. Corrélations entre le pouvoir satiétogène de charges hyperprotéiques et les variations des paramètres biochimiques

Le but de cette étude ([cf. Chapitre 2.2.3](#)) était d'établir une corrélation entre les variations plasmatiques de paramètres biochimiques tels que la glycémie, certaines hormones ou certains acides aminés, et les changements du comportement alimentaire suite à l'ingestion de la charge riche en protéines (gluten 35% additionné à 65% d'amidon) ou de la charge glucidique (amidon 100%). Si la différence de statut biochimique précède le comportement alimentaire, on peut imaginer que ce (ou ces) paramètre(s) biochimique(s) puisse(nt) être à la base du message que le cerveau traite pour initier le comportement alimentaire induit par le régime hyperprotéique.

Prise énergétique. Tout d'abord, nous avons bien observé une diminution de la prise alimentaire moyenne de l'ordre de 20% pendant le dîner, après une charge protéique *versus* une charge glucidique. Ceci confirme les résultats de notre étude durant laquelle nous avons étudié et comparé l'effet satiétogène des protéines et des glucides ([cf. Chapitre 2.2.1](#)). En effet, nous avons montré que les charges protéiques contenant du gluten (35, 50 et 100%)

réduisent plus la prise alimentaire qu'une charge glucidique, isoénergétique, contenant de l'amidon de blé (100%).

Comparaison des paramètres biochimiques en condition basale (sans charge).

Pour tous les paramètres biochimiques étudiés, il n'y a pas de différence inter-groupe dans les conditions basales que ce soit avant le repas ou après.

Par ailleurs, la prise alimentaire lors du dîner se traduit bien par des modifications attendues des paramètres tels que la glycémie, l'insulinémie ou l'aminoacidémie. Il y a augmentation de la glycémie de l'ordre de 18% et de l'insulinémie (~3 fois la période basale), dans les deux groupes de rats sans modification de la leptinémie. Le repas s'accompagne d'une augmentation non significative de l'urémie plasmatique et d'une augmentation significative de l'aminoacidémie totale et notamment des acides aminés à chaînes ramifiés.

Conséquences de l'ingestion de charges. L'ingestion de deux types de charges, l'une ne contenant que de l'amidon et l'autre contenant un mélange « amidon / protéines (65-35%) », n'influence pas tous les paramètres biochimiques de la même façon tout en se traduisant par une différence d'ingestion lors du dîner suivant. Certains paramètres biochimiques évoluent plus ou moins par rapport à la situation basale des jours sans charge mais dans la même direction (glycémie, insulinémie). L'évolution d'autres paramètres hormonaux ou biochimiques (leptinémie, aminoacidémie totale) est influencée par la nature de la charge.

Il ne faut pas exclure à priori une corrélation fortuite entre le type de charge, l'évolution différente du paramètre biochimique et les conséquences sur l'ingestion du repas suivant. Néanmoins, seule cette dernière catégorie de paramètres contient des candidats potentiels pouvant participer à l'explication de l'influence de la charge sur la prise alimentaire lors du repas suivant.

Glycémie et insulinémie après une charge et avant le repas. En ce qui concerne la glycémie et l'insulinémie, nos résultats montrent que les deux charges induisent le même effet avant le dîner tout au moins dans nos conditions de mesure, soit un point environ 40 minutes après la charge. La glycémie n'augmente pas de façon significative après les deux charges. En revanche, les deux charges stimulent de la même façon la sécrétion insulinaire avant le dîner. Ce résultat est conforme à la littérature selon laquelle l'ingestion de protéines ou d'un mélange d'AA avec des glucides augmente la glycémie et accroît l'effet stimulateur de ces derniers sur la sécrétion d'insuline (Krezowski *et al.*, 1986 ; Van Loon *et al.*, 2000). L'ingestion d'une dose élevée de protéines (50g), chez le volontaire sain, ne semble pas avoir d'effet sur la glycémie

mais, par contre, stimule la sécrétion d'insuline chez les sujets ingérant aussi du glucose (Westphal, Gannon & Nuttall, 1990 ; Nuttall & Gannon, 1991).

Leptinémie. Nos résultats montrent que les deux charges n'induisent pas le même effet sur la leptinémie avant le dîner. L'augmentation de la leptinémie plasmatique, avant le dîner, pourrait expliquer l'effet sur-satiétogène de la charge hyperprotéique GLT-35%. En effet, selon Larue-Achagiotis *et al.* (2000), l'injection de la leptine par voie intrapéritonéale, chez le rat, conduit à une diminution de la prise calorique globale. De même, Azain *et al.* (1999) ont montré qu'une injection intra-cérébro ventriculaire de leptine diminuait la prise alimentaire. Schwartz *et al.* (2000) ont proposé un mécanisme par lequel la leptine périphérique puis centrale, en association ou non avec l'insuline, pourrait agir sur la régulation de la prise alimentaire. De plus, Feurté *et al.* (2000) ont montré que la dépression de prise alimentaire, induite chez le rat par l'ingestion d'un régime dépourvu de thréonine, était précédée par un accroissement de la leptinémie plasmatique. Une question se pose quant au mécanisme expliquant cette différence de niveaux en fonction de la nature de la charge et notamment de sa composition en acides aminés.

Acides aminés. La teneur en acides aminés plasmatiques et cérébraux a depuis longtemps été considérée comme l'un des signaux susceptibles d'être à l'origine de la dépression alimentaire : l'hypothèse aminostatique (Melinkoff *et al.*, 1956) a largement été reprise depuis (Harper, Benevenga & Wohlhueter, 1970 ; Glaeser, Maher & Wurtman, 1983 ; Semon *et al.*, 1988). Schulman *et al.* (1982) ont montré que les variations des teneurs plasmatiques des acides aminés chez l'homme était équivalente à celle du glucose (environ 22%).

L'ingestion des deux types de charge influence différemment le niveau total d'acides aminés principalement à cause des acides aminés non essentiels dont la somme augmente significativement après une charge GLT-35%, avant le dîner. En effet, cette charge augmente significativement certains acides aminés non essentiels, tels que la Tyr, la Ser et la Pro par rapport à la charge GLT-0%. En ce qui concerne les acides aminés essentiels, après la charge GLT-35%, on a observé une augmentation des acides aminés à chaîne ramifiée ainsi que de l'His et la Met.

Globalement, l'augmentation des AANE, 1h après une charge de GLT-35% et avant le dîner est en accord avec les résultats d'Anderson *et al.* (1994) et ceux de Peters et Harper (1987). En effet, l'administration par gavage (Anderson *et al.*, 1994 a, b, c) de l'équivalent de 1.5 g d'albumine sous forme d'acides aminés libres augmente la teneur d'AANE plasmatiques à 60 minutes après le gavage. Toutefois, l'absence d'augmentation des AAE totaux est en

désaccord avec les résultats de Peters et Harper (1987). Ceci, pourrait être dû à la faible quantité de protéine (gluten) contenu dans la charge ~1.2g (additionné à 65% de glucides). En effet, dans l'étude de Peters et Harper les animaux ont ingéré 4g de caséine. Cependant, l'augmentation des acides aminés non essentiels (Tyr, Arg, Ser et Pro) est conforme avec les résultats d'Anderson *et al.* (1994 a, b, c) et de Peters et Harper (1987).

Rôle particulier de certains AA. Dans le prolongement de l'hypothèse aminostatique, plusieurs acides aminés spécifiques, notamment les précurseurs des neuromédiateurs, ont été soupçonnés comme susceptibles de jouer un rôle initiateur dans les mécanismes de dépression de la prise alimentaire.

Méthionine. Harper, Benevenga & Wohlhueter (1970) ont rappelé que, parmi tous les acides aminés, la méthionine était l'AA dont l'ingestion était le plus étroitement contrôlé. Dans notre expérience, les deux charges se traduisent par une différence dans la concentration plasmatique de méthionine. La charge GLT-35% se traduit par un niveau plasmatique plus important que celui induit par la charge d'amidon. Cependant le niveau après la charge protéique est inférieur à ceux atteints à la fin du repas normoprotéique (environ 25 $\mu\text{mol/l}$) qui induiraient une ingestion plus importante du repas normoprotéique (condition basale).

Histidine. Cet acide aminé est le précurseur de l'histamine. Une forte charge d'histidine induit une dépression de la prise alimentaire (Mercer *et al.*, 1990) du fait d'une augmentation de l'histamine dans le cerveau et notamment dans l'hypothalamus qui possède des récepteurs histaminergiques dont l'activation augmente la prise alimentaire. Néanmoins, selon Anderson *et al.* (1987), il faut 7 fois la dose apportée par un repas contenant 20 % de caséine. Dans notre expérience, les deux charges se traduisent par une différence dans la concentration plasmatique d'histidine. Ceci est en accord avec les résultats de Peters et Harper (1987). Bien que cette piste soit à garder en mémoire, l'augmentation plasmatique d'histidine induite par la charge GLT-35%, ne dépasse pas le niveau basal (environ 40 $\mu\text{mol/l}$). Elle ne nous semble donc pas suffisamment importante pour déclencher une action anorexigénique.

Tyrosine. Cet acide aminé est le précurseur des cathécolamines (adrélanine, noradrélanine et dopamine). Selon Anderson, Li & Glanville (1984), l'ingestion d'un repas glucidique ou protéique augmente la teneur cérébrale en tyrosine, le repas protéique ayant le plus d'effet (Fernstrom & Faller, 1978). Par ailleurs, l'injection de tyrosine favorise la synthèse principalement de noradrélanine. Il suffit d'injecter une dose correspondante à celle apportée par un repas de 1.5 à 2g contenant 20% de caséine. Néanmoins, Ng et Anderson (1992) ont montré que des charges de tyrosine données par voie intragastrique n'affectaient pas la prise alimentaire. De plus, ce travail ne montre pas de relations entre la dose de tyrosine

absorbée, la teneur plasmatique ou cérébrale en tyrosine et la dépression alimentaire. Dans notre expérience, les deux charges se traduisent par une différence dans la concentration plasmatique de tyrosine. La charge GLT-35% se traduit par un niveau plasmatique double de celui induit par la charge d'amidon. Cependant le niveau après la charge protéique n'est pas différent de ceux atteints à la fin du repas normoprotéique (environ 80 à 100 $\mu\text{mol/l}$).

Tryptophane. Cet acide aminé est le précurseur de la sérotonine. De nombreuses études ont essayé de corréliser la régulation de l'ingestion de régimes protéiques ou glucidiques (Anderson, 1979) ou même le choix entre ces deux macronutriments (Li & Anderson, 1982) à la teneur en protéines et/ou en tryptophane du régime. Fernstrom et Wurtmann (1971 ; 1972) ont montré une étroite corrélation entre la teneur cérébrale en sérotonine et en tryptophane et le rapport de la concentration du tryptophane plasmatique sur la somme des acides aminés branchés. Anderson et Ashley (1977) ont montré que l'augmentation de la teneur en protéines du régime se traduisait par une diminution du rapport précité. Les auteurs en avaient déduit l'hypothèse que ceci se traduisait par une moindre teneur cérébrale en tryptophane et en sérotonine puis par un choix en faveur d'un régime glucidique et donc pauvre en protéines. Ils avaient aussi émis l'hypothèse réciproque. Malheureusement, la relation entre la teneur en sérotonine cérébrale et la teneur en protéine du régime n'a pas été confirmée, hormis dans le cas du régime sans protéine qui s'accompagne d'une teneur en sérotonine élevée (Romsos, Chee & Bergen, 1982 ; Leathwood, 1987 ; Harper & Peters, 1989). Il aurait été néanmoins intéressant de mesurer, la teneur plasmatique en tryptophane dans notre étude.

Les acides aminés à chaîne ramifiée. Il est connu que les acides aminés branchés plasmatiques et cérébraux augmentent après une ingestion aiguë ou chronique d'un régime protéique (Peters & Harper, 1985 ; 1987 ; Harper & Peters, 1989 ; Morens *et al.*, 2000 ; 2001). La charge GLT-35% se traduit par un niveau plasmatique double (environ 100 $\mu\text{mol/l}$) de celui induit par la charge d'amidon. Cependant le niveau après la charge protéique n'est pas différent des valeurs basales. Dans une étude publiée en 1990, Anderson, Tews et Harper ont cherché sans succès à montrer que les changements plasmatiques et cérébraux de la concentration en acides aminés à chaîne ramifiée pouvaient moduler l'ingestion des protéines.

Ammoniémie et urée. L'hypothèse d'autres signaux périphériques, qui pourraient être secondaires au signal aminostatique ou alors agissant en parallèle à celui-ci, n'est pas à exclure. Parmi ces hypothèses, l'ingestion du repas riche en protéines pourrait, par une perturbation du métabolisme protéique post-prandial, résulter en une augmentation transitoire de l'ammoniémie plasmatique. Des métabolites des AA, l'ammoniaque est connue pour ses effets neurotoxiques lors d'augmentation de sa teneur plasmatique (revue dans Meijer,

Lamers & Chalumeau, 1990). Une augmentation transitoire de l'ammoniémie plasmatique à la suite du repas GLT-35%, pourrait induire une réduction importante de la prise alimentaire.

Néanmoins, en ce qui concerne l'urémie et l'ammoniémie plasmatique, nos résultats montrent que les deux charges induisent des effets de même nature avant le dîner. L'hypothèse (Semon *et al.*, 1987b) selon laquelle la réduction de la prise énergétique, suite à l'ingestion d'un repas hyperprotéique, pouvait résulter d'une augmentation de la teneur plasmatique en ammoniaque, induisant des effets neurotoxiques, n'a pas été validée dans nos conditions expérimentales. Nos résultats diffèrent de ceux de Semon *et al.* (1987b) qui trouvaient une augmentation de l'ammoniémie plasmatique dans le cas d'un régime hyperprotéique (> P40) (120 μ M) par rapport à un régime à basse teneur protéique (6% caséine, 60 μ M). La teneur plasmatique serait régulée aux alentours de 50 μ M (Meijer, Lamers & Chalumeau, 1990). Néanmoins, l'absence d'élévation de l'ammoniémie plasmatique est cohérente avec l'absence d'augmentation plasmatique de glutamine et d'alanine, eux aussi jouant le rôle de transporteurs sanguins d'ammoniaque.

Tews, Repa et Harper (1992), avaient contesté l'existence d'un mécanisme aussi général. Un excès d'ammoniaque suite à l'ingestion d'un excès de protéines ne pourrait pas être impliqué dans l'installation de l'anorexie compte tenu de la différence de comportement induite par l'ingestion de repas hyperprotéiques contenant des protéines différentes. Les principaux métabolites issus du catabolisme des AA sont le glutamate et le NH₃. Ce dernier étant toxique pour l'organisme, il est véhiculé jusqu'aux reins sous une forme neutre et non toxique : l'urée. La transformation de l'ammoniaque en urée s'opère au niveau du foie par un complexe d'enzymes qui forment le *cycle de l'urée*. L'étape limitante du cycle de l'urée est l'étape de synthèse du carbamyl phosphate par la Carbamyl Phosphate Synthétase-1. Cette étape est limitante car elle nécessite la présence du substrat *N*-acétyl-glutamate qui est aussi un activateur allostérique de l'enzyme (revue dans Meijer, Lamers & Chalumeau, 1990). Ce composé régule à court terme l'activité uréogénique du cycle (Grisolia *et al.*, 1994). Dans le cas du régime hyperprotéique, l'augmentation de l'ammoniémie plasmatique serait liée à un hypercatabolisme protéique postprandial, dépassant les capacités détoxifiantes du cycle de l'urée (Semon *et al.*, 1989). Nos résultats montrent que les capacités détoxifiantes du foie, en ce qui concerne l'ammoniaque, sont maintenus, à court terme, après ingestion de la charge hyperprotéique (GLT-35%).

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

Le projet de ma thèse a visé à identifier les mécanismes qui sont à l'origine de la dépression de la prise alimentaire induite par l'ingestion des protéines. Le but du travail effectué a été double : (1) Etudier le rôle éventuel de l'aversion gustative conditionnée et/ou de la satiété dans la dépression de la prise énergétique induite par l'ingestion de régimes hyperprotéiques ; et (2) Caractériser l'effet satiétogène des protéines alimentaires sur la prise énergétique et sur l'évolution du poids en fonction de la composition en macronutriments (protéines par rapport aux glucides), de la teneur en protéines et de la nature de protéines.

