

ROSANNE BLANCHET

**EFFETS DU POLYMORPHISME P73T DE LA
NEUROMÉDINE- β
SUR LES HABITUDES ET COMPORTEMENTS
ALIMENTAIRES**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en kinésiologie
pour l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

DÉPARTEMENT DE KINÉSIOLOGIE
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2009

Résumé

L'objectif principal du projet de recherche dont fait l'objet ce mémoire était d'étudier les effets du polymorphisme P73T de la neuromédine- β sur les habitudes et comportements alimentaires. Des femmes pré-ménopausées (N=153) ont été recrutées afin de trouver des homozygotes pour ce variant (N=7) et de les paier avec des homozygotes sauvages. Notre hypothèse principale était que les sujets T73T ajusteraient moins adéquatement leur apport calorique suivant différentes pré-charges caloriques que les sujets P73P. Nous n'avons pas observé d'effet du polymorphisme sur l'indice de masse corporelle ni les comportements alimentaires. De plus, la compensation calorique des deux groupes n'était pas différente, peut-être en raison du faible nombre de sujets sur lesquels l'étude est basée.. D'un autre côté, les sujets T73T avaient des apports habituels en énergie et en glucides (g) plus faibles que les sujets P73P. L'association avec l'apport en glucides disparaissait lorsqu'exprimé en pourcentage de l'apport calorique. Ces résultats suggèrent que le polymorphisme P73T de la neuromédine- β module l'apport calorique sans induire de préférence pour les macronutriments.

Short summary

The main objective of this master degree project was to evaluate the effect of the neuromedin- β (NMB) P73T polymorphism on dietary habits and eating behaviors. Premenopausal women (N=153) were recruited in attempt to find homozygote subjects for this variant (N=7) and to pair them with wild-type homozygote women. Our main hypothesis was that T73T subjects would not adjust their caloric intake following different energy preloads as adequately as P73P subjects. We did not observe effects of this polymorphism on body mass index or eating behaviors. Moreover, caloric compensation was not different between the two groups, maybe because of a low number of subjects upon which the present study is based. However, T73T subjects had a lower habitual energy and carbohydrate (g) intakes than wild-type homozygote subjects. Association with carbohydrate intake disappeared when expressed as a percentage of energy intakes. These results suggest that the NMB P73T polymorphism modulates energy intake but not the preference for macronutrient intake.

Avant-propos

Ce mémoire comprend un article intitulé *Effects of neuromedin- β on caloric compensation, eating behaviors and habitual food intake* dont je suis la première auteure. Celui-ci est présenté intégralement au chapitre 2. Cet article sera soumis pour publication dans une revue avec comité de lecture. J'ai participé à plusieurs étapes du projet de recherche, j'ai contribué à la rédaction de la demande au comité d'éthique, j'ai effectué le recrutement, j'ai rencontré toutes les participantes et effectué les mesures. J'ai aussi effectué les analyses statistiques, interprété les résultats et rédigé l'article scientifique.

Cette recherche a été réalisée sous la supervision du Dr Louis Pérusse qui a agit comme directeur de recherche et du Dr Simone Lemieux, co-directrice de recherche. Cette recherche a été rendue possible grâce à une subvention de recherche des Instituts de Recherche en Santé du Canada octroyée au Dr Pérusse. À ce titre, il a élaboré le protocole de recherche et a supervisé toutes les étapes de celui-ci en plus de participer à la révision de l'article. Dr Simone Lemieux a participé à l'élaboration du projet de recherche, a contribué à son bon fonctionnement à l'aide de son expérience dans les protocoles d'intervention en nutrition et de ses connaissances sur les comportements alimentaires en plus de participer à la révision de l'article. Dr Marie-Claude Vohl a participé à l'élaboration du projet et à la révision de l'article. Dr Patrick Couture, le médecin de l'équipe de recherche, a évalué l'état de santé des participantes et a été d'une très grande aide pour les questions médicales. Dr Catherine Bégin a contribué, en tant que psychologue, à l'évaluation de la dépression et des troubles du comportement alimentaire des participantes ainsi qu'à la révision de l'article.

Remerciements

Je tiens, en premier lieu, à remercier Louis Pérusse, mon directeur de maîtrise, qui m'a fait confiance depuis le début et m'a permis de coordonner ce projet de recherche. Je le remercie aussi pour toutes les ressources qu'il a mises à ma disposition et pour m'avoir impliquée dans toutes les étapes du processus de recherche. Je tiens aussi à le remercier pour son soutien financier.

Je remercie Simone Lemieux, ma co-directrice, pour sa grande disponibilité et pour avoir toujours pris le temps de m'aider lorsque j'avais un problème ou une question à propos du projet de recherche.

Je voudrais aussi remercier Stéphanie et Anne pour leur aide en statistiques, mais aussi pour leurs connaissances en génétique, pour leur grande générosité et pour leur support moral.

Merci à tous les étudiants et professionnels de recherche de l'INAF sans qui ces années auraient été beaucoup moins agréables. Je les remercie aussi pour tout l'appui et l'aide qu'ils m'ont apportés dans la gestion du projet; j'ai appris énormément à l'aide de leur expérience.

Je remercie mes amies, Annie, Geneviève et Mélanie pour leur amitié, leur support et pour toutes nos soirées mémorables.

Finalement, je remercie mes parents, Denise et Réjean, ainsi que mes frères et sœurs, Christine, Damien, Valérie et Jérôme, pour leur soutien et pour me rappeler la réalité à l'extérieur du monde de la recherche.

Table des matières

<i>Résumé</i>	2
<i>Short summary</i>	III
<i>Avant-propos</i>	IV
<i>Remerciements</i>	V
<i>Table des matières</i>	IV
<i>Liste des figures</i>	VI
<i>Introduction</i>	11
<i>Chapitre 1 : Recension des écrits</i>	12
<i>1. Obésité</i>	12
1.1. Définition et étiologie	12
1.2. Obésité et habitudes alimentaires	11
<i>2. Comportements alimentaires</i>	11
2.1. Définitions	11
2.2. Échelle de restriction	12
2.2.1. Contre-régulation	12
2.2.2. Modèle frontière (<i>boundary model</i>)	13
2.3. <i>Three-Factors Eating Questionnaire (TFEQ)</i>	15
2.3.1. Restriction cognitive	15
2.3.1.1. La contre-régulation et le modèle frontière	16
2.3.1.2. Relation entre la restriction et le poids	16
2.3.2. Désinhibition	17
2.3.2.1. Relation entre la désinhibition et le poids	17
2.3.3. Susceptibilité à la faim	18
2.3.3.1. Relation entre la susceptibilité à la faim et le poids	18
<i>3. Génétique des habitudes et comportements alimentaires</i>	19
3.1. Héritabilité des apports alimentaires	19
3.2. Héritabilité des comportements alimentaires	22
<i>4. Neuromédecine-β</i>	23
4.1. Description et principales fonctions	23
4.2. Polymorphismes nucléotidiques	26
<i>5. Objectifs et hypothèses de recherche</i>	28
Objectif de l'étude	28
Hypothèse	28
<i>Chapitre 2 : Article scientifique</i>	29

Effects of neuromedin-β on caloric compensation, eating behaviors and habitual food intake.....	29
<i>Discussion générale</i>.....	55
<i>Conclusion</i>.....	57
<i>Bibliographie</i>.....	58

Liste des figures

Chapitre 1 : Recension des écrits

Figure 1 : Modèle « frontière » appliqué aux personnes non restreintes et restreintes....14

Introduction

Le surpoids et l'obésité affectent un nombre sans cesse croissant de jeunes et d'adultes, non seulement au Québec, mais à peu près partout à travers le monde. Malgré des avancées considérables dans nos connaissances sur l'étiologie de l'obésité, plusieurs mécanismes restent incompris, et notre capacité à prévenir le gain de poids et à traiter l'obésité demeure encore limitée. Les recherches menées au cours des dernières décennies ont permis d'établir que les facteurs génétiques ont un rôle important à jouer dans l'étiologie de l'obésité. Plusieurs gènes en lien avec l'obésité ont d'ailleurs été identifiés, mais très peu d'études se sont attardées à comprendre les bases génétiques des comportements alimentaires, malgré le fait que l'on sache que ces derniers affectent le poids corporel et qu'ils sont héréditaires.

La recherche présentée dans ce mémoire porte sur la génétique des comportements alimentaires et, plus spécifiquement, sur un gène appelé neuromédine- β (NMB). La neuromédine- β est un peptide de la famille des bombésines qui entraîne la satiété. Une étude récente menée par un groupe de chercheurs de l'Université Laval a permis de mettre en évidence une association entre un polymorphisme au sein du gène de la NMB et les comportements alimentaires ainsi que le gain de poids¹. Nous avons voulu déterminer de façon expérimentale, au moyen d'une intervention nutritionnelle, si l'association précédemment décrite avec le polymorphisme de la NMB avait un impact sur la prise alimentaire. Les résultats de cette étude d'intervention nutritionnelle sont présentés au chapitre 2 de ce mémoire sous forme d'un article qui sera soumis pour publication. Ce chapitre est précédé d'une revue de la littérature sur les comportements alimentaires, les facteurs génétiques qui les influencent et la neuromédine- β (chapitre 1).

Chapitre 1 : Recension des écrits

1. Obésité

1.1. Définition et étiologie

L'épidémie d'obésité est un problème de santé publique majeur d'autant plus qu'elle est en constante augmentation. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé estime que d'ici 2015, environ 2,3 milliards d'adultes auront un surplus de poids, et de ce nombre au moins 400 millions seront obèses². Cette situation est alarmante puisqu'un indice de masse corporel (IMC) élevé est un facteur de risque majeur pour plusieurs maladies chroniques tels les maladies cardiovasculaires (la première cause de décès au monde), le diabète, les désordres musculo-squelettiques et le cancer².

L'obésité résulte d'un déséquilibre entre les apports énergétiques et les dépenses caloriques. Dans la société actuelle, l'augmentation de l'apport calorique est causée, entre autre, par l'adoption d'une alimentation contenant des aliments riches en énergie, en sucres et en matières grasses, et faibles en vitamines, minéraux et autres nutriments alors que la diminution de la dépense énergétique est due à la sédentarisation de plusieurs formes de travail, de changements dans les modes de transports et à une augmentation de l'urbanisation². Pourtant, même si ces facteurs environnementaux nous touchent tous, certains individus y sont plus susceptibles en raison de leur bagage génétique. Malgré des avancements récents dans notre compréhension de l'étiologie et de la physiologie de l'obésité, nos connaissances sur les gènes et polymorphismes qui entraînent cette susceptibilité restent limitées. Ainsi, quelques gènes associés au poids, aux comportements alimentaires et aux habitudes alimentaires ont été identifiés, mais plus d'études sont nécessaires afin de mieux connaître leurs impacts réels et leurs interactions avec l'environnement. Par conséquent, de nombreuses études sont nécessaires avant que nous possédions la capacité de proposer des traitements individualisés contre l'obésité en fonction du bagage génétique d'une personne.

1.2. Obésité et habitudes alimentaires

Deux facteurs principaux permettent de maintenir le poids corporel en équilibre : la dépense énergétique et les apports caloriques. L'obésité est causée par un déséquilibre dans cette balance énergétique. En effet, des apports caloriques plus élevés que la dépense énergétique résultent en un bilan énergétique positif, et conséquemment à une prise de poids³. D'un autre côté, on estime qu'environ 20 à 40 % de notre dépense énergétique quotidienne résulte de la pratique d'activité physique et constitue, par conséquent, une composante qui peut être modifiée volontairement alors que 100 % de nos apports alimentaires résultent de comportements volontaires. Ainsi, les variations possibles des apports alimentaires peuvent être d'une plus importantes que les variations de la dépense énergétique. Il est donc plausible de penser que les comportements en lien avec les apports alimentaires confèrent un plus grand facteur de risque que les comportements en lien avec la dépense énergétique⁴⁵. De plus, plusieurs facteurs, dont les habitudes et comportements alimentaires, influencent l'apport calorique. En effet, la variété alimentaire, la prise d'aliments liquides plutôt que solides, la grosseur des portions, la palatabilité des aliments, les habitudes de collations, le nombre de repas consommés au restaurant ou à l'extérieur de la maison ainsi que la restriction (tendance cognitive à restreindre ses apports alimentaires) et la désinhibition (surconsommation d'aliments associée à une perte de contrôle), sont tous des facteurs qui influencent l'apport calorique et qui ont, par conséquent, le pouvoir d'entraîner un gain de poids³.

2. Comportements alimentaires

2.1. Définitions

De façon générale, les comportements alimentaires regroupent les conduites envers l'alimentation et la consommation d'aliments. Ces comportements peuvent être généraux (le nombre de repas consommés par jour, le moment et la vitesse de consommation des repas, etc.) ou ils peuvent être spécifiques (la restriction cognitive, la désinhibition, etc.). Les comportements alimentaires sont relativement difficiles à mesurer, c'est pourquoi les

questionnaires mesurant des comportements alimentaires spécifiques ont été développés. L'échelle de restriction et le *Three-Factors Eating Questionnaire* sont les questionnaires les plus fréquemment utilisés pour qualifier les comportements alimentaires^{6, 7}. Ces deux questionnaires sont discutés aux sections 2.2 et 2.3 du mémoire.

2.2. Échelle de restriction

L'échelle de restriction⁸ (*Restraint Scale*) est un questionnaire qui a été mis au point par l'équipe de J. Polivy et de C.P. Herman (1980) afin d'expliquer les comportements alimentaires des personnes obèses⁹. À ce moment, on croyait que la surconsommation était un problème seulement chez les obèses et qu'elle était causée par une hyper-sensibilité aux stimuli externes et une hypo-sensibilité aux signaux internes de faim et de satiété. Selon cette théorie, ces personnes devaient donc se restreindre afin de résister aux tentations, et par conséquent contrôler leur poids.

L'échelle de restriction se divise aussi en deux sous-catégories qui mesurent respectivement les préoccupations alimentaires et les variations de poids¹⁰. À l'aide de ce questionnaire, deux théories ont été élaborées (la contre-régulation et le modèle frontière) pour expliquer les comportements alimentaires des personnes restreintes.

