



UNIL | Université de Lausanne

Unicentre

CH-1015 Lausanne

<http://serval.unil.ch>

Year : 2019

Sucres et stress dans le développement des maladies cardiovasculaires

Cros Jérémy

Cros Jérémy, 2019, Sucres et stress dans le développement des maladies cardiovasculaires

Originally published at : Thesis, University of Lausanne

Posted at the University of Lausanne Open Archive <http://serval.unil.ch>

Document URN : urn:nbn:ch:serval-BIB_67ADB0194D604

Droits d'auteur

L'Université de Lausanne attire expressément l'attention des utilisateurs sur le fait que tous les documents publiés dans l'Archive SERVAL sont protégés par le droit d'auteur, conformément à la loi fédérale sur le droit d'auteur et les droits voisins (LDA). A ce titre, il est indispensable d'obtenir le consentement préalable de l'auteur et/ou de l'éditeur avant toute utilisation d'une oeuvre ou d'une partie d'une oeuvre ne relevant pas d'une utilisation à des fins personnelles au sens de la LDA (art. 19, al. 1 lettre a). A défaut, tout contrevenant s'expose aux sanctions prévues par cette loi. Nous déclinons toute responsabilité en la matière.

Copyright

The University of Lausanne expressly draws the attention of users to the fact that all documents published in the SERVAL Archive are protected by copyright in accordance with federal law on copyright and similar rights (LDA). Accordingly it is indispensable to obtain prior consent from the author and/or publisher before any use of a work or part of a work for purposes other than personal use within the meaning of LDA (art. 19, para. 1 letter a). Failure to do so will expose offenders to the sanctions laid down by this law. We accept no liability in this respect.



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Département de Physiologie

Sucres et stress dans le développement des maladies cardiovasculaires

Thèse de doctorat ès sciences de la vie (PhD)

présentée à la

Faculté de biologie et de médecine
de l'Université de Lausanne

par

Jérémy CROS

Master Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)
de l'Université de Grenoble, France

Jury

Prof. David VERNEZ, Président
Prof. Luc TAPPY, Directeur de thèse
Dre Valérie NOVEL, Experte
Prof. Martine LAVILLE, Experte
Prof. François PRALONG, Expert

Lausanne, 2019

Imprimatur

Vu le rapport présenté par le jury d'examen, composé de

Président·e	Monsieur	Prof.	David	Vernez
Directeur·trice de thèse	Monsieur	Prof.	Luc	Tappy
Expert·e·s	Madame	Dre	Valérie	Novel
	Madame	Prof.	Martine	Laville
	Monsieur	Prof.	François	Pralong

le Conseil de Faculté autorise l'impression de la thèse de

Monsieur Jérémie Cros

Master mouvement, performance, santé, ingénierie, parcours recherche en STAPS,
Université Grenoble-Alpes, France

intitulée

**Sucres et stress dans le développement
des maladies cardiovasculaires**

Lausanne, le 21 juin 2019

pour le Doyen
de la Faculté de biologie et de médecine



Prof. David Vernez

“Life is like riding a bicycle. To keep your balance, you must keep moving.”

Albert Einstein

REMERCIEMENTS

En guise de préambule, je souhaiterais exprimer toute ma gratitude à Hervé Dubouchaud, qui a si bien su répondre à mes envies de stage à l'étranger lors de ma 1^{ère} année de Master. J'étais très loin d'imaginer que ce projet allait dicter mes 6 années de vie suivantes.

Cette belle histoire n'aurait cependant jamais pu voir le jour sans la confiance de mon directeur de thèse. Un énorme MERCI Luc pour ta patience sur toutes ces années, ta culture du « keep cool », la liberté laissée, sans en oublier ta fascinante expertise scientifique. Un énorme MERCI également à toi, Philippe, pour tes qualités pédagogiques, ton apprentissage de la rigueur, ta grande générosité ainsi que pour n'avoir jamais manqué de me rappeler à quel point il y avait également une belle vie à côté du labo.

Je tiens ensuite à remercier très chaleureusement les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de suivre l'évolution de ce travail de thèse, ainsi que pour toutes les discussions passionnantes qu'ils ont animées.