Nos résultats, que ce soit dans le cadre de l'ingestion d'un régime hyperprotéique ou, plus simplement lors d'un repas, montre que l'ingestion de protéines s'accompagne d'un effet satiétogène qui reste à expliquer. Ce travail a montré que la dépression de la prise alimentaire d'un régime hyperprotéique n'était pas due à l'installation d'une aversion gustative conditionnée mais à une palatabilité faible de la nourriture associée au pouvoir satiétogène des protéines et au délai nécessaire à l'adaptation métabolique aux régimes hyperprotéiques.

Cette étude nous a permis d'écarter certaines voies telles que celles impliquant par exemple l'aversion gustative conditionnée. Ce résultat confirme ceux déjà obtenus par l'équipe indiquant que la lésion du noyau parabrachial, dont on connaît par ailleurs le rôle dans l'aversion gustative conditionnée (Grigson *et al.*, 1998), n'induit pas d'augmentation de l'ingestion d'un régime hyperprotéique (Fromentin *et al.*, 2000).

Dans le futur, une attention particulière devra être portée au rôle potentiel de certains paramètres intervenant dans la satiété tels que la vidange gastrique, le rôle de la CCK en combinaison avec celui du nerf vague. En effet, l'action des aliments riches en protéines, sur la réduction de la prise alimentaire, commence à partir du tractus digestif. L'ingestion d'un régime protéique pourrait avoir une action indirecte sur le volume de l'estomac par une plus grande rétention d'eau et/ou une moindre vidange gastrique. Des récepteurs d'acides aminés ont été détectés au niveau de la partie supérieure de la paroi intestinale du tractus digestif. Les fibres afférentes de ces récepteurs pourraient informer certains centres cérébraux (notamment le NTS) sur la nature des macronutriments ingérés. Le contrôle de la prise alimentaire par ces récepteurs n'a pas encore été prouvé. Toutefois, ces récepteurs peuvent jouer un rôle dans l'induction de la satiété par la libération d'hormones telles que la cholécystokinine (CCK), qui peut agir directement au niveau central et/ou périphérique en stimulant la sécrétion pancréatique et en induisant une réduction de la vitesse d'évacuation gastrique. Les études de la prise alimentaire d'un régime hyperprotéique après blocage de la CCK par un antagoniste ou encore après une vagotomie subdiaphragmatique totale devraient être entreprises.

Au niveau périphérique, notre étude a apporté quelques enseignements. Afin de mettre en évidence quels paramètres biochimiques pouvaient être des précurseurs des signaux métaboliques à l'origine de la dépression de la prise alimentaire suite à l'ingestion de régimes hyperprotéiques, nous avons entrepris une analyse des différences des réponses métaboliques périprandiales associées à l'ingestion d'un repas hyperprotéique par rapport à un repas hyperglucidique iso-énergétique. Nous avons plus particulièrement étudié l'insuline et la leptine, qui sont les hormones principales impliquées dans le contrôle du devenir métabolique des substrats énergétiques apportés par le repas. Si notre étude a montré une différence dans la teneur en leptine périphérique en fonction de la charge, son rôle exact dans la dépression à court terme de la prise alimentaire n'est pas prouvé.

Nous avons aussi étudié l'évolution des teneurs plasmatiques en glucose et en acides aminés. Néanmoins, la façon exacte dont un mécanisme aminostatique pourrait agir reste à découvrir. En tout cas, la piste d'un excès d'ammoniaque plasmatique et cérébral ne semble pas confirmé. Chez les omnivores, la zone splanchnique a la capacité de s'adapter en quelques jours en modifiant et augmentant certains enzymes du cycle de l'urée. Après l'absorption des aliments, de nombreux médiateurs sont véhiculés par le sang vers le système nerveux central. Par exemple, une concentration plasmatique élevée en acides aminés (conséquence directe de l'absorption d'une quantité élevée en protéines) pourrait influencer directement le cerveau. Déjà, des zones sensibles aux variations d'acides aminés circulants sont connues et étudiées (par exemple le cortex pyriforme antérieur) (Gietzen, Erecius & Rogers, 1998). Il faudrait donc tenter d'explorer quelles zones du cerveau pourraient être sensibles à un excès d'acides aminés.

BIBLIOGRAPHIE

AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA). Dietary protein and weight reduction. A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism of the American Heart Association. *Circulation*, 2001, volume 104, 1869-1874.

ANDERSON, H. L. ; BENEVENGA, N. J. & HARPER A. E. Associations among food and protein intake, serine dehydratase, and plasma amino acids. *Am. J. Physiol.*, 1968, volume 214 (5), 1008-1013.

ANDERSON, G. H. & ASHLEY, D. V. Correlation of the plasma tyrosine to phenylalanine ratio with energy intake in self-selecting weanling rats. *Life Sci.* 1977, volume 21 (9), 1227-1234.

ANDERSON, G. H. Control of protein and energy intake : Role of amino acids and brain neurotransmitters. *Can J. Physiol. Pharmacol.*, 1979, volume 57 (10), 1043-1057.

ANDERSON, G. H. ; LI, E. T. S. & GLANVILLE, N. T. Brain mechanisms and the quantitative and qualitative aspects of food intake. *Brain Res Bull.*, 1984, volume 12 (2), 167-73.

ANDERSON, G. H. Proteins and amino acids: effects on the sympathetic nervous system and blood pressure regulation. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1986, volume 64 (6), 863-70.

ANDERSON, G. H. & LI, E. T. Protein and amino acids in the regulation of quantitative and qualitative aspects of food intake. *Int. J. Obes.*, 1987, volume 11 (3), 97-108.

ANDERSON, G. H. ; BIALIK, R. J. & LI, E. T. S. Amino acids in the regulation of food intake and selection. In : Huether G. (éd *Amino acid availability and brain function in health and disease : new perspectives*. Berlin : Nato ASI Series, 1988, 10 p.

ANDERSON, S. A. ; TEWS, J. K. & HARPER, A. E. Dietary branched-chain amino acids and protein selection by rats. *Am. J. Nutr.*, 1990, volume 120, 52-63.

ANDERSON, J. W. ; JONES, A. E. & RIDELL-MASON, S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids on cholesterol-fed rats. *Am. J. Nutr.*, 1994, volume 124, 78-83.

ANDERSON, G. H. ; LI, E. T. S. ; ANTHONY, S. P. ; LEAN TEAK, N. G. & BIALIK, R. Dissociation between plasma and brain amino acid profiles and short-term food intake in the rat. *Am. J. Physiol.*, 1994a, volume 266, R1675-1686.

ANDERSON, G. H. ; LUO, S. ; TRIGAZIS, L. ; KUBIS, G. & LI, E. T. S. Effects of essential amino acids on food and water intake of rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1994b, volume 72, 841-848.

ANDERSON, G. H. ; LUO, S. ; SHUQIN, L. ; NG L. T. & LI, E. T. S. Non essential amino acids and short term food intake of rats. *Nutr. Res.*, 1994c, volume 14 (8), 1179-1984.

APFELBAUM, M. Metabolic effects of low and very low calorie diets. *Int. J. Obes.*, 1993, volume 17 (1), S13-16.

ASHLEY, D. V. & ANDERSON G. H. Food intake regulation in the weanling rat : Effects of the most limiting essential amino acids of gluten, casein and zein on the self-selection of protein and energy. *Am. J. Nutr.*, 1975a, volume 105, 1405-1411.

ASHLEY, D. V. & ANDERSON, G. H. Correlation between the plasma tryptophan to neutral amino acid ratio and protein intake in the self selecting weanling rat. *Am. J. Nutr.*, 1975b, volume 105, 1412-1415.

AZAIN, M. J. ; WANG, T. ; HULSEY, M. G. ; QIAN, H. ; HARTZELL, D. L. & BAILE, C. A. Effects of intracerebroventricularly administered leptin on protein selection in the rat. *Physiol. Behav.*, 1999, volume 66 (3), 537-541.

BABA, N. H. ; SAWAYA, S. ; TORBAY, N. ; HABBAL, Z. ; AZAR, S. & HASHIM, S. A. High protein diet vs high carbohydrate hypoenergetic diet for the treatment of obese hyperinsulinemic subjects. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1999, volume 23 (11), 1202-1206.

BAKER, B. J. ; BOOTH, D. A. ; DUGGAN, J. P. & GIBSON, E. L. Protein appetite demonstrated: Learned specificity of protein-cue preference to protein need in adult rats. *Nutr. Res.*, 1987, volume 7, 481-487.

BARKELING, G. B. ; ROSSNER, S. & BJÖRVELL, H. Effects of a high protein meal (meat) and a high carbohydrate meal (vegetarian) on satiety measured by automated computerized monitoring of subsequent food intake, motivation to eat and food preferences. *Int. J. Obes.*, 1990, volume 14, 743-751

BARNETT, S. A. Experiments on neophobia in wild and laboratory rats. *Brit. J. Psychol.*, 1958, volume 49, 117-119.

BASS, J. J. ; BUTLER-HOGG, W. & KIRTON, A. H. Practical methods of controlling fatness in fam animal. In : Wood, D. & Fischer, A. V. (ed.). *Reducing fat in meat animals : Chapter 5*. London & New York : Elsevier Applied Science, 1990, 145-200.

BAUMONT, R. Palatabilité et comportement alimentaire chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, 1996, volume 9 (5), 349-358.

BELLISLE, F. ; MCDEVITT, R. & PRENTICE, A. M. Meal frequency and energy balance. *Brit. J. Nutr.*, 1997, volume 77 (1), S57-261.

BENEVENGA, N. J. & STEELE, R. D. Adverse effects of excessive consumption of amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 1984, volume 4, 157-181.

BERKUN, M. M. ; KESSEN, M. & MILLER, N. E. Hunger reducing effect of food by stomach fistula vs food by mouth measured by consumatory response. *J. comp. Physiol. Psychol.*, 1952, volume 45, 549-557.

BERNSTEIN, I. L. & WEBSTER, M. M. Learned food aversion : a consequence of cancer chemotherapy. In : TG Burish, SM Levy & BE Meyerowitz (éd.). *Cancer, nutrition, and eating behavior : a biobehavioral perspective*. London : Lawrence Earlbaum Associates, 1985, 13 p.

BERRIDGE, K. C. & GRILL H. J. Alternating ingestive and aversive consummatory responses suggest a two-dimensional analysis of palatability in rats. *Behav. Neurosci.*, 1983, volume 97, 563-573.

BERRIDGE, K. C. & GRILL, H. J. Isohedonic tastes support a two-dimensional hypothesis of palatability. *Appetite*, 1984, volume 5, 221-231.

BERRIDGE, K. C. Food reward : brain substrates of wanting and liking. *Neurosci. Behav. Rev.*, 1996, volume 20 (1), 1-25.

BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2002, volume 26 (4), 393-428.

BEST, M. R. ; DOMJAN, M. & HASKINS, W. L. Long-term retention of flavor familiarization: effects of number and amount of prior exposures. *Behav Biol.*, 1978, volume, 23 (1), 95-9.

BLUNDELL, J. E. ; ROGERS, P. J. & HILL, A. J. Behavioural structure and mechanisms of anorexia : calibration of natural and abnormal inhibition of eating. *Brain Res. Bull.*, 1985, volume 15, 371-376.

BOOTH, D. A. ; CHASE, A. & CAMPBELL, A. T. Relative effectiveness of protein in the late stages of appetites suppression in man. *Physiol. Behav.*, 1970, volume 5, 1299-1302.

BOOTH, D. A. & SIMSON, P. C. Food preferences acquired by association with variations in amino acid nutrition. *Quat. J. Exp. Psychol.*, 1971, volume 23, 135-145.

BOOTH D. A. Unlearned and learned effects of intra hypothalamic cyclic AMP injection on feeding. *Nat. New Biol.*, 1972, volume 237, 222-223.

BOOTH, D. A. ; STOLOFF, R. & NICHOLLS, J. Dietary flavor acceptance in infants rats established by association with effects of nutrient composition. *Physiol. Psychol.*, 1974, volume 2 (3A), 313-319.

BOOTH, D. A ; MATHER, P. & FULLER, J. Starch content of ordinary foods associatively conditions human appetite and satiation, indexed by intake and eating pleasantness of starch-paired flavours. *Appetite*, 1982, volume 3, 163-184.

BOOTH, D. A. Food-conditioned eating preferences and aversions with interoceptive elements : Conditioned appetites and satieties. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1985, volume 443, 23-41.

BOOTH, D. A. & THIBAUT, L. Macronutrient-specific hungers and satieties and their neural bases, learnt from pre- and postingestional effects of eating particular foodstuffs. *CRC Press LLC*, 2000, 61-91.

- BRADFIELD, R. B. & JOURDAN, M. H. Relative importance of specific action in weight-reducing diets. *Lancet*, 1973, volume 2, 640-643.
- BRAVEMAN, S. & BRONSTEIN, P. Experimental assessments and clinical application of conditioned food aversion. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1985, volume 443, 1-441.
- BROBECK, J. R. Food intake as a mechanism of temperature regulation. *Yale J. Biol. Med.*, 1948, volume 20, 545-552.
- BURTON-FREEMAN, B. ; GIETZEN, D. W. & SCHNEEMAN, B. O. Meal pattern analysis to instigate the satiating potential of fat, carbohydrate, and protein in rats. *Am. J. Physiol.*, 1997, volume 273 (42), R1916-1922.
- BURVIN, R. ; ZLOCZOWER, M. & KARNIELI, E. Double-vein jugular/inferior vena cava clamp technique for long-term in vivo studies in rats. *Physiol. Behav.*, 1998, volume 63 (4), 511-515.
- CAMPBELL, B. A. Absolute and relative sucrose preference threshold for hungry and satiated rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1958, volume 51, 795-800.
- CAMPFIELD, L. A. & SMITH, F. J. Functional coupling between transient declines in blood glucose and feeding behavior : temporal relationships. *Brain Res. Bull.*, 1986, volume 17, 427-433.
- CAMPFIELD, L. A. ; SMITH, F. J. ; ROSENBAUM, M. & HIRSCH, J. Human eating : evidence for a physiological basis using a modified paradigm. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1996, volume 20 (1), 133-137.
- CAPALDI, D. & HUNTER, M. J. Taste and odor in conditioned flavor preference learning. *Anim. Learn. Behav.*, 1994, volume 22 (4), 355-365.
- CAROLL, M. E. ; DINE, H. I ; LEVY, C. J. & SMITH, J. C. Demonstration of neophobia and enhanced neophobia in the albino rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1975, volume 89 (5), 457-467.
- CASTONGUAY, T. W. ; KAISER, L. L. & STERN, J. S. Meal patterns analysis : artifacts, assumptions and implications. *Brain Res. Bull.* 1986, volume 17, 439-443.
- CAULLIEZ, R. *Mécanismes neurobiologiques des modulations nyctémérale et cognitive du comportement ingestif*. Doctorat en Sciences Cognitives, Ecole des Hautes Etudes en Sciences Sociales, Paris, 1996.
- CHAPELOT, D. Petit déjeuner et satiété. *Cah. Nutr. Diet.*, 1997, volume 32 (1), S4-14.
- COOPER, S. J. & FRANCIS, J. A microstructural analysis of the effects of presatiation on feeding behavior in the rat. *Physiol. Behav.*, 1993, volume 53, 413-416.
- CROVETTI, R. ; PORRINI, M. ; SANTANGELO, A. & TESTOLIN, G. The influence of thermic effect of food on satiety. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1998, volume 52, 482-488.

CUBERO, I.; LOPEZ, M. ; NAVARRO, M. & PUERTO, A. Lateral parabrachial lesions impair taste aversion learning induced by blood-borne visceral stimuli. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2001, volume 69, 157-163.

DANGUIR, J. & NICOLAIDIS, S. Lack of reacquisition in learned taste aversions. *Anim. Learn. Behav.*, 1977, volume 5 (4), 395-397.