2.2.1. Contre-régulation

À l'aide de l'échelle de restriction, Herman et coll. ont séparé les personnes restreintes des personnes non restreintes et les ont soumises à deux conditions expérimentales⁹. La première consistait en un test de goût de différents saveurs de crème glacée lors duquel les participants pouvaient consommer la crème glacée à volonté. La seconde condition expérimentale consistait au même test de goût, mais cette fois-ci il était précédé par la consommation d'une pré-charge calorique (lait fouetté). Lors du test de goût sans consommation de lait fouetté, les personnes restreintes ont consommé moins de crème glacée que les personnes non restreintes. Par contre, lors du test précédé par la pré-charge

calorique, les personnes restreintes ont consommé plus de crème glacée qu'elles ne l'avaient fait lors du test seul. Elles en ont aussi consommé plus que les personnes non restreintes lors de cette même situation. En résumé, comparativement à leur consommation lors du test gustatif seul, les personnes non restreintes ont diminué leur consommation de crème glacée suivant la pré-charge alors que les personnes restreintes l'ont augmentée. Ainsi, la consommation du lait fouetté pourrait causer une pensée du « tant qu'à y être » chez les personnes restreintes ce qui entraînerait un abandon temporaire de leur restriction. Ce phénomène a été nommé la contre-régulation⁹.

La contre-régulation peut aussi être observée lorsque la pré-charge est remplacée par une variété d'événements courants (par exemple, lorsque les personnes restreintes subissent un stress sous forme d'anxiété, de dépression ou d'un autre état dysphorique ou lorsqu'ils sont influencés par des pressions sociales)^{11, 12}. Donc, en réponse à de nombreux facteurs qui suppriment l'alimentation des personnes non restreintes, les personnes restreintes augmentent leurs apports¹³. Cependant, contrairement à la pensée originale, il semble que cette théorie ne soit valide que chez les personnes de poids normal^{6, 14}. Ainsi, les hauts niveaux de restriction observés chez les obèses seraient le reflet de problèmes psychométriques dans l'échelle de restriction plutôt que de préoccupations alimentaires chez ces derniers.

2.2.2. Modèle frontière (*boundary model*)

À l'aide de la contre-régulation, Herman et Polivy ont mis au point la théorie du modèle frontière (*boundary model*) pour expliquer la régulation de l'alimentation chez les personnes restreintes (Figure 1)¹⁵. Selon cette théorie, les personnes non restreintes commenceraient à manger en atteignant la frontière inférieure, c'est-à-dire lorsqu'elles ressentent la faim, et cesseraient en atteignant à la frontière supérieure, c'est-à-dire lorsqu'elles ressentent la satiété. Par contre, chez les personnes restreintes, il y aurait une frontière supplémentaire située entre la frontière de la faim et celle de la satiété (*diet boundary*). Cette frontière, imposée par le régime, serait entièrement cognitive et représenterait le quota de nourriture pouvant être consommé à un moment donné. Aussi

longtemps que la frontière imposée par le régime ne serait pas atteinte, elle serait la limite supérieure et causerait l'interruption de l'alimentation. Lorsque cette frontière serait dépassée, elle ne pourrait plus servir à réguler l'alimentation, la frontière de la satiété deviendrait alors la référence. Comme cette frontière serait déplacée vers la droite chez les personnes suivant une diète (les cycles de diètes et de surconsommation produiraient une habitude aux sensations de faim et de satiété¹⁶), elle pourrait permettre une plus grande consommation *ad libitum*. De plus, il pourrait survenir la pensée du « tant qu'à y être » ce qui contribuerait à l'augmentation des apports alimentaires. Donc, face à des situations stressantes, la frontière du régime pourrait être dépassée ou affaiblie. Les personnes restreintes surconsommerait alors puisque la frontière du régime ne serait plus opérationnelle et qu'elles seraient moins sensibles aux subtilités physiologiques¹⁵. Par conséquent, la contre-régulation serait visible seulement lorsque les comparaisons sont faites de part et d'autre de la frontière imposée par le régime⁶.

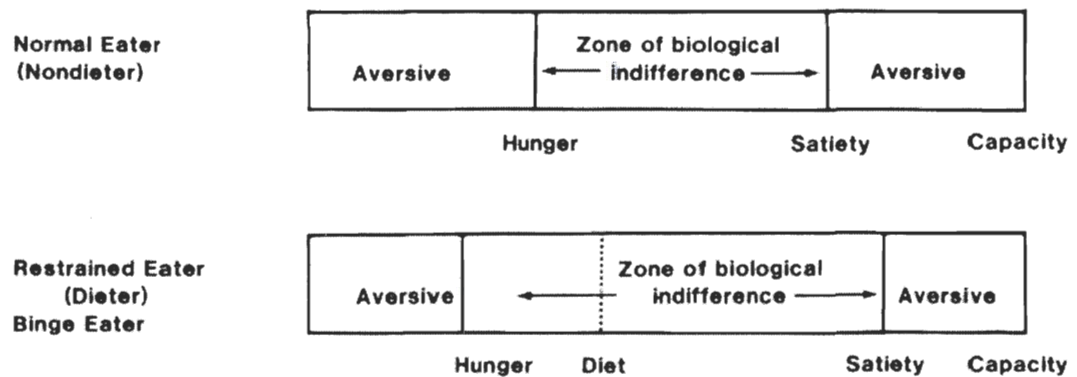


Figure 1 : Modèle « frontière » appliqué aux personnes non restreintes et restreintes⁶

Selon ce modèle, lorsque les individus se situent entre la frontière de la faim et de la satiété, les influences psychologiques et sociales seraient les facteurs les plus importants dans la détermination de leurs apports alimentaires¹⁵. Il a été suggéré que les personnes restreintes seraient relativement plus susceptibles à ces influences¹⁶. Ceci suggère que les personnes restreintes auraient un plus bas seuil de suralimentation induite socialement que les

personnes non restreintes¹⁶ ce qui pourrait entraîner une augmentation des apports alimentaires à long terme.

2.3. Three-Factors Eating Questionnaire

Le *Three-Factors Eating Questionnaire (TFEQ)*¹⁷ est l'échelle la plus utilisée pour quantifier les comportements alimentaires des personnes obèses et des personnes ayant un poids normal. Les trois traits comportementaux évalués par le TFEQ sont la restriction alimentaire cognitive, la désinhibition et la susceptibilité à la faim.

2.3.1. Restriction cognitive

Cette échelle du TFEQ mesure la tendance à restreindre ses apports caloriques dans ses comportements alimentaires de tous les jours¹⁷. La restriction cognitive telle que mesurée par le TFEQ est la seule mesure de restriction qui corrèle avec une restriction calorique objective. D'un autre côté, la restriction mesurée par l'échelle de restriction corrèle avec la surconsommation, ceci indique bien que ces questionnaires ne mesurent pas exactement le même concept.

La restriction cognitive a aussi été divisée en deux échelles qui mesurent des concepts différents : la restriction flexible et la restriction rigide^{18, 19}. La restriction rigide est caractérisée par une approche de « tout ou rien » de l'alimentation, du poids et des régimes. Les personnes avec un haut niveau de restriction rigide suivent régulièrement des diètes, ils évitent les aliments « interdits », mais s'ils en consomment ils ne compensent habituellement pas pour cet apport supplémentaire. De l'autre côté, la restriction flexible inclut des stratégies de permission où de petites quantités de gâteries peuvent être consommées sans sentiment de culpabilité et des stratégies de compensation sont planifiées en cas d'apports alimentaires augmentés. La restriction rigide pourrait contribuer à une plus grande susceptibilité à développer des problèmes alimentaires alors que la restriction flexible pourrait diminuer cette susceptibilité¹⁹.

2.3.1.1. La contre-régulation et le modèle frontière

La contre-régulation a été observée chez des individus obtenant un résultat élevé pour la restriction cognitive et la désinhibition (discutée plus loin)¹⁸. En effet, la restriction cognitive ne pourrait, à elle-seule, expliquer la contre-régulation¹⁶. Seuls Bellisle et coll. ont observé que la surconsommation lors d'une distraction causée par un travail mental était associée à la restriction cognitive sans être associée à la désinhibition²⁰.

De plus, il semble que la contribution de la restriction cognitive à la contre-régulation soit entièrement expliquée par la restriction rigide¹⁸. En effet, si on applique le modèle frontière à la restriction flexible et à la restriction rigide, il semble plausible que la susceptibilité à la surconsommation soit plus élevée lorsque la frontière du régime est stricte et rigide que lorsqu'elle est plus flexible²¹. Ainsi, une frontière du régime plus flexible pourrait être visualisée comme une frontière pouvant glisser jusqu'à la limite de la satiété. Ceci permettrait une plus grande consommation sans que la limite du régime ne soit dépassée²¹. D'un autre côté, une frontière rigide permettrait de franchir cette limite plus rapidement ce qui entraînerait la pensée du « tant qu'à y être » et augmenterait la susceptibilité à la surconsommation.

2.3.1.2. Relation entre la restriction et le poids

Au cours de l'étude Whitehall II, Dykes et coll. ont étudié les relations entre les comportements alimentaires et le poids²². Ils n'ont pas observé d'association significative entre la restriction cognitive et les mesures anthropométriques. Celle-ci agissait plutôt comme une variable secondaire en modulant la relation entre la désinhibition et le poids^{22, 23}. En effet, la restriction cognitive pourrait aider à limiter le gain de poids en présence de périodes de désinhibition²². D'un autre côté, Drapeau et coll. ont obtenu un résultat différent lorsqu'ils ont étudié le changement de poids lors d'un suivi de six ans en fonction des comportements alimentaires de ces sujets au début de l'étude²⁴. Ainsi, les femmes qui avaient un haut niveau de restriction cognitive au début de l'étude ont gagné plus de poids que les femmes avec un faible niveau. Selon ces auteurs, un haut niveau de restriction

cognitive serait difficile à maintenir à long terme et la diminution presque inévitable de ce comportement serait associée à un gain de poids. Ils ont aussi observé que le changement dans le niveau de restriction cognitive et dans le niveau de restriction flexible était corrélé négativement avec le changement de poids corporel chez les hommes et les femmes lors du suivi de six ans²⁴. Ceci concorde avec ce qui est habituellement obtenu lors de programmes de perte de poids. En effet, les participants qui perdent du poids et qui arrivent à maintenir le nouveau poids sont ceux qui montrent une augmentation de leur niveau de restriction au cours de l'intervention ou qui ont un niveau de restriction flexible plus élevé au début du programme^{18, 19, 25, 26}.

Dans un autre ordre d'idée, la restriction rigide et la restriction flexible semblent avoir des effets divergents sur le poids. En effet, on a observé dans certaines études que la restriction rigide corrélait positivement avec les variables anthropométriques alors que la restriction flexible corrélait négativement avec la masse grasse et la circonférence de la taille^{27, 28}.

2.3.2. Désinhibition

La désinhibition est un comportement alimentaire défini par la surconsommation d'aliments en réponse à certains stimuli externes associés à une perte de contrôle de la prise alimentaire¹⁷. Cette échelle se divise en trois sous-facteurs, la susceptibilité habituelle (comportements pouvant survenir lorsque les circonstances prédisposent à la désinhibition récurrente), la susceptibilité émotionnelle (désinhibition associée à des états affectifs négatifs) et la susceptibilité situationnelle (désinhibition initiée par un facteur environnemental spécifique)²⁹.

2.3.2.1. Relation entre la désinhibition et le poids

En ce qui concerne les liens entre la désinhibition et le poids, les études vont généralement dans le même sens. En effet, la désinhibition semble être associée à un poids plus élevé^{23, 27, 30} peu importe le statut socioéconomique²² ou l'histoire de diètes³¹. De plus, même s'il

diminue lors d'une perte de poids^{25, 26}, un niveau de désinhibition élevé au début du programme de perte de poids est un facteur de risque pour la reprise du poids perdu^{32, 33}. Ainsi, des chercheurs ont observé que les sujets avec un haut niveau de désinhibition prenaient plus de poids que les sujets avec un faible niveau de désinhibition^{23, 34}. Cette association n'a toutefois pas été observée lors d'un suivi de six ans²⁴.

D'un autre côté, il semblerait que la force d'association entre la désinhibition et le poids soit diminuée en présence d'un haut niveau de restriction cognitive et augmentée en présence d'un haut niveau de susceptibilité à la faim^{22, 23, 27, 34, 35}. De plus, Blundell et coll. ont aussi suggéré que les individus susceptibles à prendre du poids en réponse à une alimentation riche en gras étaient caractérisés par un haut niveau de désinhibition³⁶. En effet, en plus d'avoir un niveau élevé de désinhibition, ces individus préféraient les aliments riches en gras, avaient une forte attraction hédonique envers les aliments palatables et une satiété affaiblie en réponse aux aliments riches en gras. Ainsi, ceci pourrait expliquer la relation entre la désinhibition et la suralimentation, et par conséquent la prise de poids^{35, 37, 38}.

2.3.3. Susceptibilité à la faim

La susceptibilité à la faim évalue la prise alimentaire en réponse aux sentiments et perceptions de faim¹⁷. Elle peut aussi se séparer en deux sous-facteurs, la susceptibilité à la faim interne mesure la faim interprétée et régulée intérieurement alors que la faim externe mesure la faim déclenchée par des stimuli externes²⁹.

2.3.3.1. Relation entre la susceptibilité à la faim et le poids

Dans l'Étude des familles de Québec (QFS), la susceptibilité à la faim était positivement associées avec l'IMC, la graisse corporelle et la circonférence de la taille²⁷ alors qu'elle était négativement associée à la prise de poids sur six ans²⁴. Plusieurs chercheurs ont aussi obtenu une relation positive entre la susceptibilité à la faim et les mesures

anthropométriques^{22, 34, 39} alors que d'autres n'ont pas observé d'association entre la susceptibilité à la faim et le poids ou la prise de poids^{23, 26}. De plus, dans plusieurs études, la susceptibilité à la faim diminuait lors d'une perte de poids^{25, 26, 33, 40}.