Une énorme reconnaissance également à Robin (ça ne mange pas de pain), Camille C. (aide-moi !), Kévin (grande tige), Lucie (Mc Fleury), Fabian (j'ai la flepp !), Anne-Sophie (on va reposer les bases), Pira (tu me parles meilleur !), Vanessa (pépouse...), Valentine (non mais c'est pas vrai !), Nathalie, Virgile, Léonie, Camille D., Laura, Célia, Christel, Evrim, Christiane, Françoise, Anamelba. Merci pour le cadre de travail stimulant que vous avez créé sur toutes ces années, mais aussi pour votre bonne humeur, votre écoute et votre soutien infailibles. Vous y êtes toutes et tous pour quelque chose si je me suis senti comme à la maison dans ce labo.

Merci infiniment à tous les copains, Tom, Diane, Charlotte, Amande, Fab, Vince, Nadège, Max, Lino, les grenoblois (Candice, Marie, Alex, Fanny), les lyonnais (Jé, Marion, Loïc, Maud, Fabien), les pongistes lausannois (Cédric, Laurent, Bao, Erwan). Merci pour les grands bols d'air frais que vous m'avez procuré durant toute cette thèse. Vous êtes géniaux !

Une reconnaissance sans limite à ma famille, et plus particulièrement à mes parents, qui se sont démenés corps et âmes pour me permettre d'être toujours dans les meilleures conditions de réussite. La plus grosse partie du travail, ce n'est pas moi qui l'ai faite, c'est vous ! Merci à toi aussi Nico d'avoir toujours été là pour moi, ainsi que pour ta joie communicative qui me donne tant d'énergie. Je suis si fier de vous avoir tous les trois à mes côtés.

Et pour finir, Alex... Notre couple s'est épanoui en parallèle de cette thèse, le premier servant de socle indispensable au bon déroulement du second. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu m'as apporté durant cette période. Cette thèse, je te la dédie.

TABLE DES MATIERES

RESUME..... A

ABSTRACT B

ABREVIATIONS C

1 INTRODUCTION - 1 -

1.1 CONTEXTE GENERAL..... - 1 -

1.2 LES SUCRES..... - 3 -

1.2.1 DES COMPOSES NATURELS ET INDUSTRIELS - 3 -

1.2.1.1 Les sucres naturels : saccharose, glucose et fructose - 3 -

1.2.1.2 Sirops de maïs enrichi en fructose..... - 4 -

1.2.1.3 Associations entre consommation de sucres ajoutés et maladies cardiovasculaires - 4 -

1.2.2 METABOLISME GLUCIDIQUE - 6 -

1.2.3 ALIMENTATION RICHE EN SUCRES ET FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRE - 9 -

1.2.3.1 Obésité et distribution anormale de la graisse corporelle..... - 9 -

1.2.3.2 Résistance à l'insuline - 11 -

1.2.3.3 Dyslipidémie - 12 -

1.2.3.4 Stéatose hépatique non-alcoolique - 13 -

1.2.3.5 Hypertension artérielle - 14 -

1.3 LE STRESS - 16 -

1.3.1 CE NOUVEAU « MAL DU SIECLE » AUX PROPRIETES PROTECTRICES - 16 -

1.3.2 REPONSES NEUROENDOCRINIENNES AU STRESS - 17 -

1.3.3 REPONSES METABOLIQUES ET HEMODYNAMIQUES AU STRESS - 18 -

1.3.4 ROLE DU STRESS DANS LE DEVELOPPEMENT DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES - 21 -

1.4 VERS UNE COMPREHENSION PLUS INTEGREE DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES : LES INTERACTIONS SUCRES – STRESS..... - 22 -