DAVIS, J. D. & CAMPBELL, C. S. Peripheral control of meal size in the rat : effect of sham feeding in meal size and drinking rate. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1973, volume 83, 379-87.

DEAN, J. & EDWARDS, D. G. The availability to the rat of energy from various diet ingredients. *Lab. Anim.*, 1985, volume 19 (4), 305-10.

DEUTSCH, J. A. ; MOORE, B. O. & HEINRICHS, S. C. Unlearned specific appetite for protein. *Physiol. Behav.*, 1989, volume 46, 619-624.

DRAGOIN, W. ; HUGHES, G. ; DEVINE, M. & BENTLEY, J. Long-term retention of conditioned taste aversions: effects of gustatory interference. *Psychol. Rep.*, 1973, volume 33 (2), 511-4.

EVEN, P. C. ; RIETH, N. ; ROSEAU, S. & LARUE-ACHAGIOTIS, C. Substrate oxidation during exercise in the rat cannot fully account for training-induced changes in macronutrients selection. *Metabolism*, 1998, volume 47 (7), 777-782.

FABRY, P. ; FODOR, Z. ; HEJL, Z. ; BRAUN, T. & ZVOLANKOVA, K. The frequency of meals : its relation to overweight, hypercholesterolemia and decreased glucose tolerance. *Lancet*, 1964, volume 2, 614-615.

FAGEN, R. M. & YOUNG, D. Y. Temporal patterns of behavior : durations, intervals, latencies, and sequences. In : Colgan, P.W. (éd.). *Quantitative ethology*. New York : Wiley, 1978.

FERNSTROM, J. D. & WURTMAN, R. J. Brain serotonin content : increase following ingestion of carbohydrate diet. *Science*, 1971, volume 174 (13), 1023-1025.

FERNSTROM J. D. & WURTMEN, R. J. Elevation of plasma tryptophan by insulin in rat. *Metabolism*, 1972, volume 21 (4), 337-342.

FERNSTROM, J. D. & FALLER, D. V. Neutral amino acids in the brain: changes in response to food ingestion. *J. Neurochem.*, 1978, volume 30 (6), 1531-1538.

FEURTE, S ; NICOLAIDIS, S & GEROZISSIS, K. Is the early increase in leptinemia one of the anorectic signals induced by an essential amino acid-deficient diet in the rat? *Endocrinology*, 2000, volume 141 (10), 3916-9.

FEURTÉ, S. ; NICOLAÏDIS, S. & BERRIDGE, K. C. Conditioned taste aversion for a threonine-deficient diet in the rat : Demonstration by the taste reactivity test. *Physiol. Behav.*, 2000, volume 68 (3), 423-429.

- FEURTE, S. ; TOMÉ, D. ; GIETZEN, D. W. ; EVEN, P. C. ; NICOLAÏDIS, S. & FROMENTIN, G. Feeding patterns and meal microstructure during development of a taste aversion to a threonine devoid diet. *Nutr. Neurosci.*, 2002, volume 5 (4), 269-78.
- FLATT, J. P. Energy costs of ATP synthesis. In : Kiney J.M., Tucker H.N. (ed.). *Energy Metabolism : tissue determinants and cellular corollaries*. New York : Raven Press, 1992, 24 p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION / World Health Organization / United Nation University. *Protein Quality Evaluation*. Food and Agricultural organization of the United Nations, FAO Food and Nutrition Paper 51, Rome, 1990.
- FORSLUND, A. H. ; HAMBRAEUS, L. ; VAN BEURDEN, H. ; HOLMBÄCK, U. ; EL-KHOURY, A. E. ; HJORTH, G. ; STRIDSBERG, M. ; WIDE, L. ; AKERFELDT, T. ; REGAN, M. & YOUNG, V. R. Inverse relationship between protein intake and plasma free amino acids in healthy men at physical exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000, volume 278, E857-E867.
- FRENCH, J. A. ; WAINWRIGHT, C. J. ; BOOTH, D. A. & HAMILTON, J. Effects of meat species and particle size on postprandial satiety. *Proc. Nutr. Soc.* 1992, 51-57.
- FROMENTIN, G. ; FEURTE, S. NICOLAÏDIS, S. & NORGREN, R. Parabrachial lesions disrupt responses of rats to amino acid devoid diets, to protein-free diets, but not to high protein diets. *Physiol. Behav.*, 2000, volume 70 (3-4), 381-9.
- GARCIA, J. & KOELLING, R. A. Relation of cue consequence in avoidance learning. *Psychonomic. Sci.*, 1966, volume 4, 123-124.
- GARCIA, J. ; HANKINS, W. G. & RUSINIAC, K. W. Behaviourial regulation of milieu interne in man and rat. *Science*, 1974, volume 185, 823-831.
- GARN, S. M. & KANGAS, J. Protein intake, bone mass and bone loss. In : De Luca (éd.), *Osteoporosis : recent advances in pathogenesis and treatment*. Baltimore MD : University park press, 1988, 19 p.
- GELIEBTER, A. Effects of equicaloric loads of protein, fat and carbohydrate on food in take in the rat and the man. *Physiol. Behav.*, 1979, volume 22, 267-273.
- GELIEBTER, A. ; LIANG, J. T. & VAN ITALLIE, T. B. Effects of repeated isocaloric macronutrients loads on daily food intake of rats. *Am. J. Physiol.*, 1984, volume 247, R382-R387.
- GIBBS, J. ; YOUNG, R. C. & SMITH, G. P. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1973, volume 84 (3), 488-95.
- GIBSON E. L. & BOOTH D. A. Acquired protein appetite. *Experientia*, 1986, volume 42, 1003-1004.

GIETZEN, D. W. & BEVERLY, J. L. Clonidine in the prepyriform. cortex blocked anorectic response to amino acid imbalance. *Am. J. Physiol.*, 1992, volume 263, R885-R890.

GIETZEN, D. W. ; ERECIUS, L. F. & ROGERS, Q. R. Neurochemical changes after imbalanced diets suggest a brain circuit mediating anorectic responses to amino acid deficiency in rats. *J. Nutr.*, 1998, volume 128, 771-781.

GIETZEN, D. W. & MAGRUM, L. J. Molecular mechanisms in the brain involved in the anorexia of branched-chain amino acid deficiency. *J. Nutr.* 2001, volume 131 (3), 851S-855S.

GLAESER, B. S ; MAHER, T. J & WURTMAN, R. J. Changes in brain levels of acidic, basic, and neutral amino acids after consumption of single meals containing various proportions of protein. *J. Neurochem.*, 1983, volume 41 (4), 1016-21.

GRIGSON, P. S ; REILLY, S. ; SCALERA, G. & NORNGREN, R. The parabrachial nucleus is essential for acquisition of a conditioned odor aversion in rats. *Behav. Neurosci.*, 1998, volume 112 (5), 1104-13.

GRILL, H. J. & NORNGREN, R. The taste reactivity test : Mimetic responses to gustatory stimuli neurologically normal rats. *Brain Res.*, 1978, volume 143, 263-279.

GRISOLIA, S. ; MINANA, M. D. ; GRAU, E. & FELIPO, V. Control of urea synthesis and ammonia detoxification. In : Grisolia, S. & Felipo, V. (éd.), *Cirrhosis, Hyperammonemia, and Hepatic Encephalopathy*. New York : Plenum Press, 1994, 12 p.

GRUNDY, D. Neuroanatomy of visceral nociception : vagal and splanchnic afferent. *Gut*, 2002, volume 51 (1), 2-5.

HALFORD, J. C. G. ; WANNINAYAKE, S. C. D. & BLUNDELL, J. E. Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1998, volume 61, 159-168.

HALSTEAD, W. C. & GALLAGHER, B. Autoregulation of aminoacids intake in the albino rat. *J.C.P.P.*, 1962, volume 55 (1), 107-111.

HANNAH, J. S. ; DUBEY, A. K. & HANSEN, B. C. Postingestional effects of a high-protein diet on the regulation of food intake in monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990, volume 52 (2), 320-5.

HARPER, A. E. ; BENEVENGA, N. J. & WOHLHUETER, R. M. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiol. Rev.*, 1970, volume 80 (3), 428-458.

HARPER, A. E. & TEWS, J. K. Nutritional and metabolic control of brain amino acid concentrations. In : G Huether, Springer-Verlag (éd.), *Amino acid availability and brain function in health and disease : new perspectives.*, edited by Berlin : Nato ASI Series, 1987, volume H20, 11 p.

HARPER, A. E. & PETERS, J. C. Protein intake, brain amino acid acid and serotonin concentrations and protein self-selection. *Am. J. Nutr.*, 1989, volume 119, 677-689.

HARRIS, L. J. ; HARGREAVES, F. & WARD, A. Appetite and choice of diet. The ability of the vitamin B deficient rat to discriminate between diets containing and lacking the vitamin. *Proc. Roy. Soc. Ser B*, 1933, volume 113, 161-190.

HARTSOOK, E. W. ; HERSHBERGER, T. H. & NEE, J. C. M. Effects of dietary protein content and ratio of fat to carbohydrate calories on energy metabolism and body composition of growing rats. *Am. J. Nutr.*, 1973, volume 103, 167-178.

HEANEY, R. P. Excess dietary protein may not adversely affect bone. *J. Nutr.*, 1998, volume 128, 1054-1057.

HERRERO, M. C. ; ANGLES, N. ; REMESAR, X. ; AROLA, L. & BLADE, C. Splanchnic ammonia management in genetic and dietary obesity in the rat. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1994, volume 18 (4), 255-61.

HILL, A. J. & BLUNDELL, J. E. Macronutrients and satiety : the effects of a high-protein or high-carbohydrate meal on subjective motivation to eat and food preferences. *Nutr. Behav.*, 1986, volume 3, 133-144.

HIMAYA, A. ; FANTINO, M. ; ANTOINE, J. M. ; BRONDEL, L. & LOUIS-SYLVESTRE, J. Satiety power of dietary fat : a new appraisal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, volume 65, 1410-1418.

HOLT, S. ; BRAND-MILLER, J. C. & PETOCZ, P. Interrelationship among post-prandial satiety, glucose and insulin responses and changes in subsequent food intake. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1996, volume 50, 788-797.

HOWARD, A. N. The historical development of very low calorie diets. *Int. J. Obes.*, 1989, volume 13 (2), S1-S9.

JEAN, C. ; ROME, S. ; MATHÉ, V. ; HUNEAU, J. F. ; AATTOURI, N. ; FROMENTIN, G. ; LARUE-ACHAGIOTIS, C. & TOMÉ, D. Metabolic evidence for adaptation to a high protein diet in rats. *J. Nutr.*, 2001, volume 131, 91-98.

JEAN, C. ; FROMENTIN, G. ; TOME, D. ; LARUE-ACHAGIOTIS, C. Wistar rats allowed to self-select macronutrients from weaning to maturity choose a high-protein, high-lipid diet. *Physiol. Behav.*, 2002, volume 76 (1), 65-73.

JEANNINGROS, R. Vagal unitary responses to intestinal amino acid infusions in the anesthetized cat : A putative signal for protein induced satiety. *Physiol. Behav.*, 1981, volume 28, 9-21.

KALAT, J. W. & ROZIN, P. « Saliency » : A factor which can override temporal contiguity in taste-aversion learning. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1970, volume 71 (2), 192-197.

KERSTETTER, J. E. & ALLEN, L. H. Dietary protein increases urinary calcium. *J. Nutr.*, 1990, volume 120 (1), 134-6.

- KREZOWSKI, P. A. ; NUTTAL, F. Q. ; GANNON, M. C. & BARTOSH, N. H. The effect of protein ingestion on the metabolic response to oral glucose in normal individuals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1986, volume 44 (6), 847-856.
- LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; MARTIN, C. ; VERGER, P. & LOUIS-SYLVESTRE, J. Dietary self-selection vs. complete diet : body weight gain and meal pattern in rats. *Physiol. Behav.*, 1992, volume 51, 995-999.
- LARUE-ACHAGIOTIS, C. & THOUZEAU, C. Refeeding after prolonged fasting in rats: nycthemeral variations in dietary self-selection. *Physiol. Behav.*, 1996, volume 59 (6), 1033-7.
- LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; JEAN, C. ; FROMENTIN, G. & TOMÉ, D. Effect of IP leptin injection on food choice in male rats. *Annual meeting of the society for the study of ingestive behavior (SSIB), Dublin (Irlande), July 25-29, 2000.*
- LATHAM, C. J. & BLUNDELL, J. E. Evidence for the effect of typtopyhan on the pattern of food consumption in free feeding and food dprived rats. *Live science*, 1979, volume 24, 1971-1978.
- LE MAGNEN, J. Le processus de discrimination par le rat blanc des stimuli sucrés alimentaires et non alimentaires. *J. Physiol.*, 1954, volume 46, 414-418.
- LE MAGNEN, J. Hyperphagie provoquée chez le rat blanc par l'altération du mécanisme de satiété périphérique. *C. R. Soc. Biol.*, 1956, volume 150, 32-34.
- LE MAGNEN, J. & TALLON, S. La périodicité spontanée de la prise d'aliments ad libitum du rat blanc. *J. Physiol.*, 1966, volume 58, 323-49.
- LE MAGNEN, J. Hunger. *Problems of Behavioural Sciences, II Hunger*. London : Cambridge University Press, 1985, 157 p.
- LE MAGNEN, J. *Neurobiology of feeding and nutrition : Unconditioned and conditioned aversions* . London : Accademic Press, 1992, 385 p.
- LEATHWOOD, P. D. & ASHLEY, D. M. Strategies of protein selection by weanling and adult rats. *Appetite*, 1983, volume 4, 97-112.
- LEATHWOOD, P. Food-composition, changes in brain serotonin synthesis and appetite for protein and carbohydrate. *Appetite*, 1987, volume 8 (3), 202-5.
- LEUNG, P. M. B. ; LARSON, D. M. & ROGERS, Q. R. Food intake and preference of olfactory bulbectomized rats fed amino acid imbalanced or deficient diets. *Physiol. Behav.*, 1972, volume 9, 553-557.
- LEVITSKY, D. A. Feeding patterns of rats in response to fasts and changes in environmental conditions. *Physiol. Behav.*, 1970, volume 5, 291-300.
- LI, E. T. S. & ANDERSON, G. H. Meal composition influences subsequent food selection in the young rat. *Physiol. Behav.*, 1982, volume 29, 779-783.

LINN, T. ; SANTOSA, B. ; GRÖNEMEYER, D. ; AYGEN, S. ; SCHOLZ, N. ; BUSCH, M. & BRETZEL, R. G. Effect of long-term dietary protein intake on glucose metabolism in humans. *Diabetologia*, 2000, volume 43, 1257-1265.

LONG, S. J. ; JEFFCOAT, A. R. & MILLWARD, D. J. Effect on habitual dietary protein intake on appetite and satiety. *Appetite*, 2000, volume 35, 79-88.

LOUIS-SYLVESTRE, J. ; TOURNIER, A. ; VERGER, P. ; CHABERT, M. ; DELORME, B. & HOSSENLOPP, J. Learned caloric adjustment of human intake. *Appetite*, 1989, volume 12, 95-103.

MASSEY, L. K. Does excess dietary protein adversely affect bone? Symposium overview. *J. Nutr.*, 1998, volume 128 (6), 1048-50.

MAYER, J. Regulation of energy intake : The glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1955, volume 73 , 15-42.

McARTHUR, L. H. ; KELLY, W. F. ; GIETZEN, D. W. & ROGERS, Q. R. The role of palatability in the food intake response of rats fed high-protein intake response. *Appetite*, 1993, volume 20, 191-196.

MEI, N. Vagal glucoreceptors in the small intestine of the cat. *J. Physiol*, 1978, volume 282, 485-506.

MEIJER, A. J. ; LAMERS, W. H. & CHALUMEAU, R. A. Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. *Physiol. Rev.*, 1990, volume 70, 701-748.

MELLINKOFF, S. M. ; FRANKLAND, M. ; BOYLE, D. & GREIPEL, M. Relationship between serum amino acid concentration and fluctuations in appetite. *J. Appl. Physiol.*, 1956, volume 8, 535-538.