3. Génétique des habitudes et comportements alimentaires

Jusqu'à maintenant, plus de 250 loci, marqueurs moléculaires ou polymorphismes de gènes candidats, ont été associés à l'obésité⁴¹. Par contre, peu de choses sont connues à propos des gènes influençant les comportements et les apports alimentaires chez les humains¹. Cependant, il est possible que des gènes ayant une influence sur les habitudes et comportements alimentaires puissent contribuer à la susceptibilité génétique à l'obésité⁴². De plus, cette influence génétique pourrait aussi interagir avec les conditions environnementales pour influencer le poids corporel⁴². Ainsi, l'hérédité serait responsable d'une proportion variant entre 30% et 86% de la variance du poids corporel^{43, 44}. Selon De Castro et coll., cette héritabilité du poids impliquerait que les gènes influencent également la quantité de nourriture ingérée et conséquemment les habitudes alimentaires⁴⁴. D'autres études ont néanmoins démontré que l'hérédité influence indépendamment le poids corporel et les apports alimentaires chez les adultes⁴⁴⁻⁴⁶.

3.1. Héritabilité des apports alimentaires

Les apports alimentaires d'une personne varient beaucoup au fil des jours, mais les différences interindividuelles entre les apports alimentaires journaliers sont beaucoup plus importantes. Selon Rankinen et coll., ces dernières pourraient être expliquées en partie par des facteurs génétiques⁴⁷. Néanmoins, il semble que les apports en macronutriments⁴⁸ et les habitudes alimentaires (avoir une alimentation riche en gras, en sucre, en sel ou une alimentation riche en fruits et légumes, en fibres, etc.)⁴⁹ soient davantage influencés par l'hérédité que les préférences pour des aliments individuels⁴⁸.

Pérusse et coll. ont été les premiers à étudier la ressemblance familiale dans les apports énergétiques⁵⁰. Ils n'ont pas observé de contribution génétique pour l'apport de tous les macronutriments. Par contre, l'environnement culturel et familial comptait pour plus de 50% de la variance observée dans les apports alimentaires. D'un autre côté, De Castro et coll. ont observé dans une étude effectuée chez des jumeaux monozygotiques et dizygotiques qu'entre 50 et 65 % de la variance dans l'apport quotidien en calories, macronutriments, alcool et en eau, était expliquée par l'hérédité⁴⁴. De plus, l'hérédité expliquait 44 % et 64 %, de la variance dans la fréquence des repas et du contenu calorique des repas, respectivement⁴⁴. Dans une autre étude, ces mêmes chercheurs ont obtenu une héritabilité moins forte. En effet, entre 32 % et 48 % de la variance de l'apport énergétique des repas était attribuable aux gènes⁵¹. Les gènes étaient aussi responsables de 37 % à 50 % de la variance de la densité énergétique d'un repas et de la densité énergétique moyenne au cours de la journée.

Au cours de l'étude *Ireland-Boston-Diet-Heart*, Sellers et coll. ont comparé les apports alimentaires de couples de frères, l'un habitant Boston et l'autre en Irlande. Après avoir ajusté pour le pays habité et l'âge, ils ont obtenu des corrélations entre les frères atteignant 0,17 pour l'apport calorique quotidien, 0,05 pour l'apport en matières grasses, 0,08 pour l'apport en protéines et 0,16 pour l'apport en glucides, ces trois derniers exprimés en pourcentage de l'apport calorique⁵². Ce résultat est intéressant parce que même si les frères étaient éloignés, les corrélations étaient du même ordre de grandeur que celles habituellement observées chez des frères vivant sous le même toit⁴⁷. En effet, pour les phénotypes alimentaires, des corrélations de l'ordre de 0,2 à 0,3 sont habituellement observées entre des conjoints ou entre les enfants d'une famille vivant sous le même toit⁴⁷.

Pour leur part, Van den Bree et coll. ont évalué les habitudes alimentaires chez des jumeaux âgés de plus de 50 ans et les ont classés en deux profils alimentaires. Le premier profil consistait à manger des aliments riches en gras, en sel et en sucre (un régime alimentaire à risque pour la santé) et le deuxième incluait une variété de légumes, fruits, riz, yogourt, lait écrémé et pain à grains entiers (une alimentation préventive). Les facteurs génétiques

contribuaient entre 15 % et 38 % de la variance phénotypique du profil alimentaire à risque et entre 33 % et 40 % pour le profil alimentaire préventif⁴⁹.

Il semble donc que les apports en calories et en macronutriments soient en partie héréditaires, mais il est difficile de bien quantifier cette relation. Ainsi, plusieurs études sont encore nécessaires afin de bien connaître la contribution de l'hérédité dans les apports alimentaires.

Deux études ont tenté d'identifier des gènes en lien avec les apports en macronutriments et en énergie au moyen d'un criblage génomique. En effet, l'étude *Health, Risk Factors, Exercise, Training, and Genetics (HERITAGE) Family Study* réalisée chez des familles sédentaires blanches et noires a permis de mettre en évidence une liaison entre les apports en énergie, glucides, matières grasses et protéines et une région du génome située sur le chromosome 20q13.1. Par contre, après l'ajustement pour l'apport énergétique, l'évidence de liaison pour les apports en macronutriments est disparue, suggérant que la région chromosomique (*quantitative trait locus*) contient des gènes influençant l'apport total en aliments ou en énergie plutôt que l'apport relatif en macronutriments⁵³.

Dans la *San Antonio Family Heart Study*, l'héritabilité de la consommation des différents nutriments a été estimée à 0,09 à 0,21. De plus, la consommation totale de calories, de protéines, de matières grasses, de gras saturés, de gras monoinsaturés, et de gras polyinsaturés a été liée à la région chromosomique 2p22⁵⁴. Cette région a aussi été associée au niveau de leptine et de masse grasse. Après avoir ajusté les associations entre la région chromosomique 2p22 et les macronutriments pour le niveau de leptine ou de masse grasse, seule l'association pour la consommation de gras saturés est demeurée significative. Le POMC (proopiomelanocortine) est un gène candidat fonctionnel positionné près de cette région. Par contre, aucune association n'a été observée entre les polymorphismes de l'exon 3 du gène du POMC (C → T à la position 7284 et C → T à la position 7566) et les apports en gras saturés. Ainsi, un nouveau gène situé sous le pic de liaison pourrait être responsable de cette association⁵⁴.

3.2. Héritabilité des comportements alimentaires

Dans l'Étude des familles de Québec, l'héritabilité des comportements alimentaires a été évaluée à l'aide du TFEQ. Celle-ci a été estimée à 5,5 % pour la restriction cognitive, 17,5 % pour la désinhibition et 28,4 % pour la susceptibilité à la faim. Le déterminant principal des comportements alimentaires semblait être l'environnement familial quoique la contribution génétique ne pouvait être exclue⁵⁵. Steinle et coll. ont quant à eux observé une héritabilité plus élevée pour les comportements alimentaires chez des familles Amish, soit 28 %, 40 % et 23 % pour la restriction cognitive, la désinhibition et la susceptibilité à la faim, respectivement⁴¹. Ainsi dans cette population, on a observé une contribution négligeable de l'environnement familial dans les estimations de l'héritabilité des comportements alimentaires sauf en ce qui concerne la désinhibition. Donc, selon ces chercheurs, la biologie expliquerait une plus grande proportion de la variance observée dans les comportements alimentaires que l'héritage social ou culturel⁴¹.

Des études effectuées auprès de jumeaux ont estimé que les facteurs génétiques expliquaient entre 0 et 44 %, 0 et 45 %, et entre 8 et 24 % de la variance de la restriction cognitive, de la désinhibition et de la susceptibilité à la faim, respectivement^{46, 56}.

Donc, la plupart des études suggèrent une composante génétique significative dans les comportements alimentaires, mais l'amplitude réelle de cette variance génétique reste à être quantifiée plus précisément⁴⁷. De plus, peu de choses sont connues à propos des gènes qui les influencent¹.

Bouchard et coll. ont effectué un criblage génomique afin d'identifier des gènes associés aux comportements alimentaires auprès des familles de l'étude QFS¹. Ils n'ont pas observé d'association pour la restriction cognitive, mais ils ont identifié quatre régions chromosomiques associées avec la désinhibition et la susceptibilité à la faim. Ces évidences de liaisons génétiques ont été retrouvées aux régions chromosomiques 15q21 (Lod = 1,8), 15q24-q25 (Lod = 3,0) et 17q23-q24 (Lod = 1,8) pour la susceptibilité à la faim et 19p13

(Lod = 1,8) pour la désinhibition. Le gène de la neuromédine- β était le gène candidat le mieux positionné sous le pic de liaison du chromosome 15q24-q25¹.

Dans une étude effectuée au sein de familles Amish, cinq régions chromosomiques avec des liens suggestifs pour les comportements alimentaires ont été identifiées : 3p26 (LOD = 2,5) et 6p22 (LOD = 2,3) pour la restriction, 7p21 (LOD = 1,6) et 16q22 (LOD = 1,4) pour la désinhibition, et 3q13.3 (LOD = 1,4) pour la susceptibilité à la faim⁴¹.

En conclusion, même si plusieurs gènes candidats ont été associés à des phénotypes reliés à l'obésité, un seul a été associé à la fois aux comportements alimentaires et aux phénotypes reliés à l'obésité. Ainsi, nous nous sommes principalement attardés, dans le cadre de ces travaux de maîtrise, à un gène identifié par criblage génomique dans l'Étude des familles de Québec : la neuromédine- β (NMB)^{1, 57}.

4. Neuromédine- β

4.1. Description et principales fonctions

La neuromédine- β est un peptide appartenant à la famille des bombésines. Les peptides de cette famille ont tous des structures et des activités biologiques très similaires à la bombésine, un peptide qui a été isolé à partir de la peau de la grenouille européenne *Bombina bombina*⁵⁸⁻⁶². Deux de ces peptides ont été isolés chez les mammifères: le peptide libérateur de gastrine (GRP)⁶³ et la neuromédine- β (NMB)⁶⁴. Cette dernière a été isolée à partir de moelle épinière de porc par Minamino et coll.⁶⁴. Le gène qui l'encode est situé dans la région chromosomique 15q25.2-25.3. Sa séquence est hautement conservée entre les espèces; chez les porcs, les humains et les rats, seulement quatre acides aminés sont différents⁶⁰.

La NMB se lie au récepteur de la NMB (NMB-R)^{65, 66}. Celui est formé par une protéine de 380 acides aminés et le gène qui le code est situé à la région 6p21-pter⁶⁶. Il est aussi

hautement conservé, sa séquence est identique à 89-90 % entre les rongeurs (souris ou rats) et les humains⁶⁷, et à 80% entre les mammifères et les oiseaux⁶⁸. Les peptides de la famille des bombésines peuvent tous se lier aux différents récepteurs de la bombésine (NMB-R, GRP-R, BRS-3 (*bombesin receptor substrate-3*)) avec différentes affinités^{66, 69} ce qui peut causer de la réactivité croisée et complique leur étude^{60, 68, 70}.

On retrouve la NMB dans les tissus gastro-intestinaux, la moelle épinière, l'hypophyse et dans plusieurs régions du cerveau⁷¹⁻⁷⁶. Par contre, les anticorps utilisés dans ces études ne peuvent exclure la réaction croisée entre le GRP et la NMB, ou les réactions avec d'autres peptides reliés⁶⁰. À l'aide de l'hybridation in situ, Wada et coll. ont confirmé la présence d'ARNm codant la NMB dans plusieurs régions du cerveau, et ce dans des régions différentes et à des niveaux différents de l'ARNm codant la GRP⁷⁷. Récemment, on a aussi détecté de l'ARNm codant la NMB dans le tissu adipeux chez des humains et des rongeurs⁶⁹.

Parmi ses nombreuses fonctions, la NMB affecte les comportements : elle inhibe la prise alimentaire, elle diminue la durée de locomotion et la distance parcourue, et elle augmente les activités spontanées (déplacements, toilettage et grattage chez les rats)^{60, 66, 78-84}. Lorsqu'elle est injectée dans le système nerveux central, elle induit l'hypothermie et l'hyperglycémie et elle module l'activité de plusieurs neurones du système nerveux central^{60, 66, 78, 85-87}. Elle stimule aussi la contraction des muscles lisses du système urogénital et gastro-intestinal, ainsi que la prolifération cellulaire de plusieurs tissus^{88, 89} et tissus néoplasiques^{88, 90-92}. De plus, la NMB stimule la libération de gastrine, de peptide inhibiteur gastrique (GIP), d'entéroglucagon, de cholécystokinine, d'insuline ainsi que la sécrétion pancréatique exocrine⁹³⁻⁹⁵. Elle inhibe aussi la libération de l'hormone thyroïdienne (TSH) par l'hypophyse par un mécanisme indépendant de la thyroïdolibérine⁹⁶.

À l'aide de modèles de souris dont le gène du NMB-R ou du GRP-R a été invalidé, des chercheurs ont montré que le système GRP/GRP-R prédominait dans la diminution de l'apport alimentaire comparativement au système NMB/NMB-R⁶⁰. En effet, les souris dont le gène du NMB-R a été invalidé avaient une alimentation normale et n'étaient pas obèses

contrairement à celles dont le gène du GRP-R ou du BRS-3 a été invalidé^{61, 67, 97}. Ces modèles animaux ont aussi permis de démontrer un rôle essentiel du système NMB/NMB-R dans la thermorégulation⁶⁸, dans les comportements tel l'anxiété et la réponse à la peur^{98, 99} et dans la modulation du système sérotonergique (5-HT), lui-même lié à la prise alimentaire¹⁰⁰. En effet, la sérotonine entraîne une réduction de l'apport alimentaire et est probablement impliquée dans la régulation du poids¹⁰¹.

Afin de mieux comprendre la régulation de la NMB, Hoggard et coll. ont étudié les profils d'expression de son ARNm⁶⁹. Ainsi, dans des adipocytes de souris, l'expression de l'ARNm de la NMB a diminuée lorsqu'ils ont administré de la leptine. Elle était aussi diminuée chez les souris *db/db* (déficiente en récepteur de la leptine) et chez les souris *ob/ob* (déficiente en leptine). Puisque l'expression de l'ARNm de la NMB était aussi diminuée chez les souris déficientes en leptine, cela suggère que la leptine n'est pas le seul facteur régulant la NMB. En effet, l'expression de l'ARNm était aussi diminuée en présence d'une concentration élevée d'hormone thyroïdienne T3 et T4. De plus, chez les souris exposées au froid, son expression était aussi diminuée, et ce sans qu'il n'y ait de changement dans le métabolisme de base des souris. Ceci suggère que la NMB périphérique pourrait jouer un rôle dans le mécanisme régulant la prise alimentaire. Cette diminution pourrait aussi être causée par les changements dans la T3 et la T4 puisque leurs niveaux augmentent lors d'exposition au froid. Ainsi, le changement d'expression de la NMB dans le tissu adipeux causé par l'exposition au froid pourrait être le résultat de changements stimulant la prise alimentaire. Comme les peptides de la famille des bombésines jouent un rôle important dans les comportements alimentaires et que la NMB est exprimée dans le tissu adipeux, ce peptide pourrait réguler l'apport alimentaire à long terme. De plus, la NMB pourrait aussi avoir des effets directement sur le tissu adipeux puisque des NMB-R se retrouvent aussi sur ces cellules, elle pourrait ainsi jouer un rôle dans la mitose des préadipocytes. Ainsi, l'expression de la neuromédine-B dans le tissu adipeux semble être régulée par les changements dans la balance énergétique. La NMB pourrait même former un nouveau système tissu adipeux-hypothalamus régulant la prise alimentaire et la balance énergétique⁶⁹.