1.4.1 EFFETS DU STRESS SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE - 22 -

1.4.2 PRIVATION DE SOMMEIL ET SURALIMENTATION : DES EFFETS SYNERGIQUES ? - 23 -

1.4.2.1 Etat de la littérature - 23 -

1.4.2.2 Objectif projet I - 24 -

1.4.3 LA CONSOMMATION DE SUCRE : UNE STRATEGIE COMPORTEMENTALE POUR ALTERER LES REPONSES DE STRESS ? - 25 -

1.4.3.1 Etat de la littérature - 25 -

1.4.3.2 Objectif projet II..... - 26 -

<u>2</u>	<u>METHODOLOGIE POUR L'EVALUATION DU METABOLISME GLUCIDIQUE CHEZ L'HOMME</u>	<u>- 27 -</u>
2.1	CALORIMETRIE INDIRECTE.....	- 27 -
2.2	TRACEURS ISOTOPIQUES STABLES	- 29 -
2.2.1	FLUX TOTAUX DE GLUCOSE : UTILISATION DU [6,6- ² H ₂ -GLUCOSE]	- 29 -
2.2.2	FLUX EXOGENE DE GLUCOSE : UTILISATION DU [U- ¹³ C ₆]-GLUCOSE	- 31 -
<u>3</u>	<u>RÉSULTATS</u>	<u>- 33 -</u>
3.1	PROJET I.....	- 33 -
3.2	PROJET II.....	- 34 -
<u>4</u>	<u>DISCUSSION GENERALE</u>	<u>- 35 -</u>
4.1	VALIDATION DES MODELES EXPERIMENTAUX DES PROJETS.....	- 35 -
4.1.1	EFFETS D'UNE ALIMENTATION HYPERCALORIQUE, RICHE EN SUCRES ET EN GRAISSES-	- 35 -
4.1.2	REPNSES HEMODYNAMIQUES DURANT UN STRESS MENTAL ET UN CPT	- 36 -
4.2	APPORTS SCIENTIFIQUES ET LIMITATIONS DES PROJETS	- 37 -
4.3	L'OBESITE : LE POINT DE DEPART DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES ?	- 38 -
4.3.1	REPNSES DE STRESS CHEZ LES INDIVIDUS OBESES	- 38 -
4.3.2	HETEROGENEITE DES REPNSES DE STRESS	- 39 -
4.4	L'EXERCICE PHYSIQUE COMME MOYEN DE PREVENTION DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES	- 41 -
<u>5</u>	<u>CONCLUSION</u>	<u>- 42 -</u>
5.1	MODELISATION DES INTERACTIONS SUCRES – STRESS DANS LE DEVELOPPEMENT DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES.....	- 42 -
5.2	IMPLICATION PRATIQUE ET PERSPECTIVE.....	- 43 -
<u>6</u>	<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	<u>- 46 -</u>
<u>7</u>	<u>LISTE DES PUBLICATIONS</u>	<u>- 57 -</u>
<u>8</u>	<u>COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ET CONFERENCES</u>	<u>- 59 -</u>
<u>9</u>	<u>ANNEXES</u>	<u>- 60 -</u>

RESUME

De multiples études ont démontré qu'une consommation excessive de sucres et une exposition chronique au stress représentaient tous deux des facteurs de risques importants dans le développement des maladies cardiovasculaires. Néanmoins, les interactions entre ces deux facteurs restent, à ce jour, partiellement comprises.

Le premier projet vise à déterminer si les altérations métaboliques engendrées par une alimentation hypercalorique de 6 jours, riche en sucres et en graisses, peuvent être potentialisées par la réponse de stress induite par une privation partielle de sommeil. Comme il était attendu, la suralimentation a engendré une augmentation du contenu intrahépatique en graisses ainsi qu'une augmentation de la production endogène de glucose, suggérant le développement d'une résistance hépatique à l'insuline. Cependant, aucune des altérations rapportées à la suite de la suralimentation n'a été potentialisée par la privation de sommeil.

Le second projet vise à explorer si l'activation des récepteurs au goût sucré peut atténuer les réponses hémodynamiques induites par deux procédures de stress standardisées (i.e. un stress mental et un test au froid). Comme il était attendu, les résistances vasculaires systémiques n'ont pas été altérées par le stress mental, mais ont été augmentées avec le test au froid. L'activation des récepteurs au goût sucré n'a cependant pas modifié les réponses hémodynamiques de stress.

En conclusion, les résultats de ces études sont en accord avec les données de la littérature sur les effets d'une suralimentation de quelques jours, ainsi que sur ceux induits par un stress mental et un test au froid. Les hypothèses proposées en regard des interactions entre les sucres et les réponses de stress n'ont cependant pas été confirmées. Ces résultats ne contestent néanmoins pas qu'une consommation excessive de sucres et une exposition au stress puissent entraîner des complications cardiométaboliques synergiques à long terme.