MERCER, P. L. ; DODDS, S. J. ; WEBER, M. D. & DUNN, J. D. Histidine, histamine, and the neuroregulation of food intake : A review and hypothesis. *Nutrition*, 1990, volume 6, 273-277.

MILLER, D. S. & PAYNE, P. R. A theory of protein metabolism. *J. Theor. Biol.*, 1963, volume 5 (3) , 398-411.

MILLER, R. R. & HOLZMAN, A. D. Neophobia : generality and function. *Behav. Neural Biol.*, 1981, volume 33, 17-44.

MORENS, C. ; GAUDICHON, C. ; METGES, C. C. ; FROMENTIN, G. ; BAGLIERI, A. ; EVEN, P. C. ; HUNEAU, J. F. ; TOME, D. A high protein meal exceeds anabolic and catabolic capacities in rats adapted to a normal protein diet. *J. Nutr.*, 2000, volume 130, 2312-2321.

MORENS, C. ; GAUDICHON, C. ; FROMENTIN, G. ; MARSET-BAGLIERI, A. ; BENSALD, A. ; LARUE-ACHAGIOTIS, C. ; LUENGO, C. & TOMÉ, D. Daily delivery of

dietary nitrogen to the periphery is stable in rats adapted to increased protein intake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001, volume 281; E826-836.

MUNSTEN, B. ; PEACE, D. & ANDERSON, G.H. Food intake regulation in the weanling rat : self-selection of protein. *Am. J. Nutr.*, 1974, volume 104, 563-572.

NAITO-HOOPEES, M. ; GIETZEN, D. W. ; McARTHUR, L. H. & ROGERS, Q. R. Learned preference and aversion for complete and isoleucine-devoid diet. *Physiol. Behav.*, 1993, volume 53, 485-494.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of the laboratory rat. In : NRC (éd.), *Nutrient requirements of laboratory animals*. Washington D.C. : National Academy of Science, 1978, 7-37.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of the laboratory rat. In : NRC (éd.), *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*. Washington D.C. : National Academy of Science, 1995, 68 p.

NG, L. T. & ANDERSON, G. H. Route of administration of tryptophan and tyrosine affects short-term food intake and plasma and brain amino acid concentrations in rats. *J. Nutr.*, 1992, volume 122 (2), 283-93.

NICOLAÏDIS, S. ; ROWLAND, N. ; MEILE, M. J. ; MARFAING-JALLAT, P. & PESEZ, A. A flexible technique for long term infusions in unrestrained rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1974, volume 2, 131-136.

NICOLAÏDIS, S. & ROWLANDAL, N. Metering of intravenous versus oral nutrients and regulation of energy balance. *Am. J. Physiol.*, 1976, volume 231, 661-8.

NICOLAIDIS, S. ; EVEN, P. Metabolic rate and feeling behavior. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1989, volume 557, 86-104.

NUTTALL, F. Q. & GANNON, M. C. Metabolic response to egg white and cottage cheese protein in normal subjects. *Metabolism*, 1990, volume 39 (7), 749-55.

NUTTALL, F. Q., GANNON, M. C. Plasma glucose and insulin response to macronutrients in nondiabetic and NIDDM subjects. *Diabetes Care*, 1991, volume 14 (9), 824-38.

ONO, T. ; NISHIJO, H. & UWANO, T. Amygdala role in conditioned associative learning. *Prog. Neurobiol.*, 1995, volume 46 (4), 401-22.

OROSCO, M. GEROZISSIS, K. ROUCH, C. & NICOLAIDIS, S. Feeding-related immunoreactive insulin changes in the PVN-VMH revealed by microdialysis. *Brain Res.*, 1995, volume 671 (1), 149-158.

ORWOLL, E. S. ; WEIGEL, R. M. ; OVIATT, S. K. ; MEIER, D. E. & McCLUNG, M. R. Serum protein concentrations and bone mineral content in aging normal men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1987, volume 46 (4), 614-621.

OSBORNE, T. B. & MENDEL, L. B. The choice between adequate and inadequate diets as made by the rats. *J. Biol. Chem.*, 1918, volume 35, 19-27.

PACY, P. J. ; PRICE, G. M. ; HALLIDAY, D. ; QUEDEVO, M. R. & MILLWARD D. J. Nitrogen homeostasis in man : the diurnal responses of protein synthesis and degradation and amino acid oxidation to diets with increasing protein intakes. *Clin. Sci.*, 1994, volume 86, 103-116.

PAIN, J. F. & BOOTH, D. A. Toxiphobia to odors. *Psychonomic science*, 1968, volume 10, 363-364.

PANNEMANS, D. L. ; SCHAAFSMA, G. & WETERTERP, K. R. Calcium excretion, apparent calcium absorption and calcium balance in young and elderly subjects : influence of protein intake. *Brit. J. Nutr.*, 1997, volume 77, 721-729.

PARKS, J. R. Growth curves and the physiology of growth. III. Effects of dietary protein. *Am. J. Physiol.*, 1970, volume 219 (3), 840-843.

PECIÑA, S. & BERRIDGE, K. C. Brainstem mediates diazepam enhancement of palatability and feeding: microinjections into fourth ventricle versus lateral ventricle. *Brain Res.*, 1996, volume 727, 22-30.

PERET, J. ; BACH, A. C. ; DELHOMME, B. ; BOIS-JOYEUX, B. ; CHANEZ, M. & SCHIRARDIN, H. Metabolic effects of high-protein diets in Zucker rats. *Metabolism*, 1984, volume 33 (3), 200-7.

PETERS, J. C. ; NEMETZ, D. J. ; TEWS, J. K. & HARPER, A. E. Relationships among plasma and brain amino acid and protein intake. *Nut. Rep. Inter*, 1983, volume 27 (2), 407-419.

PETERS J. C. & HARPER A. E. Adaption of rats to diets containing different levels of protein: effects on food intake, plasma and brain amino acid concentrations and brain neurotransmitter metabolism. *Am. J. Nutr.*, 1985, volume 115, 382-398.

PETERS, J. C. & HARPER, A. E. Acute effects of dietary protein on food intake tissue amino acids, and brain serotonin. *Am. J. Physiol.*, 1987, volume 252, R902-R914.

PETZKE, K. J. ; ELSNER, A. ; PROLL, J. ; THIELECKE, F. & METGES, C. C. Long term high protein intake does not increase oxidative stress in rats. *J. Nutr.*, 2000, volume 130, 2889-2896.

PHIFER, C. B. & BERTHOUD, H. R. Duodenal nutrient infusions differentially affect sham feeding and fos expression in rat brain stem. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 1998, volume 274 (43), R1725-R1733.

PHILLIPS, M. I. & NORGREN, R. A rapid method for permanent implantation of an intraoral fistula in rats. *Behav. Res. Met. Instrum.*, 1970, volume 2, 124.

PHILLIPS R. J. & POWLEY T. L. Gastric volume rather than nutrient content inhibits food intake. *Am. J. Physiol.*, 1996, volume 271, R766-R769.

PIQUARD, F. ; SCHAEFFER, A. & HABEREY, P. Influence of fasting and protein deprivation on food selection in the rat. *Physiol. Behav.*, 1978, volume 20, 771-778.

POL, G. & DEN HARTOG, C. The dependance on protein quality of the protein to calorie ratio in a freely selected diet and the usefulness of giving protein and calories separately in protein evaluation experiments. *Brit. J. Nutr.*, 1966, volume 20, 649-661.

PORRINI, M. ; SANTANGELO, A. ; CROVETTI, R. ; RISO, P. ; TESTOLIN, G. & BLUNDELL, J. E. Weight, protein, fat and timing of preloads affect food intake. *Physiol. Behav.*, 1997, volume 62 (3), 563-570.

RAMIREZ, I. ; TORDOFF, M. G. & FRIEDMANN, M. Satiety from fat? Adverse effects of intestinal infusion of sodium oleate. *Am. J. Physiol. (Regul. Integr. Comp. Physiol.)*, 1997, volume 273 (42), R1779-R1785.

REEVES, P. G ; NIELSEN, F. H. & FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76 Rodent diet. *Am. J. Nutr.*, 1993, volume 123, 1939-1951.

REID, M. & HETHERINGTON, M. Relative effects of carbohydrates and protein on satiety a review of methodology. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1997, Vol. 21 (3), pp. 295-308.

REILLY, S. The parabrachial nucleus and conditioned taste aversion. *Brain Res. Bull.*, 1999, volume 48 (3), 239-54.

RIGAUD, D. ; GIACHETTI, I. ; DEHEEGER, M. ; BORYS, J. M. ; VOLATIER, J. L. ; LEMOINE, A. & CASSUTO, D. A. Enquête française de consommation alimentaire I. Energie et macronutriments. *Cah. Nutr. Diét.*, 1997, volume 32, 379-389.

RICHTER, C. P. Salt appetite in mammals : its dependance on instinct and metabolism. In : Autuori M. (éd.). *L'instinct dans le comportement des animaux et de l'homme* . Paris : Masson et Cie, 1956, 52 p.

RODGERS, W. Specificity of specific hungers. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1967, volume 64 (1), 49-58.

ROGERS, Q. R. & HARPER, A. E. Selection of a solution containing histidine by rats feeding a histidine imbalance diet. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1970, volume 72, 66-71.

ROGERS, Q.R. & LEUNG, P.M.B. The influence of amino acids of the neuroregulation of food intake. *Fed. Proc.*, 1973, volume 32, 1709-1719.

ROLLAND-CACHERA, M-F. ; DEHEEGER, M. ; AKROUT, M. & BELLISLE, F. Influence of macronutrients on adiposity development: a follow up study of nutrition and growth from 10 months to 8 years of age. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1995, volume 19 (8), 573-578.

- ROLLS, B. J. ; VAN DUIJVENVOORDE, P. M. & ROWE, E. A. Variety in the diet enhances intake in a meal and contributes to the development of obesity in the rat. *Physiol. Behav.*, 1983, volume 31, 21-28.
- ROLLS, B. J. ; HETHERINGTON, M. M. & BURLEY, V. J. The specificity of satiety : the influence of foods of different macronutrient content on the development of satiety. *Physiol. Behav.*, 1988, volume 43 (2), 145-153.
- ROMSOS, D. R. ; CHEE, K. M. & BERGEN, W. G. Protein intake regulation in adult obese (ob/ob) and lean mice: effects of nonprotein energy source and of supplemental tryptophan. *J. Nutr.*, 1982, volume 112 (3), 505-13.
- ROWLAND, N. E. ; CREWS, E. C. & GENTRY, R. M. Comparison of Fos induced in rat brain by GLP-1 and amylin. *Regul. Pept.*, 1997, volume 71, 171-174.
- ROYET, J. P. *Néophobie et aversion conditionnée aux saveurs alimentaires. Etude électrophysiologique et comportementale chez le rat.* Doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I., 1982.
- ROZIN, P. Specific aversions and neophobia resulting from vitamin deficiency and or poisoning in half wild and domestic rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1968, volume 66 (1), 82-88.
- ROZIN, P. Selection of foods by rats, humans, and other animals. In "Advances in the study of behaviour". *Acad. Press*, 1976, volume 6, 21-76.
- ROZIN, P. Acquisition of stable food preferences. *Nutr. Rev.*, 1990, volume 48 (2), 106-13.
- RUDMAN, D. Kidney senescence : a model for aging. *Nutr. Rev.*, 1988, volume 46, 209-214.
- RUSSEK, M. Hepatic receptors and neurophysiological mechanisms controlling feeding behavior. *Neurosci. Res.*, 1971, volume 4, 213-282.
- RZOSKA, J. Bait shyness : a study in rat behavior. *Brit. J. Anim. Behav.*, 1953, volume 1, 128-135.
- SCHARRER, E. ; BAILE, C. A. & MAYER, J. Effect of amino acid and protein on food intake of hyperphagic and recovered aphagic rats. *Am. J. Physiol.*, 1970, volume 218, 400-404.
- SCHULMAN, J. D ; KAUFMAN, S. ; SCHNEIDER, J. A & SCRIVER, C. R. Workshop on amino acid metabolism. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1982, volume 103, 473-7.
- SCHWARTZ, G. J. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake : current prospects. *Nutrition*, 2000, volume 16, 866-873.
- SCHWARTZ, M. W. ; WOODS, S. C. ; PORTE, D. J. R., SEELEY, R. J. & BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 2000, volume 404, 661-71.
- SCLAFANI, A. & NISSENBAUM, J. W. Robust conditioned flavor preference produced by intragastric starch infusions in rats. *Am. J. Physiol.*, 1988, volume 255, R672-R675.

SCLAFANI, A. Learned controls of ingestive behavior. *Appetite*, 1997, volume 29, 153-158.

SCOTT, E. M. & QUINT, E. Self-selection of diet : II The effect of flavor. *Am. J. Nutr.*, 1946a, volume 32, 113-119.

SCOTT, E. M. & QUINT, E. Self-selection of diet : III Appetites for B vitamins. *Am. J. Nutr.*, 1946b, volume 32, 285-291.

SCOTT, E. M. & QUINT, E. Self-selection of diet : IV Appetites for protein. *Am. J. Nutr.*, 1946c, volume 32, 293-301.

SCOTT, E. M. & VERNEY, E. Self-selection of diet : VI The nature of appetites for B vitamins. *Am. J. Nutr.*, 1947, volume 34, 471-480.

SCOTT, E. M. & VERNEY, E. Self-selection of diet : IX The appetite for thiamine *Am. J. Nutr.*, 1948, volume 37, 81-91.

SEMON, B. A. ; LEUNG, P. M. B. ; ROGERS, Q. R. & GIETZEN, D. W. Effect of type of protein on food intake of rats fed high protein diets. *Physiol. Behav.*, 1987a, volume 41, 451-458.

SEMON, B. A. ; LEUNG, P. M. B. ; ROGERS, Q. R. & GIETZEN, D. W. Increase in plasma ammonia and amino acids when rats are fed a 44% casein diet. *Physiol. Behav.*, 1987b, volume 43, 631-636.

SEMON, B. A. ; LEUNG, P. M. B. ; ROGERS, Q. R. & GIETZEN, D. W. Increase in Plasma ammonia and amino acids when rats are fed a 44% casein diet. *Physiol. Behav.*, 1988, volume 43, 631-636.

SEMON, B. A. ; LEUNG, P. M. B. ; ROGERS, Q. R. & GIETZEN, D. W. Plasma and brain ammonia and amino acids measure after feeding 75% casein or 28% egg white. *Am. J. Nutr.*, 1989, volume 119, 1583-1592.

SEWARD, J. P. & GREATHOUSE, S. R. Appetitive and aversive conditioning in thiamine-deficient rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1973, volume 83, 157-67.

SGARBIERI, V. C., AMAYA, J. ; TANAKA, M. & CHICHESTER, C. O. Response of rats to amino acid supplementation of brown egg albumin. *J. Nutr.*, 1973, volume 103 (12):1731-8.

SHOR-POSNER, G. ; GRINKER, J. A. ; MARINESCU, C. ; BROWN, O. & LEIBOWITZ, S. F. Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. *Brain Res. Bull.*, 1986, volume 17 (5), 663-71.

SIDRANSKY, H. & VERNEY, E. Chemical pathology of acute amino acid deficiencies. VIII. Influence of amino acid on intake on the morphologic and biochemical changes in young rats force-fed a threonine devoid diet. *Am. J. Nutr.*, 1965, volume 86, 73-81.

SIMSON, P. C. & BOOTH, D. A. Effect of CS-US interval on the conditioning of odour preferences by amino acid loads. *Physiol. Behav.*, 1973, volume 11 (6), 801-8.