Finalement, Lieverse et coll. ont montré que la bombésine, lorsqu'elle est infusée à une dose stimulant la sécrétion de cholécystokinine (CCK), induit la satiété chez des femmes de poids normal mais pas chez des femmes obèses. Le même résultat a été obtenu lorsqu'on a combiné la prise de bombésine et une pré-charge gastrique. Ceci suggère que les femmes obèses sont moins sensibles aux effets rassasiants de la bombésine¹⁰².

4.2. Polymorphismes nucléotidiques

Un polymorphisme de type faux-sens situé sur l'exon 2 du gène de la neuromédine- β changeant la proline en position 73 pour une thréonine a été identifié¹. Les chercheurs ont observé des associations significatives entre cette mutation, la désinhibition et la susceptibilité à la faim indépendamment de l'indice de masse corporel. En effet, les sujets T73T avaient des niveaux de désinhibition et de susceptibilité à la faim plus élevés que les sujets porteurs de l'allèle sauvage. Par contre, il n'y avait pas d'association entre ce polymorphisme et la restriction alimentaire cognitive. De plus, l'augmentation de la graisse corporelle lors d'un suivi moyen de six ans était approximativement deux fois plus grande chez les sujets homozygotes pour le variant comparativement aux sujets homozygotes pour l'allèle sauvage. Lorsque les phénotypes reliés à l'adiposité ont été ajustés pour les comportements alimentaires, seul le changement de circonférence de taille sur six ans est demeuré significativement associé avec le polymorphisme P73T. Ceci suggère que les effets du gène de la NMB sur la variation de l'accumulation de graisse corporelle sont modulés par ses effets sur les comportements alimentaires.

Une étude menée chez des enfants et des adolescents allemands n'a pas montré d'association entre le poids corporel et le polymorphisme P73T de la NMB¹⁰³. Les chercheurs ont toutefois observé une association entre un polymorphisme silencieux (g.401G>A) et le poids corporel¹⁰³. Par contre, selon ces auteurs, il est peu probable que ce polymorphisme contribue lui-même au contrôle du poids ou à la prédisposition génétique à l'obésité. Cette association serait plutôt expliquée par un déséquilibre de liaison avec un variant fonctionnel non identifié. Ainsi, le gène codant la NMB est un excellent gène candidat pour associer les comportements alimentaires et l'obésité^{1, 103}.

Récemment, Spálová et coll. ont observé un niveau de susceptibilité à la faim et un apport calorique plus faible chez les hommes porteurs du variant 73T comparativement aux hommes homozygotes pour l'allèle sauvage (P73P)¹⁰⁴. D'un autre côté, la fréquence des génotypes était la même chez les sujets avec un poids normal, en surpoids ou obèses. De plus, les chercheurs ont observé que les hommes porteurs du variant étaient caractérisés par une réponse moins favorable à un programme de contrôle de poids de trois ans que les hommes non porteurs. En effet, les hommes porteurs du variant ont eu une moins grande diminution de la circonférence de taille et de l'apport calorique comparativement aux hommes non porteurs. Aucune différence n'a été observée chez les femmes.

Des analyses effectuées à posteriori à l'aide des données de l'Étude des familles de Québec ont montré que les associations entre le polymorphisme P73T et les comportements alimentaires étaient plus fortes chez les femmes que chez les hommes (données non publiées). De plus, lorsque les sujets homozygotes étaient pairés pour l'âge, le sexe et l'IMC, les femmes homozygotes pour le variant avaient des niveaux de désinhibition et de désinhibition émotionnelle plus élevés que les femmes homozygotes pour l'allèle sauvage. Aucune association n'a été observée chez les hommes. Des analyses ont également révélé¹⁰⁵ que les niveaux d'ARNm de la NMB mesurés dans des tissus d'estomac obtenus de patients subissant une chirurgie bariatrique étaient diminués de 17 % chez les sujets homozygotes pour la mutation (T73T) comparativement aux sujets homozygotes pour l'allèle sauvage (P73P). Ces résultats suggèrent que le polymorphisme P73T de la NMB pourrait avoir un impact fonctionnel sur la satiété et, par conséquent, sur les comportements alimentaires et l'apport calorique.

Les différences entre les résultats obtenus par Spálová et coll. et par Bouchard et coll. pourraient être expliquées par une plus grande homogénéité de la population étudiée et un plus petit nombre de sujets dans la première étude. En effet, Bouchard et coll. ont étudié une population beaucoup plus diversifiée en âge et en indice d'obésité. De plus ces derniers ont analysé les résultats en trois groupes (P73P, P73T, T73T) alors que Spálová et coll. ont analysé leurs résultats en deux groupes (porteurs du variant 73T et P73P). D'un autre côté, les deux études ont démontré un profil moins favorable en matière de gestion de poids chez

les porteurs du variant 73T,, soit une augmentation du poids lors d'un suivi de 6 ans ou une moins grande diminution de la circonférence de taille et de l'apport calorique en réponse à un programme de contrôle de poids lors d'un suivi de trois ans.

5. Objectif et hypothèse de recherche

Les études décrites dans ce chapitre indiquent que les habitudes et comportements alimentaires sont partiellement héritables^{46, 55}, et que le gène de la NMB apparaît comme un gène ayant un impact significatif sur les comportements alimentaires. Cependant, pour mieux comprendre le rôle de la neuroméline- β sur les comportements alimentaires et l'adiposité et pour vérifier l'impact du polymorphisme P73T de la NMB, il est nécessaire de réaliser des études d'intervention en comparant des sujets porteurs et non-porteurs de la mutation. Nous avons donc étudié le polymorphisme P73T en relation avec la prise alimentaire spontanée, les habitudes alimentaires, les comportements alimentaires et l'indice de masse corporel chez un groupe de femmes homozygotes pour le variant et pour l'allèle sauvage.

Objectif de l'étude

Investiguer l'impact du polymorphisme P73T de la NMB sur la prise alimentaire spontanée suite à différentes pré-charges caloriques.

Hypothèse

Les sujets porteurs de la mutation n'ajustent pas leur apport calorique suivant différentes pré-charges caloriques aussi adéquatement que les sujets non porteurs.

Chapitre 2 : Article scientifique

Effects of neuromedin- β on caloric compensation, eating behaviors and habitual food intake.

Effets de la neuromédine- β sur la compensation calorique, les comportements alimentaires et les habitudes alimentaires.

Cet article sera soumis pour publication dans une revue avec comité de lecture.

Résumé

Objectif : Évaluer l'impact du polymorphisme P73T de la neuromédine- β (NMB) sur l'indice de masse corporelle, les comportements et les habitudes alimentaires.

Méthodes : Des femmes pré-ménopausées (N=153) ont été recrutées dans la région métropolitaine de Québec dans le but de trouver des sujets homozygotes pour le variant (N=7) et de les paier à des sujets homozygotes pour l'allèle sauvage pour l'âge et l'IMC. Les comportements alimentaires ont été évalués à l'aide du *Three-Factors Eating Questionnaire (TFEQ)* et les habitudes alimentaires avec un journal alimentaire de trois jours. Les sensations de faim et l'apport alimentaire *ad libitum* ont été mesurés à la suite de l'ingestion de deux pré-charges caloriques différentes (261 et 625 kcal).

Hypothèse : Les sujets T73T n'ajustent pas leur apport calorique suivant les différentes pré-charges caloriques aussi adéquatement que les sujets P73P.

Résultats : Nous n'avons pas observé d'effet du polymorphisme sur l'indice de masse corporelle ni sur les comportements alimentaires. Aucune différence n'a été observée entre les deux génotypes pour les sensations de faim, l'apport alimentaire *ad libitum* et la compensation calorique en réponse aux pré-charges. Les sujets T73T avaient des apports habituels en énergie et en glucides plus faibles que les sujets P73P. L'association avec l'apport en glucides est disparue lorsqu'exprimé en pourcentage de l'énergie.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que le polymorphisme P73T de la NMB module l'apport calorique sans préférence pour les macronutriments. La puissance statistique n'était pas suffisante pour détecter une différence pour la compensation calorique.

Mots clé : neuromédine- β , appétit, habitudes alimentaires, comportements alimentaires

Effects of neuromedin- β on caloric compensation, eating behaviors and habitual food intake.

Rosanne Blanchet¹, Simone Lemieux^{1,2}, Patrick Couture³, Catherine Bégin⁴, Marie-Claude Vohl^{1,2,3}, Louis Pérusse⁵

¹ Institute of Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Québec (Québec), Canada.

² Department of Food Science and Nutrition, Laval University, Québec (Québec), Canada.

³ Lipid Research Center, CHUQ-CHUL Pavilion, Québec (Québec), Canada.

⁴ School of Psychology, Laval University, Québec (Québec), Canada.

⁵ Division of Kinesiology, Department of Social and Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Québec (Québec), Canada.

Address of correspondence:

Louis Pérusse, Ph.D.

Division of Kinesiology,

Department of Social and Preventive Medicine,

Faculty of Medicine, Laval University,

Québec, Québec

Canada, G1K 7P4.

E-mail: louis.perusse@kin.msp.ulaval.ca.

Abstract

Objective: To evaluate effects of neuromedin- β (NMB) P73T polymorphism on body mass index, eating behaviors and food intake.

Methods: Premenopausal women (N=153) were recruited in Quebec City in attempt to find homozygotes for the variant (N=7). They were matched to wild-type homozygotes for age and body mass index (BMI). Eating behaviors were assessed with the Three-Factors Eating Questionnaire and dietary habits with a 3-day dietary record. We measured appetite sensations and *ad libitum* dietary intake following two different energy preloads (261 and 625kcal).

Hypothesis: T73T subjects do not adjust their caloric intake following different energy preload as adequately as P73P subjects.

Results: We did not observe effect of this polymorphism on body mass index or eating behaviors. There were no differences in appetite sensations, *ad libitum* dietary intake and caloric compensation in response to the preloads, between the two genotypes. Homozygotes for the variant had a lower habitual energy and carbohydrate intakes than wild-type homozygotes. Associations with carbohydrate intakes disappeared when expressed as a percentage of energy.

Conclusion: These results suggest that the NMB P73T polymorphism modulate energy intake without preference for macronutrients. Statistical power was insufficient to observe a difference in caloric compensation.

Key words: neuromedin- β , appetite, food intake, eating behaviors

Introduction

Neuromedin-B (NMB) is a satiating peptide from the bombesin-like peptides family¹. It is released in the gut in response to food ingestion to reduce caloric intake^{1,2}. Since it has also been isolated in hypothalamus, a region that integrate signals reflecting nutritional state and control feeding behaviors and energy expenditure³, and that its expression seems to be regulated by changes in energy balance⁴, it could be considered as a new adipose tissue - hypothalamus system regulating dietary intake and energy balance⁴.

Bouchard et al. have shown in the Québec Family Study that the P73T mutation (rs1051168) in the NMB coding gene was associated with higher scores of disinhibition and susceptibility to hunger, and with a higher body weight, body mass index (BMI) and waist circumference⁵. They also suggested that the effects of this polymorphism on body fat accumulation were modulated by its effects on eating behaviors.

More recently, Spálová et al. observed that men carriers of the T variant of the NMB P73T polymorphism had lower energy, protein and fat intakes and hunger score than non-carriers of the variant³. They also observed that men carriers were characterized by a less favorable response to a 3-year weight management program than non-carriers with a smaller decrease in waist circumference and energy intake. Interestingly, only the restraint score of non-carriers increased in response to the program. At the same time, although not statistically significant, hunger score of non-carriers increased and hunger score of carriers decreased.

Analyses from the Québec Family Study have shown that the associations between P73T polymorphism and eating behaviors were stronger in women than in men⁶. Moreover, when homozygotes were matched for age, sex and BMI, women who were homozygotes for the variant had higher level of disinhibition and emotional disinhibition than wild-type homozygotes, and no association was seen in men. Interestingly, the P73T polymorphism was also associated with a reduced expression of NMB in the stomach⁶.

Disinhibition and susceptibility to hunger have been shown to be associated with body weight^{7, 8} and weight gain over time^{9, 10}. Disinhibition has been associated with overconsumption at a buffet test meal and could confer a higher risk to develop obesity¹¹. High level of disinhibition has also been associated with weak satiety response to fatty meals, a high-fat diet and a strong hedonic attraction to palatable food¹². According to this study, this profile of factors could contribute to an average daily positive energy balance from food of approximately 120kcal¹². In laboratory, manipulation of preload energy content can be used to assess subsequent food intake, caloric compensation and consequently energy balance. Likewise, caloric compensation is an indicator of an individual's capacity to adjust energy intake during an *ad libitum* meal in proportion to the amount of energy consumed during a preload. A perfect caloric compensation would indicate that the person eat the same amount of total energy independently of the caloric content of the preload.

In attempt to better understand the role of NMB on eating behaviors and to validate previous results⁵, we conducted an exploratory study to compare food intake and appetite sensations following two experimental conditions, and habitual food intakes, in subjects with and without the NMB P73T mutation. We hypothesized that, compared to non-carriers of the variant (P73P), women who are homozygotes for the variant (T73T) will exhibit a reduced caloric compensation.