Mots clés : fructose ; glucose ; système nerveux sympathique ; axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ; résistance à l'insuline ; graisse intrahépatique ; résistance vasculaire systémique.

ABSTRACT

Multiple studies have shown that excessive sugar consumption and exposure to chronic stress are both important risk factors in the development of cardiovascular diseases. However, their combined effects remain to date partly understood.

The first project aims at determining whether the metabolic alterations caused by a 6-day hypercaloric, high-sugar, high-fat diet can be potentiated by partial sleep restriction-induced stress response. As expected, overfeeding increased intrahepatocellular lipid concentration and endogenous glucose production, suggesting the development of hepatic insulin resistance. However, the effects of overfeeding were not potentiated by sleep restriction.

The second project aims at exploring whether sweet taste receptors activation may change hemodynamic responses to two different acute stress procedures (i.e. a mental stress and a cold pressure test). As expected, systemic vascular resistance was not altered by the mental stress, but was increased by the cold pressure test. However, sweet taste receptors activation did not change hemodynamic responses to stress.

In conclusion, the present results confirm data in the literature on the effects of a high-sugar, high-fat overfeeding diet for a few days, as well as the effects induced by a mental stress and a cold pressure test. However, expected interactions between sugar and stress responses have not been confirmed. Furthermore, the results do not challenge the concept that excessive sugar consumption and stress exposure can lead to synergistic cardiometabolic alterations in the long term.

Keywords: fructose; glucose; sympathetic nervous system; hypothalamo-pituitary-adrenal axis; insulin resistance; intrahepatocellular lipid; systemic vascular resistance.

ABBREVIATIONS

ACC, *acetyl-CoA carboxylase*
ACTH, hormone corticotrope
ADP, adenosine diphosphate
ATP, adénosine triphosphate
BEJ, besoins énergétiques journaliers
ChREBP, *carbohydrate responsive element binding protein*
CO₂, dioxyde de carbone
CPT, test au froid
CRH, corticolibérine
FAS, *fatty acid synthase*
FC, fréquence cardiaque
F_ECO₂, fraction expirée en dioxyde de carbone
F_ICO₂, fraction inspirée en dioxyde de carbone
F_EO₂, fraction expirée en oxygène
F_IO₂, fraction inspirée en oxygène
GLUT, transporteur de glucose
¹H-MRS, spectroscopie à résonance magnétique du proton
HDL, lipoprotéine de haute densité
HFCS, sirop de maïs enrichi en fructose
HHS, axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien
IHCL, graisse intrahépatique
IMC, indice de masse corporelle
K_m, constante de Michaelis
LDL, lipoprotéine de faible densité
LPL, lipoprotéine lipase
MPE, *mole percent excess*
N, excrétion urinaire d'azote
NPY, neuropeptide Y
O₂, oxygène
OGTT, test oral de tolérance au glucose
OMS, organisation mondiale de la santé
P, phosphate
PEG, production endogène de glucose
PFK, phosphofructokinase
RaE, débit d'apparition exogène du glucose
RaT, débit d'apparition totale du glucose
RdT, débit de disparition totale du glucose
RVS, résistance vasculaire systémique
SGLT, cotransporteur sodium-glucose
SNS, système nerveux sympathique
SREBP1c, *sterol response element binding protein 1c*
TG, triglycéride
V̇CO₂, excrétion de dioxyde de carbone
V̇O₂, consommation d'oxygène
V̇_E, débit expiratoire
VLDL, lipoprotéines de très basse densité

NB : Les éléments rapportés ci-dessus en *italique* sont les termes anglo-saxons.

1 INTRODUCTION

1.1 Contexte général

Dans le milieu du XVII^e siècle, près de trois-quarts des décès étaient attribués aux maladies infectieuses, à la malnutrition ou encore à des complications liées à la maternité. Seulement 6% des décès recensés étaient associés aux maladies cardiovasculaires et aux cancers [1]. De nos jours, ces rapports ont entièrement été renversés. En 2018, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rapportait que plus de 70% des décès dans le monde étaient imputables aux maladies non-transmissibles¹, telles que l'obésité, le diabète de type 2 ou les maladies cardiovasculaires (i.e. dyslipidémies athérogènes, maladies coronariennes, hypertension artérielle).