- SIMSON, P. C. & BOOTH, D. A. The rejection of a diet wick has been associated with a single administration of an histidine-free amino acid mixture. *Brit. J. Nutr.*, 1974, volume 31, 285-297.
- SLATER, P. J. B. & LESTER, N. P. Minimising errors in splitting behaviour into bouts. *Physiol. Behav.*, 1982, volume 79, 153-161.
- SMITH, B. K. ; ANDREWS, P. K. & WEST, D. B. Macronutrient diet selection in thirteen mouse strain. *Am. J. Physiol.*, 2000, volume 278, R797-R805.
- SMITH, Q. E. B & JOHNSON, B. C. Studies of amino acid requirements of adult rats. *Brit. J. Nutr.*, 1967, volume 21, 17-27.
- STEFFENS, A. B. A method for frequent sampling of blood and continuous infusion of fluids in the rat without disturbing the animal. *Physiol. Behav.*, 1969, volume 4, 833-836.
- STUBBS, R. J. Macronutrient effects on appetite. *Inter. J. Obes.*, 1995, volume 19 (5): S11-S19.
- SUNDAY, S. R., SANDERS, S. A. & COLLIER, G. Palatability and meal patterns. *Physiol. Behav.*, 1983, volume 30 (6), 915-8.
- SZOSTAK, C. ; JAKUBOVIC, A. ; PHILLIPS, A. G. & FIBIGER, H. C. Bilateral augmentation of dopaminergic and serotonergic activity in the striatum and nucleus accumbens induced by conditioned circling. *J. Neurosci.*, 1986, volume 6 (7), 2037-44.
- TEFF, K. L. ; YOUNG, S. N. & BLUNDELL, J. E. The effect of protein or carbohydrate breakfasts on subsequent plasma amino acids levels satiety and nutrient selection in normal males. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1989, volume 34, 829-837.
- TEWS, J. K. ; GREENWOOD, J. ; PRATT, O. E. & HARPER, A. E. Threonine entry into rat brain after diet-induced changes in plasma amino acids. *J. Neurochem.*, 1987, volume 48, 1879-1886.
- TEWS, J. K. ; REPA, J. J. & HARPER, A. E. Induction of conditioned taste aversion in rats by GABA or other amino acids. *Physiol. Behav.*, 1987, volume 42, 591-597.
- TEWS, J. K. ; REPA, J. J. & HARPER, A. E. Protein selection by rats adapted to high or moderately low levels of dietary protein. *Physiol. Behav.*, 1992, volume 51, 699-712.
- THOUZEAU, C. ; LE MAHO, Y. & LARUE-ACHAGIOTIS, C. Refeeding in fasted rats: dietary self-selection according to metabolic status. *Physiol. Behav.*, 1995, volume 58 (6), 1051-8.
- TOKUNAGA, K. ; FUKUSHIMA, M. ; LUPIEN, J. R. ; BRAY, G. A. ; KEMNITZ, J. W. & SCHEMMEL, R. Effects of food restriction and adrenalectomy in rats with VMH or PVH lesions. *Physiol. Behav.*, 1989, volume 45, 1131-1137.

TORII, K. ; MIMURA, T. & YUGARI, Y. Biochemical mechanism of umami taste perception and effect of dietary protein on the taste preference for amino-acids and sodium chloride. In : Kare, M.R.(éd.). *Umami : a basic taste*. New York : Marcel Dekker, 1987, 50 p.

TOYOMIZU, M. ; KIMURA, S. ; HAYASHI, Y. & TOMITA, Y. Body protein and energy accretion in response to dietary protein level in mice from weanling to maturity. *Am. J. Nutr.*, 1989, volume 119, 1028-1033.

TRAUB, R. J. ; SENGUPTA, J. N. & GEBHART, G. F. Differential c-fos expression in the nucleus of the solitary tract and spinal cord following noxious gastric distention in the rat. *Neuroscience.*, 1996, volume 74 (3), 873-84.

TRIGAZIS, L. ; ORTTMANN, A. & ANDERSON, G. H. Effect of cholecystokinin-A receptor blocker on protein induced food intake suppression in rats. *Am. J. Physiol.*, 1997, volume 272, R1826-R1833.

VAN LOON, L. J. C. ; SARIS, W. H. M. ; VERHAGEN, H. & WAGENMAKERS, A. J. M. Plasma insulin responses after ingestion of different amino acid or protein mixtures with carbohydrate. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, volume 72 (1), 96-105.

WALLS, E. K. & KOOPMANS, H. S. Differential effects of intravenous glucose, amino acids, and lipid on daily food intake in rats. *Am. J. Physiol.*, 1992, volume 262 (31), R225-R234.

WATERLOW, J. C. The requirements of adult man for indispensable amino acids. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1996, volume 50 (1), S151- S179.

WEINGARTEN, H. P. ; CHANG, P. K. & MCDONALD, T. J. Comparison of the metabolic and behavioural disturbances following paraventricular- and ventromedial-hypothalamic lesions. *Brain Res. Bull.*, 1985, volume 14, 551-559.

WESTPHAL, S. A. ; GANNON, M. C. & NUTTALL, F. Q. Metabolic response to glucose ingested with various amounts of protein. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990, volume 52, 267-272.

WILLIAMS, G. ; HARROLD, J. A. & CUTLER, D. J. The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis : lifting the lid on black box. *Proc. Nutr. Soc.*, 2000, volume 59, 385-396.

YANG, Z. J. ; MEGUID, M. M. ; CHAI, J. K. ; CHEN, C. & OLER, A. Bilateral hypothalamic dopamine infusion in male Zucker rat suppresses feeding due to reduced meal size. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, volume 58, 631-635.

ZAHORIK, D. M. & MAIER, S. F. Preference for tastes paired with recovery from thiamine deficiency in rats . *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1974, volume 187, 1083-1091.

ANNEXES

Annexe 1 Définitions

Dans la partie suivante, nous allons tenter de définir les termes que nous avons utilisés dans notre travail tout en signalant si des critiques de ces définitions ont été formulées.

1. Satiété, rassasiement, faim

Satiété. Elle est définie comme l'absence de faim ou plus exactement de motivation alimentaire, qui caractérise les périodes interprandiales. Elle a souvent été distinguée du **rassasiement** (« *satiation* » en anglais), qui désigne l'ensemble des mécanismes qui mettent fin à l'ingestion d'un aliment ou d'un repas. La satiété induite par un repas peut être décrite de façon comportementale par l'intervalle de temps séparant ce repas de la sensation de **faim** déclenchant le début du repas suivant, et/ou de la quantité énergétique ingérée lors de ce second repas.

Rassasiement conditionné. D'abord mis en évidence chez le rat il y a plus de 40 ans par Le Magnen, puis démontré chez l'homme par Booth, Mather et Fuller (1982), le rassasiement conditionné permet à l'organisme d'anticiper sur les effets postingestifs prévisionnels des aliments ingérés. Le fondement du rassasiement conditionné est un double apprentissage inconscient qui permet d'établir des liens entre, d'une part l'image sensorielle d'un aliment, et d'autre part les effets post-absorptifs que celui-ci a induit lors de ses consommations antérieures. Lorsqu'un même aliment doit être à nouveau consommé tout se passe comme si le cerveau, identifiant la même image sensorielle, se référerait, pour déterminer la quantité à consommer, à une table de composition des aliments mémorisée et réactualisée après chaque nouvelle ingestion. Par ce processus le consommateur peut arrêter sa prise alimentaire dès qu'il a ingéré la quantité d'aliments nécessaire et suffisante à la satisfaction de ses besoins nutritionnels. La mise en jeu d'un tel processus dans le cadre de la prise alimentaire normale de l'homme a été démontré, mais ce mécanisme est évidemment provisoirement inopérant lors de la première ingestion d'un aliment, ou en cas de tromperie sensorielle parce que l'aliment contient un substitut de goût (un édulcorant intense ou un substitut lipidique). Plusieurs essais sont en effet nécessaires pour que l'organisme ajuste correctement sa consommation au contenu nutritionnel réel de l'aliment.

Rassasiement spécifique sensoriel. Il signifie que chaque aliment lors de sa consommation, va induire après un certain temps d'ingestion un rassasiement qui lui est spécifique. Il s'agit d'un phénomène conditionné qui est associé aux propriétés

organoleptiques de l'aliment. Ainsi, des rats ont plus consommé un même aliment le premier jour après que la flaveur associée à cet aliment eut été enlevée (Le Magnen, 1956). D'autres expériences ont confirmé ce mécanisme (Rolls, Van Duijvenvoorde & Rowe, 1983).

2. Palatabilité et acceptabilité

Berridge (1996) suggère qu'il ne faut pas confondre la palatabilité d'un aliment avec le fait que l'individu ait envie de le manger (appétit). La palatabilité désigne la composante affective alimentaire chez l'homme comme chez l'animal. La palatabilité dépend pour une large part des propriétés intrinsèques des aliments notamment de leurs propriétés organoleptiques (qui déterminent les composantes discriminatives qualitatives et quantitatives des sensations olfactives et gustatives alimentaires). Cependant, la palatabilité ne doit pas être confondue avec les propriétés organoleptiques. En effet, la palatabilité d'un même aliment (donc sa perception affective) peut être très variable d'un moment à l'autre selon l'état énergétique interne du sujet, son histoire alimentaire (qui détermine des conditionnements), et aussi en fonction de facteurs environnementaux comme la température ambiante la présence ou l'absence d'autres sources alimentaires. Selon Le Magnen (1992), la perception qualitative et/ou quantitative d'une caractéristique organoleptique est indépendante d'une modification comportementale alors que la palatabilité ne l'est pas. Palatable ou aversif, le goût sucré reste un goût sucré et n'est pas modifié en un autre goût. Campbell (1958) a montré que le seuil préférentiel pour une solution de glucose était considérablement modifié par la déprivation alimentaire tandis que le seuil de détection du goût sucré ne l'était pas. Le Magnen (1985), Booth et Thibaut (2000) s'opposent au concept de palatabilité fixe représentant une qualité intrinsèque de l'aliment qui pourrait s'opposer ou favoriser l'installation de la satiété.

Palatabilité innée. Les goûts sucrés et salés sont des stimuli inconditionnés qui favorisent la consommation. Il est possible que certaines flaveurs entrent aussi dans cette catégorie mais cela n'est pas montré (Le Magnen 1992). De même, les goûts acide et amer sont des stimuli inconditionnés aversifs.

Palatabilité initiale. Selon Davis et Campbell (1973) et Le Magnen (1992), la mesure de la palatabilité initiale doit se faire à l'aide des vitesses initiales d'ingestion et non pas à l'aide de la mesure de la quantité ingérée. La palatabilité initiale n'est pas fixe. Elle est déjà fonction de la somme de stimuli externes et internes qui poussent l'individu à manger.

Palatabilité conditionnée. La préférence pour le goût sucré doit s'accompagner d'un renforcement (apport énergétique) sinon elle s'éteint rapidement (cas de disparition de la préférence pour l'eau saccharinée chez des rats déprivés (Le Magnen, 1954). Une palatabilité génétiquement déterminée n'est donc maintenue que si elle est renforcée par l'effet post ingestif

ad hoc. De même, Harris, Hargreaves & Ward (1933) puis Rozin (1976) ont montré que des rats déficients en vitamines B1 choisissent préférentiellement l'arôme associé à un aliment contenant la vitamine B1. Il s'agissait donc d'une préférence ou appétit appris.

Mesure de la palatabilité. La quantité ingérée peut être utilisée mais il faut s'en méfier compte tenu des biais possibles (par exemple nutritionnels). La vitesse d'ingestion initiale peut être un bon critère dans la mesure où les conséquences post ingestives de l'alimentation sont évitées (Baumont, 1996 & Le Magnen, 1992). Des études de microstructures peuvent aussi donner des informations (vitesse d'ingestion, nombre et durée des bouffées alimentaires et des pauses). Ainsi, une nourriture palatable se traduit par une augmentation de la vitesse d'ingestion et de la taille du repas. Au contraire une nourriture peu palatable se traduit par une diminution de la vitesse d'ingestion de la taille des bouffées alimentaires (Levitsky, 1970 ; Blundell, Rogers & Hill, 1985). Selon Sunday, Sanders et Collier (1983), la réponse à des choix fournit des informations notamment sur les palatabilités relatives de deux aliments si les deux aliments ingérés séparément n'induisent pas des différences nutritionnelles (prise de poids, quantité ingérée, etc...). La palatabilité peut être étudié par le test de réactivité gustative (Berridge, 1996).

3. Néophilie et néophobie

Néophobie. Le terme de néophobie correspond à la peur d'un animal pour ce qui est nouveau (Barnett, 1958). Ce comportement se traduit par (a) une hésitation devant un nouvel aliment, (b) par une ingestion de petites quantités de l'aliment en attendant d'en connaître les effets (Rzozka, 1953) et (c) par une tendance à ne goûter qu'un aliment à la fois lorsqu'il est face à plusieurs aliments nouveaux (Rozin, 1968). Cette tendance naturelle aurait pour objectif de protéger l'animal des conséquences délétères éventuelles liées à l'ingestion de l'aliment nouveau. En 1981, Miller et Holzman ont montré que la néophobie est fonction de plusieurs facteurs : le type d'animal, son âge, son expérience passée, le type d'aliments présentés. Lors de présentations répétées de ce nouvel aliment, la quantité ingérée augmente et redevient normale. Il y a « **familiarisation** » si l'ingestion répétée de l'aliment nouveau n'est pas suivi d'effets délétères. La familiarisation dépend du nombre d'exposition et de leur durée et non de l'intervalle qui séparent les expositions. Elle peut s'exprimer après un long délai (90 jours, Best, Domjan & Haskins, 1978). De plus, un animal, qui a connu par le passé une aversion alimentaire, présentera une **néophobie renforcée** à tout nouvel aliment (Caroll *et al.*, 1975).

Néophilie. Elle désigne la tendance inverse chez l'animal à essayer un nouvel aliment vraisemblablement afin de diversifier ses apports de nourriture. Face à un nouvel aliment, tout

omnivore est soumis au couple néophobie–néophilie, l'un l'emportant sur l'autre en fonction de critères tels que le type d'animal, son âge, son expérience passée, le type d'aliments présentés.

4. Préférences et aversions conditionnées

Certaines *préférences et aversions peuvent être innées*. Par exemple l'attrait pour la saveur sucrée ou le rejet de l'amer ou de l'acide, très largement manifestées par la plupart des espèces vivantes, peuvent être modulées par les expériences alimentaires antérieures. Cette transformation résulte d'un apprentissage désigné *aversion ou préférence conditionnée*. Face à un nouvel aliment de saveur jusqu'alors inconnue, les êtres vivants manifestent une méfiance naturelle (néophobie) qui réduit la quantité ingérée la première fois. Mais si cette première ingestion est suivie d'effets bénéfiques pour la balance énergétique ou si elle permet la correction d'une carence nutritionnelle, la palatabilité de cet aliment augmente, si bien que ce même aliment sera plus facilement choisi et consommé ultérieurement. En revanche, si la première consommation est suivie d'un malaise, l'aliment devient détestable et il sera désormais rejeté, parfois définitivement. Dès lors le sujet manifeste à son égard une vive aversion qui peut n'être sans aucun rapport avec les qualités intrinsèques de l'aliment. En effet, le rejet est le même que l'aliment soit nutritionnellement bon et utile et que le malaise digestif ait été fortuit, ou que l'aliment soit toxique. Cette aversion est dite "conditionnée" car, n'existant pas initialement, elle a été acquise suite à la première expérience de consommation du produit à l'égard duquel elle s'exerce désormais.