Research methods and procedures

Subjects

We recruited 153 healthy premenopausal Caucasian women through different media in the Quebec City metropolitan area. All women included in the study (mean age, 29.9 ± 8.6 years) had normal stable body weight (mean BMI, $22.4 \pm 1.0 \text{ kg/m}^2$) for at least 3 months ($\pm 2.5 \text{ kg}$), were not currently dieting, were not pregnant or lactating, were not presenting metabolic or important psychological disorders, and were not under treatment for coronary heart disease, diabetes, dyslipidemia, or endocrine disorder (except for stable hypothyroid disease). Women with depression or eating disorders, assessed by the Beck Depression Inventory (BDI) and the Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q) were also excluded^{13, 14}. The Revised Restraint Scale¹⁵ was used to assess restraint prior screening appointment. Only women with a score lower than 17 (borderline restrained) were invited to screening.

All women were genotyped for the NMB P73T polymorphism. Seven homozygotes for the variant allele were found. They were paired for age (± 5 years), BMI ($\pm 3 \text{ kg/m}^2$) and for intake of oral contraceptives (yes or no) with 7 wild-type homozygotes. To prevent experimental bias, the consent form indicated that the purpose of the study was to compare dietary habits of P73P and T73T subjects. Subjects were unaware that preloads were different and that food intakes at the buffet test meals were recorded. Each subjects gave their written inform consent to participate to this study, which was approved by the Laval University Research Ethics Committee.

Study Design

Each subjects came for testing twice at about a four-week interval (in order to control for menstrual cycle (early-follicular cycle or within 12 days after the beginning of a new cycle for women taking oral contraceptives continuously). Subjects were asked to eat a

standardised dinner prepared by the study team (600-975 kcal) before 20:00 the day before testing and to restrain from eating or drinking anything else except water after its consumption. They were then asked to come at Clinical Investigation Unit at 7:00am the next morning in a fasting state. Anthropometric variables were measured before subjects received their standardised breakfast (around 7:30). Low and high-calorie milkshakes were given in a randomised single blind cross over design at 10:00 (see Table 1). For breakfast and preloads, subjects were instructed to eat everything within a 20 minutes period. Low-calorie milkshake (LCMS) (261kcal) was made with whole cream, sugar and emulsifier (Secan 1719, *Danisco*) and high-calorie milkshake (HCMS) (625kcal) was made with the same ingredients in same quantity except that maltodextrin was added to increase carbohydrate and therefore energy content of the milkshake (Star-Dry 15, *Nealanders Inc.*). Both milkshakes had the same volume (350 ml) to avoid sensory-specific satiety¹⁶. To increase palatability, butterscotch flavour was added to both milkshakes. At 11:30, subjects received a cold buffet-style meal composed of habitual food to measure *ad libitum* intake (see annexe 1). They were instructed to eat as much food as they wanted and to ask if they wanted more servings. The number and quantities of food items were the same for all subjects and preloads. Each food items was weighed to the nearest 0.1 g before and after meals. Importantly, meals were served and visual analog scales were measured in the same environment (the same table in the same room which was kept free from odours, sounds or other factors that might influence measurements) during both testing session. At the end of the second testing session, women were asked if they noticed differences between the two testing sessions and since they did not know the real aim of the study, they were also asked what they thought the aim of the study was¹⁷.

INSERT TABLE 1 HERE

Genotyping

The P73T mutation is located in exon 2 of the NMB gene. The polymerase chain reaction (PCR) conditions were as follow. In a final volume of 10 μ l, 100 ng genomic DNA was added to a mixture containing a final concentration of deoxybucleotide triphosphate

(dNTP) (Amersham Pharmacia Biotech Inc, Piscataway, NJ), 12 $\mu\text{mol/L}$ each; Taq DNA polymerase (QIAGEN, Valencia, CA), 5 U; buffer 1X [10 X: tris-HCl, KCL, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, and 15 mmol MgCl_2/L ; pH 8.7 (20 °C)]; and Flanking primers (forward 5'-CCTTTGTGGCTCCTTGGTG-3'; reverse 5'-GTTACTTTAGACTGGGTGATG-3'),

50 ηL each. After a 5-min denaturing step at 94 °C, 34 PCR amplification cycles were performed as follows: denaturation at 94 °C for 20 s; annealing at 60 °C for 1 min, extension at 72 °C for 15 s for 10 cycles; denaturation at 94 °C for 20 s; annealing at 52°C for 1 min extension at 72 °C for 15 s for the 24 remaining cycles. In the same well, the PCR mixture dNTPs were digested by using shrimp alkaline phosphatase [Amersham, 0.2 U (final volume: 11 μL)] for 20 min at 37 °C followed by 15 min at 80 °C. Mini-sequencing assay was performed in a final volume of 20 μL (in the same well); deoxythymidine-5'-triphosphate (dTTP)/dideoxynucleotide triphosphate (ddNTP) mix [dTTP, ddATP, dideoxycytidine-5'-triphosphate (ddCTP), and dideoxyguanosine-5'-triphosphate (ddGTP); dNTP and ddNTP were from Amersham Pharmacia Biotech Inc], 1 mol/L each; IRDye tag primer (5'- CTCAGGGAGGTGTGGG-3'), 1 $\eta\text{mol/L}$ (LICOR); Thermosequenase (Amersham Pharmacia Biotech Inc), 3 U; and 0.6 X buffer (10X: tris-HCl, 260 mmol, MgCl_2/L , 65 mmol/L; pH 9.5) were added to microplates. After a 2-min denaturation step at 96 °C, 30 PCR amplification cycles were performed as follows: denaturation at 96 °C, 10 s; annealing at 60 °C, 30 s; and extension at 72 °C, 15 s. Detection was done by using IRDye tagged primer, and the products were analyzed on an automated DNA sequencer (automated sequencer model 4200; LI-COR, Lincoln, NE). The *p.P73T* genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium. To validate our genotyping, 6 control subjects were sequenced from a previous study (Quebec Family Study), and no discrepancy was found between the sequence and the genotype.

Anthropometric profile

All anthropometric measures were performed using standardized procedures according to the Airlie Conference¹⁸. Height was measured to the nearest millimetre with a stadiometer

and body weight was measured to the nearest 0.1 kg on a calibrated balance. Subjects were asked to remove their shoes for these measurements.

Eating Behaviors

The restraint scale is a 10-item scale developed to assess cognitive processes required to restrain eating in face of biological pressures toward weight gain¹⁹⁻²¹. It has two subscales, concern for dieting and weight fluctuation¹⁹. Women with a score higher than 15 (restrained)²² have been shown to counterregulate their *ad libitum* intake following different preloads^{20, 23}. Likewise, restrained people eat more after a high-calorie preload than after a low-calorie preload which is opposite to non-restrained behaviours and this would have brought a bias to the study. Effectively it's harder to observe a clear trend if some people regulate and some people counterregulate their intake.

The Three-Factors Eating Questionnaire²⁴ (TFEQ) is a validated questionnaire which assesses three behaviors: cognitive dietary restraint (conscious control of food intake with concerns about shape and weight), disinhibition (overconsumption of food in response to a variety of stimuli associated with a loss of control on food intake), and susceptibility to hunger (food intake in response to feeling and perceptions of hunger). More specific subscales can also be derived from these general eating behaviors^{25, 26}. Rigid restraint (dichotomous, all-or-nothing approach to eating, dieting, and weight), flexible restraint (gradual approach to eating, dieting, and weight), habitual susceptibility to disinhibition (behaviors that may occur when circumstances predispose to recurrent disinhibition), emotional susceptibility to disinhibition (disinhibition associated with negative affective states), situational susceptibility to disinhibition (disinhibition initiated by specific environmental cues), internal hunger (hunger interpreted and regulated internally), and external hunger (hunger triggered by external cues).

Appetite sensations

At different time points during the testing sessions, women were asked to rate their appetite sensations according to four visual analog scales (VAS) (ranging from 0 to 150 mm): desire to eat, hunger, fullness and prospective food consumption (PFC)²⁷. They were recorded before standardized breakfast, immediately after, and at 30 and 60 minutes after its consumption. They were also recorded before milkshake intake, immediately after, and at 10, 20, 30, 40, 50, 60 minutes after its consumption. Appetite sensations recorded 60 minutes after the consumption of milkshake was also considered as the before buffet value; they were also recorded immediately after the buffet meal. Subjects were asked to indicate how they felt at the moment they completed these questions: how strong is your desire to eat? (very weak to very strong); How hungry do you feel? (not hungry at all to as hungry as I ever felt); How full do you feel? (not full at all to very full); How much food do you think you could eat? (nothing at all to a large amount)²⁷. After each meal (breakfast, milkshake, buffet), they were also asked to rate their appreciation. One-hour post-meal area under the curve (AUC) were calculated for each appetite sensation (for breakfasts and preloads), according to the trapezoid method²⁸ and satiety quotient were calculated as defined by Drapeau et al.²⁹

Dietary and physical activity record

In order to assess differences in habitual food intake, subjects were asked to complete two 3-day dietary records (2 weekdays and 1 week-end day) after their visit at the Clinical Investigation Unit. They were asked to keep their usual habits and to use household measures to evaluate their food intake. After completion of dietary record, a nutritionist reviewed records and nutrients were calculated with Nutrition Data System for Research (NDS-R) software version 4.03, developed by the Nutrition Coordination Center (University of Minnesota, Minneapolis, MN). As proposed by Goldberg et al., cut-off limits were used to take in account for possible underreporting³⁰. According to these cut-off limits, intakes lower than 1.35 x basal metabolic rate (BMR) cannot be representative of

long-term habitual intakes. The percentage of energy (kilocalories) from proteins, carbohydrates and dietary fat were also calculated.

For the physical activity record, subjects had to evaluate their level of activity (on 9 levels) every 15 minutes for 24 hours on the same days as they did their dietary record³¹. We calculated mean energy expenditure and mean energy expenditure by weight.

Statistical analysis

Effects of the NMB P73T polymorphism on body mass index and eating behaviors were evaluated for all women by comparing phenotypes between carriers (P73T and T73T combined) and non-carriers (P73P) of the mutation. A general linear model implemented in the MIXED procedure of SAS was used to test differences between genotype groups after adjustment of the data for age, BMI and intake of oral contraceptive. Differences in buffet test meal intakes were assessed using the Mixed Procedures for repeated measures with genotype, milkshake and genotype X milkshake, in the model. A significant interaction genotype X milkshake would indicate a significant difference in caloric compensation. Caloric compensation was measured as follow: $\text{Caloric compensation (\%)} = [(\text{Meal}_{\text{LCMS}} - \text{Meal}_{\text{HCMS}}) / (\text{Preload}_{\text{HCMS}} - \text{Preload}_{\text{LCMS}})] \times 100$, where $\text{Meal}_{\text{LCMS}}$ is the total energy intake at the test meal after the LCMS and $\text{Meal}_{\text{HCMS}}$ the total energy intake of the test meal after the HCMS. Differences in caloric compensation between the two groups of women were assessed by a t test analysis. This last analysis is another way to measure the interaction between genotype and milkshake.

For appetite sensations, meal appreciation, 1-hour AUC and satiety quotient, the Mixed Procedures for repeated measures was performed to determine the effect of genotype, milkshake and genotype X milkshake. For habitual dietary intake and physical activity, we used mean values of records following both intervention mornings (2 X 3 days) and performed t test between genotypes.

A log-transformation was performed for variables not normally distributed. P values < 0.05 were considered to be statistically significant. Statistical analyses were performed using SAS 9.1 (statistical software, Cary, NC).

Results

Characteristics of women recruited in the present study are presented in Table 2. As shown in Table 2, the frequency of T73T genotype was only 4.6%, which is lower than what was seen in the previous study (10.4%) based on data from the Québec Family Study⁵. We did not observe any difference in body mass index or eating behaviors between carriers of the variant (P73T and T73T) and non-carriers (P73P).

INSERT TABLE 2 HERE

One subject (T73T) dropped out from study due to personal reasons after her first testing session (HCMS). One pair was restrained according to the Restraint Scale, but results remained unchanged when excluded from analyses. Twelve women were taking oral contraceptives.

Three subjects identified differences between milkshakes. From those, one correctly identified HCMS and LCMS, one correctly identified milkshakes but wrongly identified differences in dinner and breakfast and one inversely identified the HCMS and LCMS. No one thought that the purpose of the study was to evaluate their food intake after the consumption of milkshakes but nearly everyone thought it was to evaluate their appetite sensations in response to meals.

Table 3 presents dietary intakes data under the two experimental conditions. As shown in Table 3, genotype had no effect, and there was no interaction between genotype and milkshake, on buffet test meal energy and macronutrient intakes. However, there was a tendency for a decrease in energy, fat (g) and protein (g) intakes following HCMS compared to LCMS ($p = 0.06$, $p = 0.05$, $p = 0.05$, respectively). Associations disappeared when fat and protein intakes were expressed as percentage of energy. T73T genotype group was found to have a higher caloric compensation ($58.6\% \pm 34.3\%$) than P73P group ($30.2\% \pm 31.8\%$) but it did not reach statistic significance ($p = 0.56$).

INSERT TABLE 3 HERE

Measures of each VAS for appetite sensations for both morning tests are presented in figure 1. There was no effect of genotype, milkshake or interaction between these two factors, for any of the 1-hour AUC and satiety quotient, of all measures of appetite sensations. Moreover, there was no difference in appreciation of any meals or preloads between genotypes, and both preloads were equally appreciated (data not shown).

INSERT FIGURE 1 HERE

Table 4 presents habitual food intake for women who did not underreport their intakes. As shown in table 4, only 9 subjects were left for analyses (4 P73P and 5 T73T) after excluding subjects who underreported their habitual dietary intakes. Using means of the two 3-day dietary records, P73P subjects had higher habitual energy intake and carbohydrate intake (g) than T73T subjects ($p < 0.05$) (see table 3). There was no difference in carbohydrate intake, or in other macronutrients intakes, when expressed as a percentage of energy intakes. Analysis of 3-day habitual physical activity records did not reveal differences between genotypes for mean energy expenditure and mean energy expenditure by weight (data not shown).

INSERT TABLE 4 HERE

Discussion

We did not observe any evidence of association between eating behaviors, or anthropometric variables, and P73T polymorphism. This is probably due to a low number of subjects. Effectively, in Québec Family Study, Bouchard et al. observed that the same variant was associated with high level of disinhibition, susceptibility to hunger, body weight, body mass index and waist circumference⁵. Further analysis from this study showed that women who were homozygotes for the variant had higher disinhibition and emotional disinhibition scores than wild-type homozygotes. On the other side, Spálová et al. observed that subjects who carried the variant had a lower susceptibility to hunger score, but they did not observe association with adiposity³. Likewise, P73T polymorphism seems to modulate eating behaviors, even if we did not observe it, but it is uncertain whether or not it modulates anthropometric profile.