Au cours de ces dernières décennies, la communauté scientifique a tenté d'éclaircir les facteurs expliquant l'augmentation de la prévalence de l'obésité et des maladies cardiovasculaires. Plusieurs études ont mis en exergue des susceptibilités génétiques pouvant favoriser le développement de l'obésité [2] et du syndrome métabolique² [4]. Toutefois, il est probable que l'impact de ce déterminant soit insuffisant pour expliquer à lui seul la prévalence de l'obésité, étant donné la rapide évolution de cette dernière, et ce, dans le cadre d'un patrimoine génétique relativement constant [5]. Par ailleurs, il appert que le développement de l'obésité coïncide étroitement avec des évolutions majeures dans nos modes de vie. Sur le plan alimentaire, les apports énergétiques journaliers ont été augmentés de +24% en un peu moins d'un demi-siècle [6]. Cette rapide et importante hausse de consommation peut être expliquée par des modifications de l'environnement agroalimentaire (e.g. aliments transformés à haute densité énergétique, commercialisation de plus grosses portions) et socioculturel (e.g. incitation à la

¹ Source : OMS (<https://www.who.int>)

² Le syndrome métabolique (ou syndrome X) fait référence à l'observation concomitante de plusieurs altérations métaboliques chez un même individu (i.e. obésité abdominale, hypertriglycémie, HDL-cholestérol bas, intolérance au glucose ou diabète de type 2, hypertension). **NB** : la définition du syndrome métabolique peut être différente en fonction des organisations de santé [3].

consommation par le biais des publicités ainsi que du marketing), mais aussi de l'urbanisme (e.g. multiplication des points de ventes) [7]. En parallèle, les modifications dans les secteurs professionnels (e.g. diminution des activités agricoles, mécanisation des outils de travail, développement du secteur tertiaire), la diminution des activités extérieures au détriment des occupations sédentaires (e.g. télévision, jeux vidéo, réseaux sociaux), tout comme la diversification des moyens de transport, ont conduit à un abaissement drastique des dépenses énergétiques journalières [8]. Ce contexte environnemental favorise, par conséquent, l'obtention d'une balance énergétique positive qui, lorsqu'elle est maintenue dans le temps, peut favoriser la prise de poids, le développement de l'obésité et des maladies cardiovasculaires [9].

Il est intéressant de noter qu'une part substantielle des individus obèses (de 10 à 25%) ne développe cependant pas de complications métaboliques et cardiovasculaires [10]. Ce constat suggère par conséquent l'implication d'autres facteurs dans le développement des altérations cardiométaboliques. Dans ce sens, nous sommes quotidiennement confrontés à une multitude de sources de stress, e.g. dans le cadre du travail [11], au travers de nos interactions environnementales (e.g. pollution de l'air, bruit, températures extrêmes) [12] ou psychosociales (e.g. jugement social, agressions) [13]. Or, de multiples travaux ont démontré que l'exposition chronique au stress représentait également un facteur de risque important dans le développement des maladies cardiovasculaires [14].

Bien que les effets induits par les modifications alimentaires et les sources de stress environnementales ont fait l'objet de nombreuses investigations, leurs interactions dans le développement des maladies cardiovasculaires restent à ce jour partiellement étudiées, et constituent l'objet de cette thèse.

1.2 Les sucres

1.2.1 Des composés naturels et industriels

1.2.1.1 Les sucres naturels : saccharose, glucose et fructose

Le saccharose, plus communément appelé sucre de table, est un ingrédient courant de notre alimentation. Il est naturellement synthétisé par certaines plantes, telles que la canne à sucre, la betterave sucrière ou encore le palmier de Palmyre. C'est un diholoside, associant une molécule de glucose avec une molécule de fructose par le biais d'une liaison osidique α 1-2. Le fructose et le glucose sont tous les deux des hexoses, de formule chimique brute identique ($C_6H_{12}O_6$). Ils diffèrent entre eux par la présence d'une fonction aldéhyde en position 1 pour le glucose, tandis que le fructose arbore un groupement cétone en position 2. Le glucose et le fructose sont présents sous forme libre en quantités substantielles dans les fruits et le miel [15].