Aversion gustative conditionnée. Ce processus est aussi appelé « effet Garcia » du nom du premier auteur à l'avoir décrit (Garcia, Hankins & Rusiniak, 1974) ou encore conditionnement d'aversion gustative (« *Conditioned taste aversion* », CTA) car de nombreuses études se sont servies d'un goût nouveau pour établir une aversion. Le conditionnement des aversions alimentaires a des caractéristiques uniques qui font exception aux lois usuelles des apprentissages. **(i)** Une seule association entre stimulus conditionnel (la nouvelle saveur) et stimulus inconditionnel (les effets post-ingestifs négatifs) peut être suffisante pour qu'il s'établisse de façon très forte, parfois définitive, notamment si le malaise digestif a été particulièrement intense. Certains traitements nosogènes semblent plus efficaces que d'autres dans le cas des aversions alimentaires. Une aversion peut être créée par un simple déséquilibre physiologique dans le cas de l'absorption d'un régime déficient en AAE (Simson & Booth, 1973 ; 1974). Mais pour un traitement nosogène donné, l'intensité et/ou la répétition de l'administration de doses semblent influencer la force de l'aversion induite (revue dans Royet, 1982). **(ii)** Les effets délétères à long terme ne sont pas nécessaires pour l'acquisition et le renforcement de l'aversion. Ainsi par exemple, les résultats de Sidransky &

Verney (1965) ont montré, qu'après trois jours d'ingestion *ad libitum* d'un régime dépourvu d'un AAE, aucune conséquence pathologique n'était observée alors que les rats, forcés pendant 3 jours à ingérer une quantité supérieure de régime dépourvu d'un AAE, subissaient des conséquences pathologiques. **(iii)** Un conditionnement d'aversion gustative est un apprentissage très robuste et difficile à éteindre. Une fois acquise une aversion gustative conditionnée sera retenue par l'individu pendant une très longue période : par exemple jusqu'à 90 jours (Dragoin *et al.*, 1973) et vraisemblablement plus. Une aversion conditionnée peut être généralisée à d'autres produits alimentaires de composition sensorielle proche. Une aversion a pu être acquise pour de l'eau (offerte dans certaines conditions) chez le rat et en cas d'aversion maximum, les rats se sont laissé mourir de soif (Danguir & Nicolaïdis, 1977). Une fois éteint, un conditionnement d'aversion gustative est très difficile à réapprendre (Danguir et Nicolaïdis, 1977). **(iv)** Dans un conditionnement, les animaux relient préférentiellement certains signaux externes en fonction de l'événement inconditionné. Par exemple, un malaise gastro-intestinal est facilement associé à un nouveau goût. Ceci a été démontré par Garcia et Koelling (1966). En continuité avec le principe de la préparation, ***le caractère saillant du stimulus conditionné*** est le fait que certaines caractéristiques organoleptiques de l'aliment soient plus conditionnantes que d'autres. Par exemple, Kalat et Rozin (1970) ont montré que, dans des conditions équivalentes, l'aversion décroissait respectivement quand on employait une solution d'hydrolysate de caséine (5%), salée (0.15M), sucrée (10%), vanillée (0.17%). ***Les saveurs seraient conditionnantes*** (Pain & Booth, 1968) *mais moins que les goûts* (Garcia, Hankins & Rusiniak, 1974 ; Rozin, 1976). Enfin, ce phénomène existe chez l'homme : il a été particulièrement étudié par Bernstein (Bernstein & Webster, 1985) chez des enfants leucémiques recevant une glace d'un goût nouveau juste avant chimiothérapie dont on connaît les effets délétères au niveau digestif (Braveman & Bronstein, 1985).

Préférence alimentaire. Chez les psychologues alimentaires, le concept de préférence alimentaire pour un des aliments donnés en choix a dominé historiquement jusqu'à la deuxième guerre mondiale. Puis, l'importance du concept du conditionnement d'aversion gustative à long délai a prévalu à la suite des travaux de Garcia dans le cas des aversions alimentaires induites par les rayons X et de Rozin dans le cas des aversions induites par l'avitaminose B. Néanmoins, les conditionnements gustatifs ne sont pas uniquement générateurs d'aversions mais peuvent également donner lieu à la mise en place de préférences apprises. Des animaux déficients en un micronutriment ou un macronutriment peuvent acquérir des préférences gustatives conditionnées pour des aliments dont l'ingestion est suivie par un renforcement positif de leur état physiologique (thiamine : Zahorik & Maier, 1974 ; amidon : Sclafani & Nissenbaum, 1988 ; saccharine et saveurs : Capaldi & Hunter, 1994). De même, une préférence pour un régime associé au recouvrement d'une déficience en thréonine

a été montrée par Gietzen et Beverly (1992). Seward et Greathouse (1973) ont directement comparé les forces respectives des deux mécanismes d'aversion et de préférence apprises. Ils ont montré que le mécanisme d'aversion est beaucoup plus rapide et marqué. Pourtant, Rozin (1990) a fait remarquer que s'il est important pour un omnivore de pouvoir reconnaître ce qui est néfaste pour lui, il est tout aussi important de discriminer ce qui est bon pour lui. Booth (1985) a contesté la généralisation des résultats dérivés des travaux sur la thiamine et sur le conditionnement aversif à l'aide de rayons X ou de drogues. Il considère que ce sont des cas extrêmes peu fréquents dans la nature. Pour Booth (1985), il vaut mieux travailler avec des conditions de déprivation partielle.

Mesure ou Expression d'une aversion conditionnée. Elle peut être exprimée aussi par le rejet d'une saveur associée au régime délétère. Lorsque des rats ont ingéré un nouveau régime délétère en même temps qu'une nouvelle saveur, ils éviteront l'ingestion de la nouvelle saveur s'ils en ont la possibilité (Le Magnen, 1992 ; Simson & Booth, 1973 ; Naito-Hoopers *et al.*, 1993). On peut supposer que si un régime hyperpotéique induit une aversion conditionnée, des rats, ayant expérimenté un tel régime en association avec une nouvelle saveur, évitent la nouvelle saveur dès qu'ils en ont la possibilité. Ils exprimeraient ainsi une néophobie induite.

Annexe 2 Techniques

1. Schéma du dispositif expérimental d'administration de charge, d'enregistrement de la prise alimentaire et de prélèvement du sang

Le schéma du dispositif expérimental consiste en : (1) à placer, des rats porteurs de cathéters buccaux et/ou veineux, dans des cages cylindriques en plexiglas équipées d'un système de joint tournant et de balancier pour que le cathéter reste tendu en permanence au dessus de la tête du rat, (2) à infuser pendant 10 min les charges dans le cathéter buccal par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique munie de cathéters alimentaires 1h avant le repas test, (3) à prélever du sang veineux avant et après le repas test et (4) à enregistrer la prise alimentaire lors du repas test à l'aide d'un système informatique (**Figure 38**).

2. Préparation du cathéter veineux

(i) **« Pièce de tête »** : cette étape consiste à insérer une pince fine de taille moyenne dans le manchon de silastic 155 ; écarter la pince et faire glisser le cathéter silastic 135 de 130 mm de long dans le manchon. Placer le manchon à 50 mm. (ii) **Tube courbé de la « pièce de tête »** : il s'agit de sectionner délicatement l'extrémité pointue de l'aiguille bleue (23Gx1^{1/2}) après avoir donné un coup de lime sec. Limer le tour de l'ouverture et l'intérieur du trou (à l'aide de l'aiguille verte : 21Gx1^{1/2}) à l'aide d'une lime anguleuse. Donner une courbure régulière au tube à l'aide d'une pince à clamer, puis sectionner comme précédemment l'extrémité coté support plastique et limer (former un angle d'environ 60°). (iii) **Tube plastique de la « pièce de tête »** : cette pièce est utilisée pour éviter le reflux de sang lors des prélèvements en la pinçant avant de retirer le bouchon. Enfiler le tube fin Technicon 1.5 cm, sur une aiguille bleue coupée. Mouiller l'extérieur du tube fin à l'aide du compte goutte d'acétone et très rapidement l'enfiler dans le tube Technicon 1 cm de diamètre supérieur (ou bien déposer quelques gouttes d'acétone à l'intérieur du gros tube et enfiler le tube fin) (**Figure 39**).

3. Préparation du cathéter buccal

(i) **« Bouchon » du cathéter** : il est constitué d'un cathéter polyéthylène (diamètre externe 0,70 mm, longueur : 4,5 cm) relié à son extrémité par chauffage à un embout plus large (longueur : 1 cm), pouvant s'enfiler sur le coude métallique. Ceci doit permettre une bonne fixation du bouchon sans pour autant être accessible au rat. (ii) **Cathéter buccal** : il est constituée d'un tube en polyéthylène (diamètre : 1.4 mm et longueur : de 4 cm), relié à un

tube en acier (diamètre externe : 1.2 mm et longueur : 1.5 cm) préalablement coudé d'un angle d'environ 50°. L'extrémité du cathéter (côté buccal) est élargie par chauffage pour le maintenir au niveau de la joue du rat (**Figure 40**).

Annexe 3 Tableaux

Tableau 1. Composition du régime standard de laboratoire

Ingrédients	Quantité (g/kg)
Protéines	140
Lipides	50
Glucides	620
Energie métabolisable (kJ/g)	13.4

Harlan, Teklad Global 14%, N° 2014.

Tableau 2. Composition des régimes expérimentaux

Ingrédients	Quantité (g/kg)			
	P14	P50	G50	S50
	(MS:77%)	(MS:77%)	(MS:77%)	(MS:90%)
Protéines	140	500	500	500
Amidon de maïs pré-gélatinisé	622.4	312.7	312.7	312.7
Saccharose	100.3	50	50	50
Huile de soja	40	40	40	40
Mélange des sels minéraux AIN 93G	35	35	35	35
Mélange vitaminique AIN 93G	10	10	10	10
Cellulose	50	50	50	50
Choline	2.3	2.3	2.3	2.3
Energie métabolisable (kJ/g)	14.89	15.77	14.65	15.87

Régime normoprotéique contenant 14% de protéine de lait totales (P14) et régimes hyperprotéiques, contenant 50% de protéines de lait totales (P50), 50% de gluten (G50) et 50% de protéines de soja (S50)¹.

¹Les protéines sont fournies par *Nutrinov* (Rennes, France).

Tableau 3. Composition en acides aminés des trois protéines utilisées dans les régimes expérimentaux : gluten, protéines de lait totales (PLT) et protéine de soja.

Acides aminés totaux	Protéines totales de lait	Gluten	Soja
Asp	6.9	2.4	10.2
Ser	5.0	4.3	4.9
Glu	18.3	31.2	17.1
Gly	1.6	2.7	3.7
His	2.2	1.7	2.3
Arg	3.5	3.1	6.7
Thr	4.1	2.2	3.5
Ala	3.2	2.2	3.8
Pro	8.4	9.6	4.6
Cys	0.9	1.6	0.5
Tyr	4.4	3.0	3.3
Val	5.3	2.9	3.5
Met	2.3	1.0	1.1
Lys	6.8	1.0	4.9
Ile	4.2	2.5	3.5
Leu	9.1	5.5	6.8
Phe	4.4	4.3	4.6
Somme	90.7	80.9	84.9
Acides aminés libres	Indétectables	Indétectables	Indétectables

Tableau 4. Composition des charges

Charges	Glucides (g)	Protéines (g)	Total (g)	Energie Métabolisable (kJ)	Eau (ml)
GLT-0%	3.8	0	3.8	55 kJ	10
GLT-100%	0	3.2	3.2	-	-
GLT-50%	1.9	1.7	3.6	-	-
GLT-35%	2.8	0.8	3.6	-	-
PLT-50%	1.9	1.7	3.6	-	-
SOJA-50%	1.9	1.7	3.6	-	-
ALB-50%	1.9	1.7	3.6	-	-

GLT-0% (amidon de blé 100% pour les glucides), GLT-100% (gluten 100% pour les protéines), GLT-50% (gluten 50% mélangé avec l'amidon de blé 50%), GLT-35% (gluten 35% mélangé avec l'amidon de blé 65%), PLT-50% (protéine de lait totale à 50% mélangé avec l'amidon de blé 50%), SOJA-50% (soja 50% mélangé avec l'amidon de blé 50%) et ALB-50% (α -lactalbumine à 50% mélangé avec l'amidon de blé 50%).

Tableau 5. Paramètres décrivant la séquence alimentaire du rat.

Taille du repas (gr ; kcal ; kJ ; nombre de croquettes calibrées ingérées / repas)

Durée du repas (min.)

Vitesse d'ingestion (gr/min ; kcal/min ; kJ/min... rapport de la taille du repas sur sa durée)

Intervalles *inter-repas* ou IMI (min)

Fréquence des repas

Tableau 6. Description des expressions faciales et corporelles recensées dans le test de réactivité gustative.

Expressions Faciales Et Somatiques	Version Anglophone	Description	Mode
<u>HEDONIQUES</u>			
Protubérance de Langue	Tongue Protrusion	Extension médiane de la langue sur les babines supérieures	E
<i>Prot. Latérale de Langue</i>	Lateral TP	Extension latérale de la langue, avec relèvement alternatif des babines gauches et droites	E
<i>Léchage ses pattes avant</i>	Paw Licking	Se lécher les pattes avant	C
////////////////////////////////////			
<u>NEUTRES</u>			
<i>Mouvements de Mandibules</i>	Mouth Movement	Ouverture passive de la gueule du rat (de faible amplitude), sans aucune extension de la langue	C
////////////////////////////////////			
<u>AVERSIVES</u>			
<i>Ebrouements</i>	Head Shaking	Frissonnement de l'échine du rat (entraînant la tête), à la manière d'un chien qui s'ébroue	E
<i>Entrebâillements des Mandibules</i>	Gaping	Ouverture très rapide de la gueule, avec rétraction postérieure des mandibules, entraînant parfois l'expulsion de la langue hors de la gueule du rat	E
<i>Vibrations des pattes avant</i>	Forelimb Flailing	Vibrations horizontales, très rapide, des pattes avant	E
<i>Frottement des pattes avant</i>	Paw Treading	L'animal étend alternativement, dans un mouvement de friction, ses pattes avant sur le plancher (ou autre surface)	E
<i>Frottement du menton</i>	Chin Rubbing	Friction du menton sur le plancher, avec pour effet de rejeter le corps du rat vers l'arrière.	E

Le mode E ou C se réfèrent au mode de comptage de l'action en question. E : événementiel, un score de 1 est attribué à chaque apparition de l'action. C : continu, un score de 1 pour chaque apparition de l'action dans un laps de temps compris entre 1 et 5s. Pour chaque période de 5s supplémentaire, un nouveau score est attribué à l'action.

Tableau 7. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant de la PLT (P50).

		Quarts de cycle (h)				
		0-3	3-6	6-9	9-12	Total
Nombre de repas	P14, J ₀	5.0 ± 0.5	4.3 ± 0.5	3.7 ± 0.5	3.3 ± 0.5	16.1 ± 1.3
	P50, J ₁	5.0 ± 1.4	5.0 ± 0.8	2.3 ± 0.8^a	3.0 ± 0.7	15.0 ± 2.0
	P50, J ₂	3.8 ± 0.2^a	3.5 ± 0.2	2.8 ± 0.2	3.0 ± 0.6	12.7 ± 0.8^a
IMI (min)	P14, J ₀	29.5 ± 2.9	37.9 ± 3.4	47.0 ± 7.4	40.6 ± 6.7	38.5 ± 4.6
	P50, J ₁	38.3 ± 15.5	32.2 ± 6.8	48.1 ± 19.3	51.1 ± 12.3	41.0 ± 6.9
	P50, J ₂	41.8 ± 7.0	41.6 ± 6.8	45.6 ± 10.2	39.4 ± 6.7	48.2 ± 5.3
Durée du repas (min)	P14, J ₀	6.9 ± 1.0	6.9 ± 1.1	6.4 ± 0.6	8.6 ± 2.0	7.1 ± 0.8
	P50, J ₁	10.8 ± 5.6	5.2 ± 1.3	9.6 ± 3.8	10.4 ± 1.0	8.9 ± 1.8
	P50, J ₂	6.4 ± 1.2	7.7 ± 1.3	8.7 ± 1.4	9.6 ± 2.4	8.7 ± 0.8
Taille du repas (KJ)	P14, J ₀	22.9 ± 1.8	26.4 ± 2.0	21.7 ± 3.5	17.1 ± 1.9	22.1 ± 1.2
	P50, J ₁	16.9 ± 6.0	10.6 ± 1.8^c	14.0 ± 4.6^c	14.9 ± 3.4	12.6 ± 1.9^b
	P50, J ₂	14.8 ± 1.3^b	22.4 ± 3.6	19.2 ± 1.5	19.3 ± 5.0	19.8 ± 1.6
Vitesse d'ingestion (kJ/min)	P14, J ₀	3.6 ± 0.4	4.6 ± 0.5	3.6 ± 0.5	2.7 ± 0.3	3.7 ± 0.2
	P50, J ₁	2.2 ± 0.7^b	2.6 ± 0.7^a	1.8 ± 0.6^b	2.1 ± 0.8	2.2 ± 0.6^a
	P50, J ₂	3.4 ± 0.5	2.8 ± 0.7^a	2.3 ± 0.3^a	2.1 ± 0.4	2.8 ± 0.3^a

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM. Les différences significatives (P50 *versus* P14) sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 8. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant du gluten (G50).