Since only two subjects (1 P73P and 1 T73T) correctly identified HCMS and LCMS and no one guessed that food intakes at the buffet meals were recorded, we do not think subjects' beliefs affected our results.

Also, there was no effect of genotype, or interaction between genotype and milkshake, on buffet test meal energy and macronutrient intakes, but we observed an increase of energy, carbohydrate (g) and fat (g) intakes after LCMS which was almost significant. Associations disappeared when carbohydrate and fat intakes were expressed as percentage of energy. This suggests that a lower energy preload increases energy intake at the following *ad libitum* meal when compared to a higher energy preload without any macronutrient preference. The capacity to adjust energy intake following different energy preloads is usually measured by caloric compensation. In this study we did not have a sufficient power to detect a statistically significant difference in caloric compensation. Effectively, we had a power of 45.8% to observe a difference in caloric compensation with $p < 0.05$. We observed that homozygotes for the variant had a higher caloric compensation than wild-type homozygotes but it was not statistically significant. Moreover there was no effect of

genotype on energy intake. We cannot conclude on our hypothesis due to a low number of subjects upon which the present study is based.

Even if we did not observe difference in caloric compensation between both genotype groups, we did observe caloric compensation values that are in the range of those reported in the literature. Indeed, Martins et al. reported that women who followed a 6-week exercise program had a caloric compensation of 35% at the beginning of the program and 55% at the end³². For their part, De Graaf observed a caloric compensation following two preloads (300 and 600 kcal) of 33%, but with considerable interindividual differences³³. Thus, with a caloric compensation of 58.6% and 30.2%, we can conclude that our subjects normally adjusted their short term energy intakes following the manipulation of energy content of preloads.

After analyses of their habitual dietary intakes, we observed that homozygotes for the variant had a lower energy, carbohydrate (g) and fat (g) intakes than wild-type homozygotes. This is different from the observations of Bouchard et al. who did not observe associations with dietary intakes⁵. However, this is in accordance with results from Spálová et al. who observed that carriers of the variant had lower energy, protein (g) and fat (g) intakes than non-carriers³. Since, both studies observed associations with macronutrient intakes when expressed in grams, and that these associations were not seen when expressed as a percentage of energy, it suggests that the NMB P73T polymorphism modulate energy intake without any preference for macronutrients. This is in accordance with the hypothesis that the neuromedin- β could be an adipose tissue - hypothalamus system regulating dietary intake and energy balance⁴.

In conclusion, our results suggest that energy intake is modulated by the neuromedin- β P73T polymorphism. We did not observe difference in eating behaviors, anthropometric variables, caloric compensation, or in dietary intakes and appetite sensations following two different energy preloads, between genotypes. This is probably due to a lack of statistical power caused by the low number of subjects in our study. More studies are necessary to elucidate links between neuromedin- β , eating behaviors and obesity.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-77652). We would like to thank Louise Comeau for her support in the study coordination, the nurses for their excellent work, Claude Leblanc for his help in data analysis, Manon Bélair for her laboratory work, Diane Drolet for secretarial support and all subjects for their participation.

Reference List

1. Ohki-Hamazaki, H. *Neuromedin B. Prog Neurobiol* 62, 297-312 (2000).
2. Ladenheim, E. E. et al. Caudal hindbrain neuromedin B-preferring receptors participate in the control of food intake. *Am J Physiol* 272, R433-7 (1997).
3. Spálová, J. et al. Neuromedin Beta: P73T Polymorphism in Overweight and Obese Subjects. *Physiol. Res.* 57, S39-S48 (2008).
4. Hoggard, N., Bashir, S., Cruickshank, M., Miller, J. D. & Speakman, J. R. Expression of neuromedin B in adipose tissue and its regulation by changes in energy balance. *J Mol Endocrinol* 39, 199-210 (2007).
5. Bouchard, L. et al. Neuromedin beta: a strong candidate gene linking eating behaviors and susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr* 80, 1478-86 (2004).
6. Bouchard, L. et al. Impact of the p.P73T neuromedin beta gene polymorphism on eating behaviors of morbidly obese subjects. Unpublished results (2005).
7. Dykes, J., Brunner, E. J., Martikainen, P. T. & Wardle, J. Socioeconomic gradient in body size and obesity among women: the role of dietary restraint, disinhibition and hunger in the Whitehall II study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 262-8 (2004).
8. Provencher, V., Drapeau, V., Tremblay, A., Despres, J. P. & Lemieux, S. Eating behaviors and indexes of body composition in men and women from the Quebec family study. *Obes Res* 11, 783-92 (2003).
9. Hays, N. P. et al. Eating behavior correlates of adult weight gain and obesity in healthy women aged 55-65 y. *Am J Clin Nutr* 75, 476-83 (2002).
10. Hays, N. P. & Roberts, S. B. Aspects of eating behaviors "disinhibition" and "restraint" are related to weight gain and BMI in women. *Obesity (Silver Spring)* 16, 52-8 (2008).
11. Yeomans, M. R., Tovey, H. M., Tinley, E. M. & Haynes, C. J. Effects of manipulated palatability on appetite depend on restraint and disinhibition scores from the Three-Factor Eating Questionnaire. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 144-51 (2004).
12. Blundell, J. E. et al. Resistance and susceptibility to weight gain: individual variability in response to a high-fat diet. *Physiol Behav* 86, 614-22 (2005).
13. Cole, J. C., Grossman, I., Prilliman, C. & Hunsaker, E. Multimethod validation of the Beck Depression Inventory-II and Grossman-Cole Depression Inventory with an inpatient sample. *Psychol Rep* 93, 1115-29 (2003).
14. Mond, J. M., Hay, P. J., Rodgers, B., Owen, C. & Beumont, P. J. Validity of the Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q) in screening for eating disorders in community samples. *Behav Res Ther* 42, 551-67 (2004).
15. Herman, C. P. & Polivy, J. in A. Stunkard, *Obesity* p. 208-225 (Saunders, Philadelphia, 1980).
16. Bell, E. A., Roe, L. S. & Rolls, B. J. Sensory-specific satiety is affected more by volume than by energy content of a liquid food. *Physiol Behav* 78, 593-600 (2003).
17. DellaValle, D. M., Roe, L. S. & Rolls, B. J. Does the consumption of caloric and non-caloric beverages with a meal affect energy intake? *Appetite* 44, 187-93 (2005).
18. (VA), A. in *Consensus Conference (Human Kinetics Publishers, Champaign, IL, 1988)*.
19. Lowe, M. R. The effects of dieting on eating behavior: a three-factor model. *Psychol Bull* 114, 100-21 (1993).
20. Herman, C. P. & Mack, D. Restrained and unrestrained eating. *J Pers* 43, 647-60 (1975).
21. Herman, C. P. & Polivy, J. Anxiety, restraint, and eating behavior. *J Abnorm Psychol* 84, 66-72 (1975).

22. Fedoroff, I., Polivy, J. & Herman, C. P. The specificity of restrained versus unrestrained eaters' responses to food cues: general desire to eat, or craving for the cued food? *Appetite* 41, 7-13 (2003).
23. Herman, C. P. & Polivy, J. A boundary model for the regulation of eating. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 62, 141-56 (1984).
24. Stunkard, A. J. & Messick, S. The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J Psychosom Res* 29, 71-83 (1985).
25. Bond, M. J., McDowell, A. J. & Wilkinson, J. Y. The measurement of dietary restraint, disinhibition and hunger: an examination of the factor structure of the Three Factor Eating Questionnaire (TFEQ). *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 900-6 (2001).
26. Westenhoefer, J., Stunkard, A. J. & Pudel, V. Validation of the flexible and rigid control dimensions of dietary restraint. *Int J Eat Disord* 26, 53-64 (1999).
27. Hill, A. B., JE. The effects of a high-protein or high-carbohydrate meal on subjective motivation to eat and food preferences. *Nutr Behav* 3, 133-144 (1986).
28. Doucet, E. et al. Appetite after weight loss by energy restriction and a low-fat diet-exercise follow-up. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24, 906-14 (2000).
29. Drapeau, V. et al. Appetite sensations and satiety quotient: predictors of energy intake and weight loss. *Appetite* 48, 159-66 (2007).
30. Goldberg, G. R. et al. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr* 45, 569-81 (1991).
31. Bouchard, C. et al. A method to assess energy expenditure in children and adults. *Am J Clin Nutr* 37, 461-7 (1983).
32. Martins, C., Truby, H. & Morgan, L. M. Short-term appetite control in response to a 6-week exercise programme in sedentary volunteers. *Br J Nutr* 98, 834-42 (2007).
33. de Graaf, C. & Hulshof, T. Effects of weight and energy content of preloads on subsequent appetite and food intake. *Appetite* 26, 139-51 (1996).

Table 1: Dietary composition of high and low-calorie milkshakes

Variables	HCMS	LCMS
Energy (kcal)	625	261
Fat (g)	22.5	22.5
Carbohydrates (g)	102.8	15.3
Proteins (g)	1.5	1.5
Fibres (g)	1.5	1.5

Table 2: Descriptive statistics of the study sample according to the NMB-P73T polymorphism

Variables	T73T	T73P	P73P	P*
N	7 (4.6%)	61 (40.0%)	85 (55.6%)	
Age	30.1 ± 9.5	33.4 ± 9.9	33.3 ± 10.4	0.84
Weight (kg) ¹	63.3 ± 5.2	63.2 ± 7.8	61.9 ± 9.1	0.33
BMI (kg/m ²) ¹	22.5 ± 1.2	23.1 ± 2.5	22.7 ± 2.7	0.40
<i>Restraint Scale</i> ²				
Total	10.9 ± 4.9	11.1 ± 4.7	11.7 ± 5.2	0.48
Weight fluctuation	5.3 ± 3.2	4.7 ± 2.8	4.7 ± 2.8	0.96
Concern for dieting	5.6 ± 2.2	6.4 ± 2.9	6.9 ± 3.4	0.25
<i>Three-factor eating questionnaire</i> ²				
Cognitive Restraint	7.6 ± 3.3	7.0 ± 4.2	7.0 ± 4.7	0.99
Flexible restraint	2.6 ± 1.0	2.7 ± 1.7	2.8 ± 1.7	0.71
Rigid restraint	2.3 ± 1.3	1.9 ± 1.4	2.0 ± 1.7	0.97
Disinhibition	4.7 ± 2.4	5.0 ± 2.6	5.1 ± 3.0	0.88
Habitual disinhibition	0.1 ± 0.4	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.9	0.90
Emotional disinhibition	1.0 ± 1.4	1.1 ± 1.2	1.2 ± 1.2	0.77
Situational disinhibition	2.3 ± 1.1	2.1 ± 1.3	1.9 ± 1.5	0.49
Susceptibility to hunger	5.3 ± 3.0	3.6 ± 2.7	4.0 ± 2.8	0.64
Internal locus of hunger	2.7 ± 2.0	1.3 ± 1.4	1.6 ± 1.5	0.52
External locus of hunger	1.9 ± 1.3	1.5 ± 1.4	1.5 ± 1.4	1.00

Expressed as mean ± std. err.

* p value from comparisons of T-carriers combined (P73T and T73T) and non-carriers (P73P)
Adjusted for intake of oral contraceptive and ¹Adjusted for age, ²Adjusted for age and BMI

Table 3: Dietary intakes at the buffet test meals following high-calorie milkshake (HCMS) and low-calorie milkshake (LCMS) for P73P and T73T genotype

Variables	P73P		T73T		P _{Genotype}	P _{Treatment}	P _{Interaction}
	HCMS	LCMS	HCMS	LCMS			
Energy (kcal)	674.8 ± 108.7	785.8 ± 108.7	616.6 ± 108.7	841.8 ± 15.4	0.99	0.06	0.49
Fat (g)	29.6 ± 5.4	35.0 ± 5.4	25.8 ± 5.4	35.9 ± 5.7	0.84	0.05	0.54
Carbohydrates (g)	77.0 ± 12.6	87.2 ± 12.6	70.1 ± 12.6	95.3 ± 13.5	0.97	0.11	0.48
Proteins (g)	28.7 ± 4.5	34.3 ± 4.5	28.9 ± 4.5	38.7 ± 4.8	0.68	0.05	0.57
Fat (%)	36.8 ± 2.6	41.1 ± 2.6	37.4 ± 2.6	37.3 ± 2.8	0.61	0.37	0.35
Carbohydrates (%)	48.6 ± 3.0	45.9 ± 3.0	45.8 ± 3.0	45.7 ± 3.2	1.00	0.22	0.22
Proteins (%)	17.2 ± 1.4	18.2 ± 1.4	19.0 ± 1.4	18.9 ± 1.5	0.48	0.70	0.59
Caloric compensation (%)	30.2 ± 31.8		58.6 ± 34.3		-	0.56*	-

* p value derived from t test analysis

Table 4: Habitual food intake

Variables	PP	TT	P
N	4	5	
Energy (kcal)	2444.4 ± 430.3	1798.0 ± 336.6	< 0.05
Fat (g)	84.9 ± 19.4	64.9 ± 16.8	0.14
Carbohydrates (g)	313.2 ± 54.0	223.8 ± 53.6	< 0.05
Proteins (g)	93.1 ± 16.6	76.8 ± 6.1	0.08
Fat (%)	31.1 ± 3.0	32.1 ± 6.0	0.78
Carbohydrates (%)	51.5 ± 1.4	50.5 ± 5.54	0.74
Proteins (%)	15.3 ± 0.7	17.4 ± 3.18	0.25

Annexe 1: List of foods served in the buffet test meal.