Avant le XVII^e siècle, le saccharose était quasiment absent de l'alimentation européenne. En tant que substance de luxe, il était essentiellement réservé à un usage pharmaceutique pour les élites ou en tant que monnaie d'échange [16]. La consommation de saccharose commença à croître à partir du XIX^e siècle suite à l'augmentation mondiale de la culture de la canne à sucre, à l'amélioration des procédés d'extraction et de raffinage du sucre, ainsi qu'aux développements des échanges intercontinentaux [17]. Cette augmentation a été particulièrement spectaculaire en Angleterre où la consommation de sucre par individu a été multipliée par 8 en un peu plus de 150 ans (i.e. passant d'une consommation annuelle de 6.8 kg en 1815 à 54.5 kg en 1970) [18]. De nos jours, cet ingrédient fait partie intégrante de notre alimentation. Au-delà de son intérêt nutritif, il est ajouté par l'industrie à de nombreuses préparations comme agent sucrant et/ou de texture, exhausteur de goût ou encore conservateur [19].

1.2.1.2 Sirops de maïs enrichi en fructose

Depuis les années 1970, les sirops de maïs enrichis en fructose (*high-fructose corn syrup*, HFCS) ont progressivement remplacé le saccharose ajouté, notamment en Amérique du Nord [17]. Alors que les sirops enrichis en fructose possèdent le même pouvoir sucrant que celui du saccharose, ils ont par ailleurs l'avantage de bénéficier d'un coût de fabrication plus faible ainsi que de propriétés physico-chimiques plus adaptées aux applications de l'industrie agro-alimentaire (e.g. conservation, stockage, facilité de mélange) [6]. Ces composants, issus de l'extraction de l'amidon du blé ou du maïs, peuvent contenir des proportions variables de glucose et de fructose, sous leurs formes libres. Les HFCS-55 et -42 sont les sirops de maïs enrichis en fructose les plus utilisés dans les productions industrielles. Ils contiennent respectivement 55% et 42% de fructose (la partie restante étant majoritairement composée de glucose) [20]. Malgré les spécificités rapportées, la communauté scientifique s'accorde pour dire qu'il n'existe pas de différence sur les réponses métaboliques ou endocriniennes à la suite de la consommation de quantité équivalente de saccharose ou de HFCS [6, 21].

1.2.1.3 Associations entre consommation de sucres ajoutés et maladies cardiovasculaires

Au cours des cinquante dernières années, la prévalence de l'obésité (défini par un indice de masse corporelle, IMC, $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) a augmenté de manière drastique, tant chez les femmes que les hommes [22]. Aux États-Unis, l'obésité a évolué conjointement à la consommation de sucres ajoutés (particulièrement sous la forme de HFCS) [23]. De nombreux scientifiques ont par conséquent cherché à documenter les effets engendrés par cette élévation de consommation. Ils se sont plus précisément focalisés sur les boissons sucrées (e.g. sodas, jus de fruits), puisque c'est sous cette forme que la moitié des sucres ajoutés sont consommés [24, 25]. Par ailleurs, une alimentation sous forme liquide pourrait induire une altération des signaux satiétogènes

ainsi qu'une consommation excessive de calories, comparativement à une alimentation isocalorique sous forme solide [26]. De nombreuses cohortes épidémiologiques prospectives ont ainsi mis en évidence une association entre la consommation de boissons sucrées et l'obésité [27-29], le diabète de type 2 [30-32], la dyslipidémie [33] ou encore l'hypertension artérielle [34, 35]. Sur la base de ce constat, les organismes gouvernementaux ainsi que certaines associations médicales ont proposé des recommandations sur les quantités maximales que devraient représenter les sucres ajoutés dans les apports énergétiques journaliers. Cependant, les recommandations actuelles sont très disparates et reflètent en partie l'hétérogénéité des conclusions des publications scientifiques sur cette thématique (**Tableau 1**). En France, l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) a récemment recommandé que la consommation de sucres totaux (i.e. de sources naturelles et industrielles) n'excède pas 100 g par jour [36].