		Quarts de cycle (h)				
		0-3	3-6	6-9	9-12	Total
Nombre de repas	P14, J ₀	5.6 ± 0.8	4.0 ± 0.6	2.9 ± 0.4	2.1 ± 0.4	14.6 ± 1.4
	G50, J ₁	4.6 ± 0.5	4.3 ± 0.6	3.1 ± 0.3	1.3 ± 0.3^b	13.3 ± 0.9
	G50, J ₂	4.6 ± 0.8	3.9 ± 0.5	2.9 ± 0.4	2.1 ± 0.4	12.3 ± 1.3
IMI (min)	P14, J ₀	28.3 ± 3.6	27.7 ± 3.5	53.3 ± 7.7	25.4 ± 6.8	42.4 ± 5.1
	G50, J ₁	25.6 ± 2.0	28.8 ± 4.1	58.4 ± 13.3	28.5 ± 4.4	38.6 ± 2.5
	G50, J ₂	25.2 ± 1.9	39.8 ± 8.2	49.8 ± 11.1	33.6 ± 13.1	40.3 ± 4.3
Durée du repas (min)	P14, J ₀	7.6 ± 1.8	5.9 ± 0.7	9.1 ± 2.7	13.4 ± 3.3	7.6 ± 0.7
	G50, J ₁	9.0 ± 1.8	9.1 ± 1.9	11.4 ± 2.2	10.6 ± 2.1	9.7 ± 1.2
	G50, J ₂	7.8 ± 1.8	11.5 ± 2.0^a	17.5 ± 5.3	17.6 ± 5.0	11.5 ± 0.6^c
Taille du repas (KJ)	P14, J ₀	26.0 ± 2.2	28.7 ± 3.2	25.3 ± 1.5	18.3 ± 2.9	25.5 ± 2.3
	G50, J ₁	11.1 ± 1.8^c	20.5 ± 2.3^a	13.2 ± 1.4^c	13.7 ± 2.1	14.8 ± 1.0^b
	G50, J ₂	10.1 ± 0.2^c	18.7 ± 2.6^a	23.8 ± 3.5	19.3 ± 2.9	16.6 ± 1.5^b
Vitesse d'ingestion (kJ/min)	P14, J ₀	4.3 ± 0.3	4.9 ± 0.4	5.3 ± 0.7	4.1 ± 0.9	4.5 ± 0.4
	G50, J ₁	2.0 ± 0.2^c	1.6 ± 0.3^c	2.8 ± 0.4^b	1.5 ± 0.3^b	2.0 ± 0.2^c
	G50, J ₂	1.8 ± 0.2^c	1.5 ± 0.3^c	2.0 ± 0.3^b	1.7 ± 0.3^a	1.7 ± 0.2^b

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM. Les différences significatives (G50 versus P14) sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 9. Analyse par quart de cycle des paramètres de la séquence alimentaire lors de la transition, du régime normoprotéique (P14) vers le régime hyperprotéique contenant du soja (S50).

		Quarts de cycle (h)				
		0-3	3-6	6-9	9-12	Total
Nombre de repas	P14, J ₀	5.3 ± 0.5	4.3 ± 0.4	2.4 ± 0.3	4.0 ± 0.2	15.9 ± 0.6
	S50, J ₁	3.3 ± 0.5^b	2.5 ± 0.6^a	3.1 ± 0.7	1.8 ± 0.5^b	10.6 ± 1.7^b
	S50, J ₂	3.1 ± 0.5^b	3.3 ± 0.3	3.0 ± 0.2	2.6 ± 0.3^b	12.0 ± 0.5^c
IMI (min)	P14, J ₀	32.2 ± 4.6	30.9 ± 3.4	41.3 ± 11.7	31.1 ± 3.3	38.1 ± 2.4
	S50, J ₁	46.4 ± 17.4	57.2 ± 20.0	37.7 ± 4.0	31.9 ± 6.3	44.9 ± 5.8
	S50, J ₂	33.8 ± 5.7	37.2 ± 5.1	43.5 ± 6.5	30.5 ± 4.5	40.2 ± 2.0
Durée du repas (min)	P14, J ₀	8.3 ± 1.4	9.6 ± 1.8	9.0 ± 1.9	9.1 ± 1.9	8.9 ± 0.9
	S50, J ₁	12.4 ± 3.3	18.0 ± 8.3	10.2 ± 2.0	11.4 ± 3.0	12.3 ± 1.7
	S50, J ₂	11.1 ± 3.6	13.1 ± 3.0	11.4 ± 1.3	14.9 ± 3.3	12.0 ± 1.6
Taille du repas (KJ)	P14, J ₀	22.5 ± 1.7	28.8 ± 3.6	24.2 ± 3.4	18.2 ± 2.2	23.8 ± 1.2
	S50, J ₁	16.6 ± 5.7	28.3 ± 10.6	13.1 ± 2.5^a	14.8 ± 4.0	17.1 ± 2.4^a
	S50, J ₂	14.8 ± 1.3^b	22.4 ± 3.6	19.2 ± 1.5	26.4 ± 5.7	20.2 ± 2.0
Vitesse d'ingestion (kJ/min)	P14, J ₀	3.3 ± 0.3	4.1 ± 0.4	3.1 ± 0.3	2.7 ± 0.4	3.3 ± 0.2
	S50, J ₁	1.3 ± 0.2^c	1.7 ± 0.2^c	1.6 ± 0.2^b	2.1 ± 0.8	1.6 ± 0.2^c
	S50, J ₂	1.8 ± 0.3^b	2.1 ± 0.4^b	2.1 ± 0.3^a	2.2 ± 0.4	2.0 ± 0.3^b

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM. Les différences significatives (S50 *versus* P14) sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 10. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J₀) et HP (P50, J₁, J₂, J₃ et J₁₄) pendant la 1^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.

	P14, J ₀	P50, J ₁	P50, J ₂	P50, J ₃	P50, J ₁₄
Nombre	8.4 ± 1.4	15.9 ± 2.9^b	9.4 ± 2.0	6.0 ± 0.6	5.4 ± 0.9
Durée (sec)	88.7 ± 16.3	79.9 ± 12.1	90.1 ± 21.9	115.0 ± 17.9	103.7 ± 12.8
Vitesse d'ingestion (kJ/min)	8.5 ± 0.9	1.7 ± 0.2^c	5.0 ± 0.4^a	6.4 ± 0.5	8.2 ± 0.8
Energie ingérée (kJ) / Bouffées alimentaires	12.3 ± 2.3	2.3 ± 0.5^c	7.8 ± 0.8^a	12.1 ± 2.1	14.6 ± 2.5
Reniflements / bouffées alimentaire (%)	9.2 ± 2.2	17.4 ± 2.8^a	7.7 ± 2.8	12.1 ± 2.1	6.4 ± 1.4

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Les différences statistiques (P50 *versus* P14) sont exprimées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 11. Réactions gustatives et faciales, hédoniques, neutres et aversives (%), lors du régime NP (P14, J₀) et HP (P50, J₁, J₂ et J₁₄).

	Hédonique	Neutre	Aversif
P14, J ₀	100	100	100
P50, J ₁	125.2 ± 20.1	133.1 ± 30.8	182.3 ± 34.1^a
P50, J ₂	95.2 ± 21.4	90.1 ± 15.2	110.7 ± 25.1
P50, J ₁₄	110 ± 27.1	105.1 ± 12.1	131.1 ± 31.0

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. La différence statistique (P50 *versus* P14) est exprimée par la lettre a ($p < 0.05$).

Tableau 12. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J₀) et HP (G50, J₁, J₂, J₂ et J₁₄) pendant la 1^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.

	P14, J ₀	G50, J ₁	G50, J ₂	G50, J ₃	G50, J ₁₄
Nombre des bouffées alimentaires	6.5 ± 1.2	12.0 ± 1.7	10.0 ± 1.7	6.7 ± 1.0	7.5 ± 1.2
Durée des bouffées alimentaires (sec)	143.3 ± 19.2	130.4 ± 17.2	153.1 ± 22.5	223.8 ± 18.8	135.5 ± 35.7
Vitesse d'ingestion (kJ / min)	6.3 ± 1.4	1.3 ± 0.3^b	2.4 ± 0.6^a	2.6 ± 0.3^a	5.0 ± 1.1
Energie ingérée (kJ) / bouffées alimentaires	14.6 ± 3.0	2.9 ± 0.7^c	6.7 ± 2.1^a	10.0 ± 2.0	10.4 ± 3.1

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Les différences statistiques (G50 *versus* P14) sont exprimées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 13. Evolution des paramètres des bouffées alimentaires lors du régime NP (P14, J₀) et HP (S50, J₁, J₂, J₃ et J₁₄) pendant la 1^{ère} heure qui a suivi la présentation du régime.

	P14, J ₀	S50, J ₁	S50, J ₂	S50, J ₃	S50, J ₁₄
Nombre des bouffées alimentaires	7.0 ± 0.6	17.3 ± 4.2^c	4.0 ± 0.7	3.2 ± 0.7	5.3 ± 1.5
Durée des bouffées alimentaires (sec)	121.6 ± 11.9	77.8 ± 10.4	226.8 ± 53.5	214.7 ± 53.1	178.6 ± 56.1
Vitesse d'ingestion (kJ / min)	6.1 ± 0.9	1.9 ± 0.7^a	4.3 ± 1.1	7.2 ± 0.7	5.8 ± 0.6
Energie ingérée (kJ) / bouffées alimentaires	11.9 ± 1.2	2.5 ± 1.0^c	16.5 ± 4.8	24.8 ± 6.8	17.4 ± 6.6

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Les différences statistiques (S50 *versus* P14) sont exprimées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Tableau 14. Prise énergétique basale lors des trois repas quotidiens. (A) : groupes GLT (0%-100%) et (B) : groupes GLT, PLT, SOJA et ALB (50%).

Prise énergétique (kJ)				
(A)	GLT-0%	GLT-35%	GLT-50%	GLT-100%
Petit déjeuner	15.8 ± 0.6	13.9 ± 1.1	15.2 ± 0.5	13.7 ± 0.8
Déjeuner	39.4 ± 2.2	40.5 ± 2.5	37.7 ± 1.9	42.3 ± 1.6
Dîner	44.8 ± 2.1	45.6 ± 2.0	47.1 ± 1.9	45.3 ± 1.3
(B)	GLT-50%	PLT-50%	SOJA-50%	ALB-50%
Petit déjeuner	15.2 ± 0.5	15.1 ± 0.4	15.9 ± 0.6	14.1 ± 0.2
Déjeuner	37.7 ± 1.9	36.1 ± 2.1	34.1 ± 1	33.7 ± 0.9
Dîner	47.1 ± 1.9	48.7 ± 2.2	50.0 ± 1.1	52.2 ± 0.9

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM.

Tableau 15. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges protéiques GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% (A) et de la nature de la protéine des charges GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% (B) sur le gain de poids.

Gain de poids (g)				
(A)	GLT-0%	GLT-35%	GLT-50%	GLT-100%
Jour 1	2.5 ± 1.2	5.0 ± 1.1	5.9 ± 1.7	8.2 ± 1.9
Jour 2	11.5 ± 1.7	7.6 ± 1.2	8.7 ± 2.2	8.0 ± 1.4
Jour 3	14.7 ± 1.6	9.9 ± 1.6	13.6 ± 2.2	14.3 ± 2.0
Jour 4	21.0 ± 1.5^x	20.4 ± 2.4	20.5 ± 2.3	15.6 ± 2.3^x
(B)	GLT-50%	PLT-50%	SOJA-50%	ALB-50%
Jour 1	5.9 ± 1.7	4.8 ± 0.7	6.7 ± 1.3^x	4.5 ± 0.4^x
Jour 2	8.7 ± 2.2	8.8 ± 1.0	7.7 ± 1.4	8.8 ± 1.1
Jour 3	13.6 ± 2.2	15.0 ± 1.6	15.7 ± 1.5	13.5 ± 0.9
Jour 4	20.5 ± 2.3^y	23.5 ± 1.7	28.2 ± 2.7^y	22.4 ± 1.2^y

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM . Les différences statistiques en intergroupe sont représentées par les lettres : x ($p < 0.05$) et y ($p < 0.01$), respectivement.

Tableau 16. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50%, GLT-100% sur les paramètres de la séquence alimentaire (durée et taille du repas et vitesse d'ingestion) lors du dîner (repas test).

Paramètres du repas	Période	GLT-0 %	GLT-35 %	GLT-50 %	GLT-100 %
Durée du repas (min)	Basale	17.6 ± 1.1	16.1 ± 0.9	18.4 ± 1.2	18.3 ± 1.7
	Charge	18.4 ± 0.9^a	11.1 ± 1.0^{y, b}	10.2 ± 1.1^{y, b}	22.2 ± 4.2^a
Taille du repas (kJ)	Basale	132.5 ± 6.9	123.1 ± 11.3	123.9 ± 8.2	127.9 ± 6.2
	Charge	105.0 ± 7.3^{y, a}	62.4 ± 9.9^{z, b}	50.7 ± 4.4^{z, b}	53.4 ± 6.6^{z, b}
Vitesse d'ingestion (kJ/min)	Basale	8.3 ± 0.6	8.5 ± 1.1	7.4 ± 0.5	7.9 ± 1.1
	Charge	5.9 ± 0.6^z	6.5 ± 1.2^z	5.1 ± 0.5^z	3.0 ± 1.0^{z, a}

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$) et b ($p < 0.01$) et en intergroupe par les lettres : y ($p < 0.01$) et z ($p < 0.001$), respectivement.

Tableau 17. Prise énergétique basale (kJ) lors des trois repas quotidiens, dans les groupes GLT-0% et GLT-35%.

	Prise énergétique (kJ)			
	Petit déjeuner	Déjeuner	Dîner	Totale
GLT- 0 %	44.7 ± 0.0	106.4 ± 7.5	120.7 ± 4.9	271.8 ± 8.7
GLT- 35 %	44.7 ± 0.0	100.5 ± 3.4	125.8 ± 9.7	271 ± 9.9

Les données sont exprimées en moyennes ± SEM.

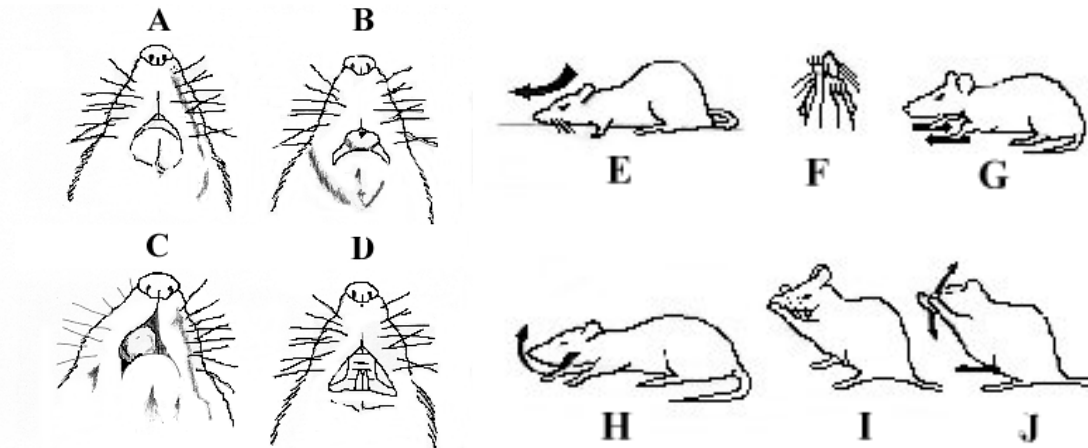
Tableau 18. Concentration plasmatique moyenne des acides aminés non essentiels ($\mu\text{mol/l}$), avant et après le repas test, lors de la période basale et la période de charge, dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%.