Turkey and ham slices	Lettuce
Salmon mousse	Tomatoes
Liver pate	Carrots
Gruyere cheese	Butter biscuits
Mozzarella cheese	Chocolate cookies
White bread	Strawberry yoghurt
Whole wheat bread	Crips
Soda crackers	Grapes
Cottage cheese	Oranges
Butter	Milk (2% fat)
Mayonnaise	Orange juice
Ketchup	Dark soda
Italian dressing	White soda
Mustard	Water

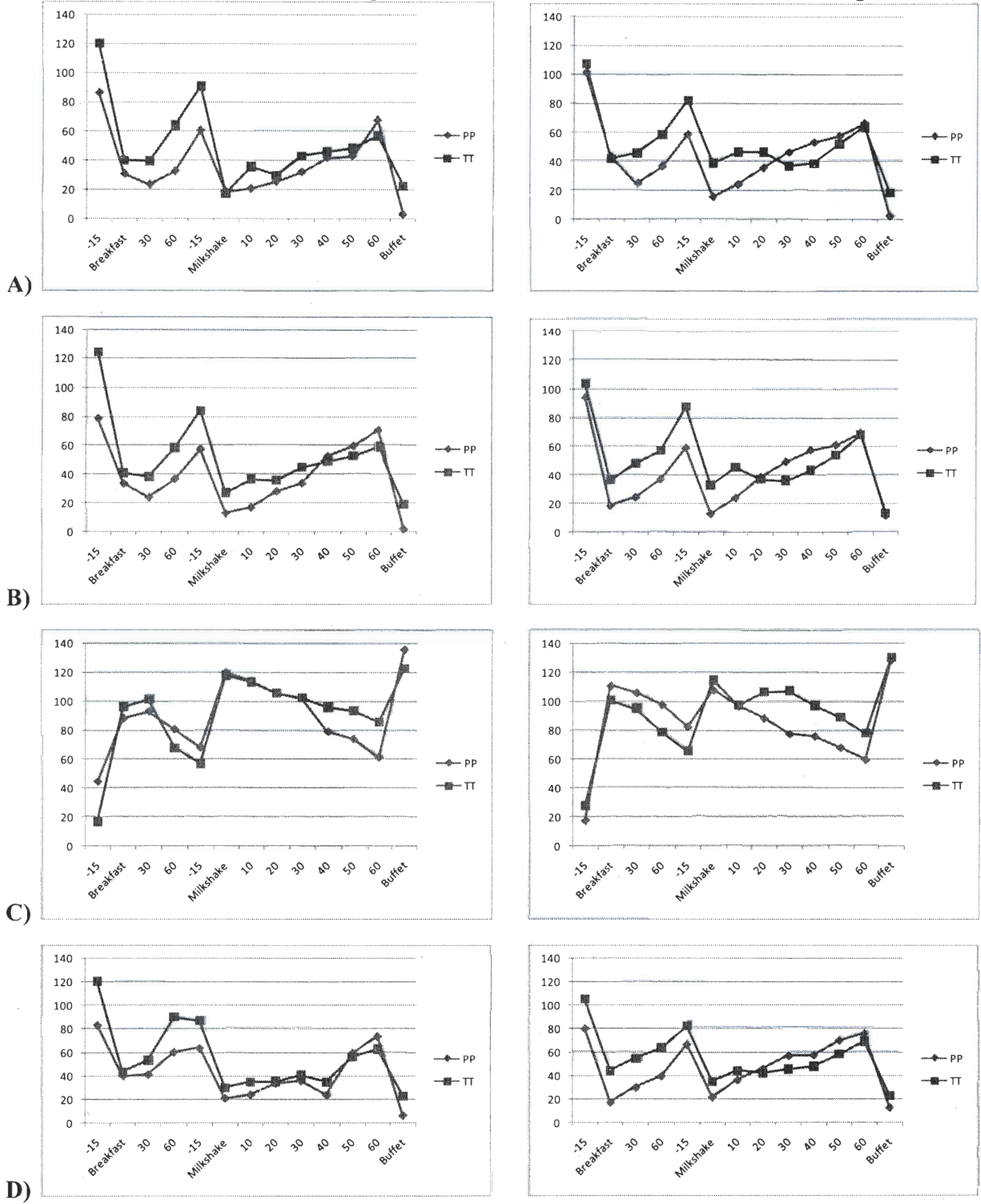
Figure Legend

Figure 1: Visual analog scales for A) Desire to eat, B) Hunger, C) Fullness, D) Prospective food consumption, for high-calorie milkshake testing session on left and low-calorie milkshake testing session on right.

Figure 1

High-calorie Milkshake morning (HCMS)

Low-calorie Milkshake morning (LCMS)



Discussion générale

L'obésité est un problème majeur de santé publique. Bien que nos connaissances sur l'étiologie de cette maladie multifactorielle aient évoluées énormément au cours des dernières années, encore peu de choses sont connues à propos des facteurs génétiques l'influençant. De plus, nous savons que les comportements alimentaires modulent l'adiposité et les apports alimentaires, mais peu d'études ont regardé les liens entre la génétique et les comportements alimentaires. Pour ce projet de maîtrise nous nous sommes concentrés sur un gène pouvant moduler les habitudes alimentaires et l'adiposité. Celui-ci a été identifié précédemment par un criblage génomique réalisé au sein de l'Étude des familles de Québec, soit le gène de la neuromédine- β .

Le principal objectif du projet d'intervention dont fait l'objet ce mémoire était de mieux comprendre les liens entre le polymorphisme P73T de la NMB, les habitudes alimentaires, les comportements alimentaires et l'adiposité. Plus précisément, nous avons comparé les variables anthropométriques, les comportements alimentaires, les habitudes alimentaires et les habitudes d'activité physique entre des femmes pré-ménopausées homozygotes pour le variant et pour l'allèle sauvage. De plus, nous avons aussi évalué leurs sensations de faim et de satiété et leur capacité à ajuster leurs apports alimentaires en réponse à la manipulation du contenu énergétique d'une pré-charge. Notre hypothèse principale était que les sujets homozygotes pour le variant (T73T) n'auraient pas la capacité d'ajuster leur apport calorique aussi adéquatement que les sujets homozygotes pour l'allèle sauvage (P73P) suite à la consommation de deux pré-charges possédant un contenu énergétique différent. Ainsi, nous n'avons pas observé de différence dans l'indice de masse corporelle, les comportements alimentaires, ni dans la réponse à la consommation des pré-charges, que ce soit pour les sensations de faim et de satiété ou pour la capacité d'ajuster l'apport calorique subséquent. Par contre, nos résultats suggèrent que ce polymorphisme module les apports caloriques habituels mais n'affecte pas la préférence pour les macronutriments. En effet, les sujets porteurs du génotype P73P avaient des apports caloriques supérieurs à ceux des sujets porteurs du génotype T73T. Ceci est conforme à ce que Spálová et coll. ont

observé¹⁰⁴, mais différent des résultats de Bouchard et coll. qui n'ont pas observé d'impact de ce polymorphisme sur les apports alimentaires¹.

Cette étude a une grande force, il s'agit de la première étude d'intervention contrôlée étudiant les effets génétiques sur les comportements alimentaires et l'obésité. De plus, nous avons contrôlé plusieurs facteurs confondants (ex : la restriction, la dépression, etc.) qui aurait pu influencer nos résultats. La principale limite de cette étude est le faible nombre de sujets. Ainsi, nous sommes parvenus à trouver seulement sept femmes pré-ménopausées porteuses du génotype T73T parmi les 153 femmes que nous avons recrutées. La prévalence du génotype T73T que nous avons obtenue (4,6 %) est nettement inférieure à la prévalence obtenue précédemment dans une cohorte de la même région démographique (10,4 %)¹. Cette étude aurait donc besoin d'être validée auprès d'une cohorte comprenant plus de sujets.

Le devis de l'étude nous a permis de bien mesurer ce qui nous intéressait : la prise alimentaire. Par contre, il aurait pu être intéressant d'ajouter une condition sans pré-charge. Ceci nous aurait permis d'évaluer la réponse normale des sujets à un buffet. De plus, la mesure du temps d'ingestion du repas est une variable indépendante qu'il aurait été intéressant d'analyser. Cette mesure a été prise, mais pas chez tous les sujets en raison de problèmes de logistique rendant son analyse impossible. Une prise calorique élevée en peu de temps pourrait indiquer que la personne peut consommer plus de calories sans ressentir les effets physiologiques de la satiété. Ceci pourrait entraîner une plus grande prise alimentaire et favoriser le gain de poids.

Le résultat de cette étude est important, il nous indique que l'apport calorique est influencé par notre hérédité, un facteur incontrôlable. Le but d'étudier ces facteurs génétiques est de connaître le profil génétique de chaque personne et de savoir dans quelle mesure il influence ses habitudes et comportements alimentaires. Ainsi, les professionnels de la santé pourront adapter leurs approches à chaque personne et mieux les aider à contrôler leur poids.

Conclusion

En conclusion, la neuromédine- β semble être un peptide capable d'influencer les apports alimentaires et ainsi de jouer un rôle dans la régulation de la balance énergétique. Les résultats obtenus lors d'études génétiques ont démontré qu'elle est impliquée dans les comportements alimentaires, les habitudes alimentaires et l'adiposité. Ainsi, elle semble être un excellent gène candidat. D'autres études d'intervention sont par contre nécessaires pour nous permettre de mieux comprendre ses effets et valider son impact réel sur la prise alimentaire.

Bibliographie

1. Bouchard, L. et al. Neuromedin beta: a strong candidate gene linking eating behaviors and susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr* 80, 1478-86 (2004).
2. (World Health Organization, 2006).
3. McCrory, M. A., Suen, V. M. & Roberts, S. B. Biobehavioral influences on energy intake and adult weight gain. *J Nutr* 132, 3830S-3834S (2002).
4. Blundell, J. E. & Finlayson, G. Is susceptibility to weight gain characterized by homeostatic or hedonic risk factors for overconsumption? *Physiol Behav* 82, 21-5 (2004).
5. Jeffery, R. W. & Harnack, L. J. Evidence implicating eating as a primary driver for the obesity epidemic. *Diabetes* 56, 2673-6 (2007).
6. Ruderman, A. J. Dietary restraint: a theoretical and empirical review. *Psychol Bull* 99, 247-62 (1986).
7. Williamson, D. A. et al. Measurement of dietary restraint: validity tests of four questionnaires. *Appetite* 48, 183-92 (2007).
8. Herman, C. P. & Polivy, J. in A. Stunkard, *Obesity* p. 208-225 (Saunders, Philadelphia, 1980).
9. Herman, C. P. & Mack, D. Restrained and unrestrained eating. *J Pers* 43, 647-60 (1975).
10. Ruderman, A. J. The restraint scale: a psychometric investigation. *Behav Res Ther* 21, 253-8 (1983).
11. Tuschl, R. J. From dietary restraint to binge eating: some theoretical considerations. *Appetite* 14, 105-9 (1990).
12. Brunstrom, J. M., Yates, H. M. & Witcomb, G. L. Dietary restraint and heightened reactivity to food. *Physiol Behav* 81, 85-90 (2004).
13. Polivy, J. & Herman, C. P. Diagnosis and treatment of normal eating. *J Consult Clin Psychol* 55, 635-44 (1987).
14. Ruderman, A. J. & Wilson, G. T. Weight, restraint, cognitions and counterregulation. *Behav Res Ther* 17, 581-90 (1979).
15. Herman, C. P. & Polivy, J. A boundary model for the regulation of eating. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 62, 141-56 (1984).
16. Lowe, M. R. The effects of dieting on eating behavior: a three-factor model. *Psychol Bull* 114, 100-21 (1993).
17. Stunkard, A. J. & Messick, S. The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. *J Psychosom Res* 29, 71-83 (1985).
18. Westenhoefer, J., Stunkard, A. J. & Pudel, V. Validation of the flexible and rigid control dimensions of dietary restraint. *Int J Eat Disord* 26, 53-64 (1999).
19. Westenhoefer, J., Broeckmann, P., Munch, A. K. & Pudel, V. Cognitive control of eating behaviour and the disinhibition effect. *Appetite* 23, 27-41 (1994).
20. Bellisle, F. & Dalix, A. M. Cognitive restraint can be offset by distraction, leading to increased meal intake in women. *Am J Clin Nutr* 74, 197-200 (2001).
21. Westenhoefer, J. Dietary restraint and disinhibition: is restraint a homogeneous construct? *Appetite* 16, 45-55 (1991).

22. Dykes, J., Brunner, E. J., Martikainen, P. T. & Wardle, J. Socioeconomic gradient in body size and obesity among women: the role of dietary restraint, disinhibition and hunger in the Whitehall II study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 262-8 (2004).
23. Hays, N. P. et al. Eating behavior correlates of adult weight gain and obesity in healthy women aged 55-65 y. *Am J Clin Nutr* 75, 476-83 (2002).
24. Drapeau, V. et al. Do 6-y changes in eating behaviors predict changes in body weight? Results from the Quebec Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27, 808-14 (2003).
25. Lemoine, S. et al. Effect of weight reduction on quality of life and eating behaviors in obese women. *Menopause* 14, 432-40 (2007).
26. Foster, G. D. et al. The Eating Inventory in obese women: clinical correlates and relationship to weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22, 778-85 (1998).
27. Provencher, V., Drapeau, V., Tremblay, A., Despres, J. P. & Lemieux, S. Eating behaviors and indexes of body composition in men and women from the Quebec family study. *Obes Res* 11, 783-92 (2003).
28. Timko, C. A. & Perone, J. Rigid and flexible control of eating behavior in a college population. *Eat Behav* 6, 119-25 (2005).
29. Bond, M. J., McDowell, A. J. & Wilkinson, J. Y. The measurement of dietary restraint, disinhibition and hunger: an examination of the factor structure of the Three Factor Eating Questionnaire (TFEQ). *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 900-6 (2001).
30. Carmody, T. P., Brunner, R. L. & St Jeor, S. T. Dietary helplessness and disinhibition in weight cyclers and maintainers. *Int J Eat Disord* 18, 247-56 (1995).
31. Provencher, V. et al. Eating behaviours, dietary profile and body composition according to dieting history in men and women of the Quebec Family Study. *Br J Nutr* 91, 997-1004 (2004).
32. McGuire, M. T., Wing, R. R., Klem, M. L., Lang, W. & Hill, J. O. What predicts weight regain in a group of successful weight losers? *J Consult Clin Psychol* 67, 177-85 (1999).
33. Elfhag, K. & Rossner, S. Who succeeds in maintaining weight loss? A conceptual review of factors associated with weight loss maintenance and weight regain. *Obes Rev* 6, 67-85 (2005).
34. Hays, N. P. & Roberts, S. B. Aspects of eating behaviors "disinhibition" and "restraint" are related to weight gain and BMI in women. *Obesity (Silver Spring)* 16, 52-8 (2008).
35. Bryant, E. J., King, N. A. & Blundell, J. E. Disinhibition: its effects on appetite and weight regulation. *Obes Rev* (2007).
36. Blundell, J. E. et al. Resistance and susceptibility to weight gain: individual variability in response to a high-fat diet. *Physiol Behav* 86, 614-22 (2005).
37. Yeomans, M. R., Tovey, H. M., Tinley, E. M. & Haynes, C. J. Effects of manipulated palatability on appetite depend on restraint and disinhibition scores from the Three-Factor Eating Questionnaire. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 144-51 (2004).
38. Haynes, C., Lee, M. D. & Yeomans, M. R. Interactive effects of stress, dietary restraint, and disinhibition on appetite. *Eat Behav* 4, 369-83 (2003).