AANE	Dîner	GLT-0%		GLT-35%	
		Basal	Charge	Basal	Charge
Alanine	avant	210.7 \pm 22.7	250.9 \pm 17.1	233.7 \pm 24.9	299.0 \pm 24.4
	après	397.5 \pm 32.9	412.2 \pm 21.3	389.9 \pm 45.1	379.0 \pm 22.4
Arginine	avant	44.3 \pm 3.6	22.7 \pm 2.2^c	59.5 \pm 4.4^x	76.3 \pm 3.1^{a,z}
	après	43.4 \pm 5.1	60.6 \pm 5.3^a	71.6 \pm 5.2^y	75.8 \pm 2.7^z
Asparagine	avant	38.0 \pm 5.3	20.2 \pm 1.5^a	14.0 \pm 1.3^y	26.4 \pm 1.8^{c,x}
	après	42.5 \pm 3.8	37.3 \pm 3.4	38.4 \pm 4.7	28.1 \pm 2.4
Aspartate	avant	84.3 \pm 20.2	9.3 \pm 0.5^a	9.1 \pm 0.8^x	42.4 \pm 13.6
	après	11.2 \pm 1.4	11.3 \pm 1.2	14.6 \pm 1.8	16.6 \pm 1.8^x
Glutamate	avant	76.7 \pm 9.4	49.1 \pm 3.7^a	78.5 \pm 13.1	79.4 \pm 11.1^x
	après	87.7 \pm 7.4	65.2 \pm 3.1^a	83.0 \pm 15.5	72.1 \pm 8.6
Glutamine	avant	205.9 \pm 14.7	138.0 \pm 10.0^b	241.8 \pm 25.2	261.5 \pm 28.9^y
	après	265.5 \pm 24.2	234.8 \pm 12.8	317.2 \pm 26.9	254.9 \pm 30.2
Glycine	avant	174.9 \pm 17.9	142.5 \pm 10.6	183.3 \pm 18.8	202.6 \pm 17.7^x
	après	141.1 \pm 14.7	152.1 \pm 11.2	157.9 \pm 13.8	154.0 \pm 14.5
Proline	avant	206.0 \pm 26.7	189.0 \pm 14.1	153.7 \pm 26.9	326.9 \pm 35.0^{b,y}
	après	258.8 \pm 24.9	256.0 \pm 21.5	227.3 \pm 28.0	400.2 \pm 22.8^{b,y}
Sérine	avant	120.5 \pm 12.9	132.4 \pm 8.9	132.4 \pm 11.1	185.6 \pm 17.0^{a,x}
	après	199.3 \pm 17.5	205.3 \pm 12.2	187.2 \pm 18.3	204.4 \pm 13.2
Tyrosine	avant	42.1 \pm 4.8	27.1 \pm 2.2^a	56.7 \pm 5.3	80.2 \pm 5.5^{a,z}
	après	76.4 \pm 6.4	73.2 \pm 5.4	92.4 \pm 7.9	90.0 \pm 7.1

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques sont en horizontales. Les différences en intra-groupe (charge *versus* basal) sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et les différences en intergroupe (GLT-0% *versus* GLT-35%) sont représentées par les lettres : x ($p < 0.05$), y ($p < 0.01$) et z ($p < 0.001$).

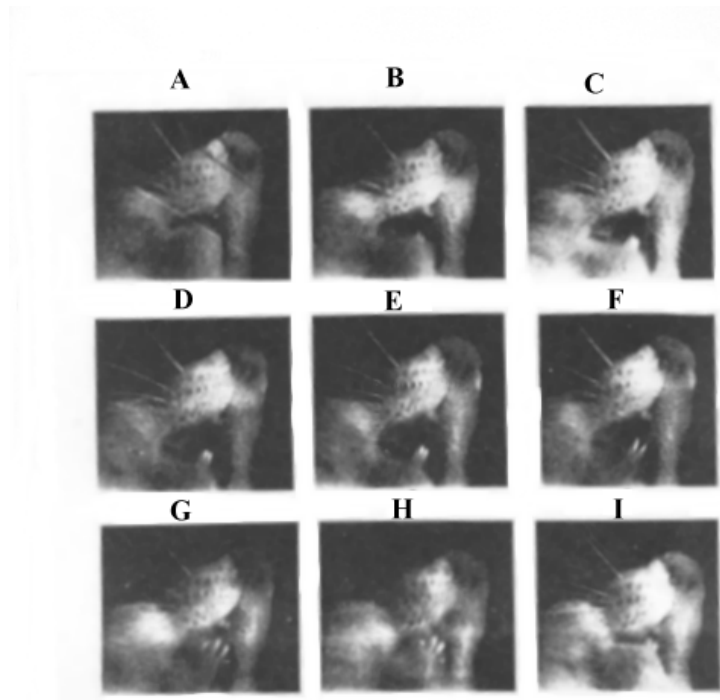
Annexe 4 Figures

Figure 1. Expressions faciales (dessins A à D) et somatiques (dessins E à J).



A : Mouvements des mandibules (neutre) ; B : Protubérance de langue (hédonique) ; C : Protubérance latérale de langue (hédonique) ; D : Entrebâillement des mandibules (aversif) ; E : Frottement du menton (aversif) ; F et G : Frottement des pattes avant sur les parois verticales de la cage, ou sur le sol (aversif) ; H : Ebrouement (aversif) ; I : Léchage des pattes avant (hédonique) ; J : Vibration des pattes avant (aversif) ; I+J : réalisés conjointement lors du toilettage (non comptabilisé). Tirés de Grill et Norgren (1978).

Figure 2. Développement image par image d'un entrebâillement des mandibules.



L'entrebâillement des mandibules diffère des simples mouvements passifs par une ouverture plus ample qui laisse apparaître les incisives du rat (planches C à H). Dans l'extension maximale (planche F), la langue sort parfois de la gueule du rat afin d'expulser le stimulus aversif. Tirés de Grill & Norgren (1978).

Figure 3. Implantation de cathéter dans la veine jugulaire droite chez le rat.

A : dégagement de la veine jugulaire. B : mise en place des fils de maintien du cathéter, ligature apicale et incision de la veine. C : introduction du cathéter à l'intérieur de la veine jugulaire. D : mise en place définitive du cathéter à l'aide du ciment dentaire.

Figure 4. Prise énergétique quotidienne des rats nourris au P14 (•) pendant toute l'expérience et des rats nourris au P50 (°) de J₁ à J₁₄.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques intergroupes sont exprimées par la lettre « y » ($p < 0.01$).

Figure 5. Evolution du poids corporel des rats nourris au P14 (•) et des rats au P50 (°).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques intergroupes sont exprimées par la lettre « y » ($p < 0.01$).

Figure 6. Prise énergétique quotidienne (%) lors du régime hyperprotéique (P50, G50 et S50) dans les groupes P50 (n=6), G50 (n=6) et S50 (n=6).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques intragroupes sont exprimées par les lettres « a » ($p < 0.05$) et « b » ($p < 0.01$).

Figure 7. Evolution de la prise de poids cumulée dans les groupes P50 (n=6), G50 (n=6) et S50 (n=6) lors du dernier jour de P14 et lors du 1^{er} et dernier jour de régime hyperprotéique (P50, G50 et S50).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 8. (a) Prise énergétique cumulée lors de la transition du régime P14 (J_0) vers le régime P50 (J_1 et J_2) ; ($n=8$).

(b) Lissage polynomial des courbes P50, J_1 et J_2 . Les équations des courbes P50 (J_1 et J_2) de prise alimentaire ont été calculées par régression polynomiale.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 9. Prise énergétique cumulée (kJ) lors de la transition du régime P14 (J_0) vers le régime P50 (J_1 et J_2) ; (n=8) durant les 30 premières minutes.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 10. Prise énergétique par quart de cycle (kJ) lors de la transition du régime P14 (J_0) vers le régime P50 (J_1 et J_2) ; (n=8).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Différences statistiques (P14 *versus* P50) sont exprimés par les lettres « a » ($p<0.05$) et « c » ($p<0.001$).

Figure 11. Paramètres du repas (nombre, IMI, durée, taille et vitesse d'ingestion) et énergie ingérée totale en fonction du jour de présentation des régimes P14 (J_0) et P50 (J_1 et J_2) ; $n=8$.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques (P14 *versus* P50) sont représentées par les lettres « a » ($p<0.05$), « b » ($p<0.01$) et « c » ($p<0.001$).

Figure 12. Prise énergétique cumulée (kJ), des groupes P 50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), après adaptation au régime de P14 (J₀) et passage au régime P50 (J₁ et J₂).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 13. Prise énergétique cumulée (kJ) pendant les 30 premières minutes des groupes P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), après adaptation au régime de P14 (J₀) et passage au régime P50 (J₁ et J₂), respectivement.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 14. Prise énergétique par quart de cycle des groupes P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6), lors des jours J₁ et J₂ par rapport au jour J₀ du régime P14.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intragroupe sont représentées par « b » ($p < 0.01$) et « c » ($p < 0.001$) et en intergroupe par « x » ($p < 0.05$) et « y » ($p < 0,01$)

Figure 15. Paramètres du repas (nombre de repas, IMI, durée et vitesse d'ingestion). en fonction du jour de présentation des régimes P14 (J₀) et HP [P50 (n=8), G50 (n=6) et S50 (n=6)] (J₁ et J₂) ; n=6.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$).

Figure 16. Prise énergétique cumulée (kJ) après adaptation dans les groupes P14 (n=8) et P50 (n=8), lors du cycle nuit.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 17. Prise énergétique par quart de cycle (kJ), après adaptation (J_{14}) dans les groupes P50 (n=8) et P14 (n=8).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques (P14 *versus* P50) sont représentées par la lettre « a » ($p < 0.05$).

Figure 18. Paramètres du repas après adaptation (nombre de repas, IMI, durée et taille du repas, et vitesse d'ingestion) dans les groupes P50 (n=8) et P14 (n=8).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques (P14 *versus* P50) sont représentées par la lettre « x » ($p < 0.05$).

Figure 19. Préférence pour le nouveau régime (%). Elle est exprimée sous forme de rapport : [(énergie ingérée du nouveau régime) x 100 / énergie ingérée (nouveau régime + régime expérimenté)].

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par la lettre : z ($p < 0.001$).

Figure 20. Préférence pour le nouveau régime (%).

La préférence est exprimé sous forme de rapport : [(énergie ingérée du nouveau régime) x 100 / énergie ingérée (nouveau régime + régime expérimenté)]. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe et intergroupe sont représentées par les lettres : c ($p < 0.001$) et z ($p < 0.001$), respectivement.

Figure 21. Préférence pour la nouvelle flaveur d'eau aromatisée à la vanille ou à l'amande, à l'issue de la première heure du choix test chez les cinq groupes d'animaux.

La préférence est exprimé sous forme de rapport (%) : $[(\text{boisson bue de la nouveau flaveur}) \times 100 / \text{boisson bue totale (boisson nouvelle + boisson expérimentée)}]$. Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM.

Figure 22. Evolution des phases de la SCS (bouffées alimentaires, de toilettage, d'activité et de repos) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 (J₀) après adaptation, du régime P50, lors de l'adaptation (J₁, J₂ et J₃) et après adaptation (J₁₄).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 23. Evolution de la SCS (bouffées alimentaires, toilettage, activité et repos) dans le cas de l'ingestion d'un régime HP contenant du gluten (G50) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 (J₀) après adaptation, du régime G50 lors de l'adaptation (J₁, J₂ et J₃) et après adaptation (J₁₄).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 24. Evolution de la SCS (bouffées alimentaires, toilettage, activité et repos) dans le cas de l'ingestion d'un régime HP contenant de la protéine de soja (S50) lors de la première heure de présentation du régime, à la suite de l'ingestion du régime P14 après adaptation (J₀), du régime S50 lors de l'adaptation (J₁, J₂ et J₃) et après adaptation (J₁₄).

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 25. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% sur l'énergie ingérée au dîner.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont exprimées par la lettre : c ($p < 0.001$) et en intergroupe par la lettre : z ($p < 0.001$), respectivement.

Figure 26. Effet de la nature des protéines des charges GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% sur l'énergie ingérée au dîner.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM . les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par la lettre : c ($p < 0.001$) et en intergroupe par la lettre : z ($p < 0.001$), respectivement.

Figure 27. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges protéiques GLT-0%, GLT-35%, GLT-50%, GLT-100% sur l'énergie ingérée totale.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par la lettre : z ($p < 0.001$), respectivement.

Figure 28. Effet de la nature de la protéine des charges protéiques GLT-50%, PLT-50%, SOJA-50% et ALB-50% sur l'énergie ingérée totale.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$) et b ($p < 0.01$) et en intergroupe par la lettre y ($p < 0.01$), respectivement.

Figure 29. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, GLT-35%, GLT-50% et GLT-100% sur l'énergie ingérée au déjeuner.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par la lettre : b ($p < 0.01$).

Figure 30. Effet de la nature de la protéine des charges GLT-50%, SOJA-50%, PLT-50%, et ALB-50% sur l'énergie ingérée au déjeuner.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par la lettre : y ($p < 0.01$), respectivement.

Figure 31. Effet de la teneur en protéine (gluten) des charges GLT-0%, 35%, 50% et 100% sur l'énergie ingérée en 24h.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par la lettre : a ($p < 0.05$) et en intergroupe par la lettre : z ($p < 0.001$), respectivement.

Figure 32. Effet de la nature de la protéine des charges GLT-50%, SOJA-50%, PLT-50%, et ALB-50% sur l'énergie ingérée en 24h.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$) et b ($p < 0.01$) et en intergroupe par la lettre : y ($p < 0.01$), respectivement.

Figure 33. Prise énergétique moyenne (kJ) lors du dîner, dîner+charge (D+C), déjeuner et totale, dans les deux groupes de rats « GLT-0% » et « GLT-35% », pendant la période basale et la période de charge.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$) et b ($p < 0.01$) et en intergroupe par la lettre x ($p < 0.05$).

Figure 34. Gain de poids cumulé au dernier jour de charge J₄.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Figure 35. Evolution de la glycémie, l'insulinémie, la leptinémie, l'urémie et l'ammoniémie, pendant la période basale (B) et la période de charge moyenne (M), dans les groupes GLT-0% et GLT-35%.

Les données sont exprimés en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupes sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par les lettres : x ($p < 0.05$), y ($p < 0.01$) et z ($p < 0.001$).

Figure 36. Concentration moyenne ($\mu\text{mol/l}$).des AA plasmatiques totaux, AAE, AANE, AACLR et AANG, avant et après le repas test, lors de la période de base et de charge, dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%.

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM ($\mu\text{mol/L}$). Les différences statistiques sont représentées en intra-groupe par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par les lettres : x ($p < 0.05$), y ($p < 0.01$) et z ($p < 0.001$).

Figure 37. Evolution des acides aminés essentiels plasmatiques ($\mu\text{mol/l}$), avant et après le repas test, lors de la période de base (B) et la période de charge (M), dans les groupes de rats GLT-0% et GLT-35%.

Les données son exprimées en moyenne \pm SEM. Les différences statistiques en intra-groupe sont représentées par les lettres : a ($p < 0.05$), b ($p < 0.01$) et c ($p < 0.001$) et en intergroupe par les lettres : x ($p < 0.05$), y ($p < 0.01$) et z ($p < 0.001$).

Figure 38. Schéma du dispositif expérimental d'administration de charge, d'enregistrement de la prise alimentaire et de prélèvement du sang.

Ce schéma consiste en : (1) à placer, des rats porteurs de cathéters buccaux et/ou veineux, dans des cages cylindriques en plexiglas équipée d'un système de joint tournant et de balancier pour que le cathéter reste tendu en permanence au dessus de la tête du rat, (2) à infuser pendant 10 min les charges dans le cathéter buccal par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique munie de cathéters alimentaires 1h avant le repas test , (3) à prélever du sang veineux avant et après le repas test et (4) à enregistrer la prise alimentaire lors du repas test à l'aide d'un système informatique.

Figure 39. Schéma représentant les éléments associés du cathéter veineux.

A : Bouchon ; B : Technicon ; C : Aiguille métallique courbée ; D : Manchon en Silastic ; E : Silastic ; F : Bout de cathéter biseauté.

Figure 40. Schéma représentant les éléments associés du cathéter buccal.

A : Bouchon ; B : Aiguille métallique courbée ; C : Tube en polyéthylène et D : Joint de fixation du cathéter à l'intérieur de la cavité buccale.