39. Bellisle, F. et al. The Eating Inventory and body adiposity from leanness to massive obesity: a study of 2509 adults. *Obes Res* 12, 2023-30 (2004).
40. Provencher, V. et al. Short-term effects of a "health-at-every-size" approach on eating behaviors and appetite ratings. *Obesity (Silver Spring)* 15, 957-66 (2007).
41. Steinle, N. I. et al. Eating behavior in the Old Order Amish: heritability analysis and a genome-wide linkage analysis. *Am J Clin Nutr* 75, 1098-106 (2002).
42. Keller, K. L., Pietrobelli, A., Must, S. & Faith, M. S. Genetics of eating and its relation to obesity. *Curr Atheroscler Rep* 4, 176-82 (2002).
43. Rice, T., Perusse, L., Bouchard, C. & Rao, D. C. Familial aggregation of body mass index and subcutaneous fat measures in the longitudinal Quebec family study. *Genet Epidemiol* 16, 316-34 (1999).
44. de Castro, J. M. Genetic influences on daily intake and meal patterns of humans. *Physiol Behav* 53, 777-82 (1993).
45. de Castro, J. M. Independence of genetic influences on body size, daily intake, and meal patterns of humans. *Physiol Behav* 54, 633-9 (1993).
46. de Castro, J. M. & Lilenfeld, L. R. Influence of heredity on dietary restraint, disinhibition, and perceived hunger in humans. *Nutrition* 21, 446-55 (2005).
47. Rankinen, T. & Bouchard, C. Genetics of food intake and eating behavior phenotypes in humans. *Annu Rev Nutr* 26, 413-34 (2006).
48. Reed, D. R., Bachmanov, A. A., Beauchamp, G. K., Tordoff, M. G. & Price, R. A. Heritable variation in food preferences and their contribution to obesity. *Behav Genet* 27, 373-87 (1997).
49. van den Bree, M. B., Eaves, L. J. & Dwyer, J. T. Genetic and environmental influences on eating patterns of twins aged ≥ 50 y. *Am J Clin Nutr* 70, 456-65 (1999).
50. Perusse, L. et al. Familial resemblance in energy intake: contribution of genetic and environmental factors. *Am J Clin Nutr* 47, 629-35 (1988).
51. de Castro, J. M. Heredity influences the dietary energy density of free-living humans. *Physiol Behav* 87, 192-8 (2006).
52. Sellers, T. A., Kushi, L. H. & Potter, J. D. Can dietary intake patterns account for the familial aggregation of disease? Evidence from adult siblings living apart. *Genet Epidemiol* 8, 105-12 (1991).
53. Collaku, A. et al. A genome-wide linkage scan for dietary energy and nutrient intakes: the Health, Risk Factors, Exercise Training, and Genetics (HERITAGE) Family Study. *Am J Clin Nutr* 79, 881-6 (2004).
54. Cai, G. et al. Quantitative trait locus determining dietary macronutrient intakes is located on human chromosome 2p22. *Am J Clin Nutr* 80, 1410-4 (2004).
55. Provencher, V. et al. Familial resemblance in eating behaviors in men and women from the Quebec Family Study. *Obes Res* 13, 1624-9 (2005).
56. Neale, B. M., Mazzeo, S. E. & Bulik, C. M. A twin study of dietary restraint, disinhibition and hunger: an examination of the eating inventory (three factor eating questionnaire). *Twin Res* 6, 471-8 (2003).
57. Ukkola, O. et al. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res* 10, 782-91 (2002).
58. Erspamer, V., Erspamer, G. F., Inselvini, M. & Negri, L. Occurrence of bombesin and alatesin in extracts of the skin of three European discoglossid frogs and

- pharmacological actions of bombesin on extravascular smooth muscle. *Br J Pharmacol* 45, 333-48 (1972).
59. Erspamer, V., Erpamer, G. F. & Inselvini, M. Some pharmacological actions of alytesin and bombesin. *J Pharm Pharmacol* 22, 875-6 (1970).
 60. Ohki-Hamazaki, H. *Neuromedin B. Prog Neurobiol* 62, 297-312 (2000).
 61. Yamada, K., Wada, E., Santo-Yamada, Y. & Wada, K. Bombesin and its family of peptides: prospects for the treatment of obesity. *Eur J Pharmacol* 440, 281-90 (2002).
 62. Merali, Z., McIntosh, J. & Anisman, H. Role of bombesin-related peptides in the control of food intake. *Neuropeptides* 33, 376-86 (1999).
 63. McDonald, T. J. et al. Characterization of a gastrin releasing peptide from porcine non-antral gastric tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 90, 227-33 (1979).
 64. Minamino, N., Kangawa, K. & Matsuo, H. *Neuromedin B: a novel bombesin-like peptide identified in porcine spinal cord. Biochem Biophys Res Commun* 114, 541-8 (1983).
 65. Wada, E. et al. cDNA cloning, characterization, and brain region-specific expression of a neuromedin-B-preferring bombesin receptor. *Neuron* 6, 421-30 (1991).
 66. Jensen, R. T., Battey, J. F., Spindel, E. R. & Benya, R. V. International Union of Pharmacology. LXVIII. Mammalian bombesin receptors: nomenclature, distribution, pharmacology, signaling, and functions in normal and disease states. *Pharmacol Rev* 60, 1-42 (2008).
 67. Ohki-Hamazaki, H., Wada, E., Matsui, K. & Wada, K. Cloning and expression of the neuromedin B receptor and the third subtype of bombesin receptor genes in the mouse. *Brain Res* 762, 165-72 (1997).
 68. Ohki-Hamazaki, H., Iwabuchi, M. & Maekawa, F. Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. *Int J Dev Biol* 49, 293-300 (2005).
 69. Hoggard, N., Bashir, S., Cruickshank, M., Miller, J. D. & Speakman, J. R. Expression of neuromedin B in adipose tissue and its regulation by changes in energy balance. *J Mol Endocrinol* 39, 199-210 (2007).
 70. Gonzalez, N., Moody, T. W., Igarashi, H., Ito, T. & Jensen, R. T. Bombesin-related peptides and their receptors: recent advances in their role in physiology and disease states. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 15, 58-64 (2008).
 71. Minamino, N., Masuda, H., Kangawa, K. & Matsuo, H. Regional distribution of neuromedin K and neuromedin L in rat brain and spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun* 124, 731-8 (1984).
 72. Namba, M. et al. Presence of neuromedin B-like immunoreactivity in the brain and gut of rat and guinea-pig. *Peptides* 6 Suppl 3, 257-63 (1985).
 73. Namba, M., Ghatei, M. A., Gibson, S. J., Polak, J. M. & Bloom, S. R. Distribution and localization of neuromedin B-like immunoreactivity in pig, cat and rat spinal cord. *Neuroscience* 15, 1217-26 (1985).
 74. Moody, T. W., Korman, L. Y. & O'Donohue, T. L. Neuromedin B-like peptides in rat brain: biochemical characterization, mechanism of release and localization in synaptosomes. *Peptides* 7, 815-20 (1986).
 75. Sakamoto, A., Kitamura, K., Haraguchi, Y., Yoshida, T. & Tanaka, K. Immunoreactive neuromedin B and neuromedin C: distribution and molecular

- heterogeneity in rat and human tissue extracts. *Am J Gastroenterol* 82, 1035-41 (1987).
76. Steel, J. H. et al. Localization of 7B2, neuromedin B, and neuromedin U in specific cell types of rat, mouse, and human pituitary, in rat hypothalamus, and in 30 human pituitary and extrapituitary tumors. *Endocrinology* 122, 270-82 (1988).
 77. Wada, E., Way, J., Lebacqz-Verheyden, A. M. & Battey, J. F. Neuromedin B and gastrin-releasing peptide mRNAs are differentially distributed in the rat nervous system. *J Neurosci* 10, 2917-30 (1990).
 78. Ladenheim, E. E. et al. Caudal hindbrain neuromedin B-preferring receptors participate in the control of food intake. *Am J Physiol* 272, R433-7 (1997).
 79. Khunawat, P. Comparison of bombesin (B), neuromedin B (NB) and neuromedin C (NC) on food intake, body temperature and behavior of rats. *Fed Proc* 45, 794 (1986).
 80. Cowan, A. Behavioral effects of bombesin. *Ann N Y Acad Sci* 547, 204-9 (1988).
 81. Itoh, S., Takashima, A., Itoh, T. & Morimoto, T. Open-field behavior of rats following intracerebroventricular administration of neuromedin B, neuromedin C, and related amphibian peptides. *Jpn J Physiol* 44, 271-81 (1994).
 82. Ladenheim, E. E., Taylor, J. E., Coy, D. H. & Moran, T. H. Blockade of feeding inhibition by neuromedin B using a selective receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 271, R7-9 (1994).
 83. Itoh, S., Takashima, A., Itoh, T. & Morimoto, T. Effects of neuromedins and related peptides on the body temperature of rats. *Jpn J Physiol* 45, 37-45 (1995).
 84. Plamondon, H. & Merali, Z. Effects of central neuromedin B and related peptides on blood glucose. *Regul Pept* 47, 133-40 (1993).
 85. Von Schrenck, T. et al. Neuromedin B receptor in esophagus: evidence for subtypes of bombesin receptors. *Am J Physiol* 256, G747-58 (1989).
 86. Rettori, V., Pazos-Moura, C. C., Moura, E. G., Polak, J. & McCann, S. M. Role of neuromedin B in control of the release of thyrotropin in hypothyroid and hyperthyroid rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 3035-9 (1992).
 87. Merali, Z. et al. Bombesin receptors as a novel anti-anxiety therapeutic target: BB1 receptor actions on anxiety through alterations of serotonin activity. *J Neurosci* 26, 10387-96 (2006).
 88. Matusiak, D. et al. Neuromedin B and its receptor are mitogens in both normal and malignant epithelial cells lining the colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288, G718-28 (2005).
 89. Moody, T. W., Jensen, R. T., Garcia, L. & Leyton, J. Nonpeptide neuromedin B receptor antagonists inhibit the proliferation of C6 cells. *Eur J Pharmacol* 409, 133-42 (2000).
 90. Siegfried, J. M. et al. Expression of mRNA for gastrin-releasing peptide receptor by human bronchial epithelial cells. Association with prolonged tobacco exposure and responsiveness to bombesin-like peptides. *Am J Respir Crit Care Med* 156, 358-66 (1997).
 91. Moody, T. W., Staley, J., Zia, F., Coy, D. H. & Jensen, R. T. Neuromedin B binds with high affinity, elevates cytosolic calcium and stimulates the growth of small-cell lung cancer cell lines. *J Pharmacol Exp Ther* 263, 311-7 (1992).

92. Moody, T. W. et al. In vitro and in vivo antitumor effects of cytotoxic camptothecin-bombesin conjugates are mediated by specific interaction with cellular bombesin receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 318, 1265-72 (2006).
93. Namba, M., Ghatei, M. A., Ghiglione, M. & Bloom, S. R. Effects of decapeptide of mammalian bombesin and neuromedin B on pancreatic exocrine secretion in the rat. *Digestion* 34, 105-14 (1986).
94. Greeley, G. H., Jr., Spannagel, A., Hill, F. L. & Thompson, J. C. Comparison of the actions of bombesin, gastrin-releasing peptide-27, neuromedin B, and gastrin-releasing peptide-10 in causing release of gastrin and gastric inhibitory peptide in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 183, 136-9 (1986).
95. Mukai, H., Kawai, K., Suzuki, Y., Yamashita, K. & Munekata, E. Stimulation of dog gastropancreatic hormone release by neuromedin B and its analogues. *Am J Physiol* 252, E765-71 (1987).
96. Rettori, V. et al. Role of neuromedin B in the control of the release of thyrotropin in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 4789-92 (1989).
97. Ladenheim, E. E. et al. Disruptions in feeding and body weight control in gastrin-releasing peptide receptor deficient mice. *J Endocrinol* 174, 273-81 (2002).
98. Bedard, T., Mountney, C., Kent, P., Anisman, H. & Merali, Z. Role of gastrin-releasing peptide and neuromedin B in anxiety and fear-related behavior. *Behav Brain Res* 179, 133-40 (2007).
99. Moody, T. W. & Merali, Z. Bombesin-like peptides and associated receptors within the brain: distribution and behavioral implications. *Peptides* 25, 511-20 (2004).
100. Yamano, M., Ogura, H., Okuyama, S. & Ohki-Hamazaki, H. Modulation of 5-HT system in mice with a targeted disruption of neuromedin B receptor. *J Neurosci Res* 68, 59-64 (2002).
101. Herbeth, B. et al. Polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and food intakes in children and adolescents: the Stanislas Family Study. *Am J Clin Nutr* 82, 467-70 (2005).
102. Lieverse, R. J., Masclee, A. A., Jansen, J. B., Lam, W. F. & Lamers, C. B. Obese women are less sensitive for the satiety effects of bombesin than lean women. *Eur J Clin Nutr* 52, 207-12 (1998).
103. Oeffner, F. et al. Significant association between a silent polymorphism in the neuromedin B gene and body weight in German children and adolescents. *Acta Diabetol* 37, 93-101 (2000).
104. Spálová, J. et al. Neuromedin Beta: P73T Polymorphism in Overweight and Obese Subjects. *Physiol. Res.* 57, S39-S48 (2008).
105. Bouchard, L. et al. Impact of the p.P73T neuromedin beta gene polymorphism on eating behaviors of morbidly obese subjects. Unpublished results (2005).