Tableau 1 : Recommandations actuelles fixées par les organismes gouvernementaux ainsi que certaines associations médicales sur les apports journaliers maximaux en sucres ajoutés.

Institution	Apport journalier maximal en sucres ajoutés	Date d'émission
OMS ³	< 10% des BEJ, soit 50 g pour une femme et 63 g pour un homme.	2015
Ministères de l'Agriculture et de la Santé américains ⁴	< 10% des BEJ	2015
Comité consultatif scientifique sur la nutrition du Royaume-Uni ⁵	< 5% des BEJ, soit 25 g pour une femme et 31 g pour un homme	2015
Association américaine de cardiologie [37]	Pour une femme : < 100 kcal/j (i.e. 25 g) Pour un homme : < 150 kcal/j (i.e. 38 g)	2009

Les apports journaliers maximaux en sucres ajoutés ont été estimés sur la base d'un besoin énergétique journalier (BEJ) de 2000 kcal pour une femme et de 2500 kcal pour un homme. Abréviations : OMS, organisation mondiale de la santé.

³ Source : OMS (<https://www.who.int>)

⁴ Source : Dietary guidelines for Americans 2015 - 2020, eighth edition (<https://health.gov>)

⁵ Source : The Scientific Advisory Committee on Nutrition recommendations on carbohydrates, including sugars and fibre (<https://www.gov.uk>)

De multiples études ont cherché à identifier le rôle spécifique des sucres dans le développement des maladies cardiovasculaires [38]. Plusieurs d'entre elles ont suggéré que les effets préjudiciables des sucres puissent être plus particulièrement médiés par le fructose, notamment en raison du métabolisme spécifique de ce composé [39-41].

1.2.2 Métabolisme glucidique

Suite à l'ingestion des principaux sucres [e.g. amidon (polymère de glucose), saccharose, HFCS, glucose ou fructose], ces derniers se retrouvent dans l'intestin grêle sous la forme de glucose et/ou de fructose libres. Le glucose traverse la bordure en brosse du pôle apical des entérocytes grâce à un mécanisme de transport actif secondaire couplé au sodium (SGLT-1). Le fructose est quant à lui absorbé par diffusion facilitée, par le biais de transporteurs spécifiques GLUT5. Il est intéressant de noter que la capacité d'absorption du fructose est facilitée et maximale lorsque celui-ci est co-ingéré avec du glucose [42]. Le fructose, de la même manière que le glucose, se diffuse ensuite dans la circulation porte hépatique via des transporteurs GLUT2, situés sur le pôle basolatéral des entérocytes. Une petite portion du fructose peut cependant être oxydée sur place, ou être convertie en lactate ou en glucose [17]. Une fois absorbés dans la circulation porte hépatique, le glucose et le fructose rentrent en contact avec le foie. Bien que leur entrée est principalement médiée par les mêmes transporteurs (i.e. GLUT2), des proportions inégales de ces deux hexoses atteignent réellement les hépatocytes au premier passage (i.e. $\approx 15 - 30\%$ du glucose *vs.* $\approx 85\%$ du fructose [43]). Le métabolisme hépatique spécifique du fructose, illustré dans la **Figure 1** et détaillé de manière exhaustive ailleurs [17, 44], explique en grande partie ces divergences.

De manière simplifiée, le fructose est phosphorylé en fructose-1-phosphate (P), à l'intérieur de l'hépatocyte, sous l'action de l'enzyme spécifique fructokinase. Cette phosphorylation pourrait engendrer une déplétion de l'ATP intracellulaire et s'accompagner d'une augmentation de la

concentration en acide urique [45]. Le fructose-1-P est ensuite scindé par l'enzyme aldolase B en trioses-P, i.e. dihydroxyacétone-P et glycéraldéhyde (ensuite phosphorylé en glycéraldéhyde-3-P par la triokinase), qui rejoignent enfin la voie de la glycolyse. Dans la mesure où la fructokinase et l'aldolase B possèdent toutes les deux une haute affinité pour leur substrat respectif (K_m de la fructokinase pour le fructose ≈ 0.1 mmol/L ; K_m de l'aldolase B pour le fructose-1-P ≈ 1 mmol/L) [46], et étant donné l'absence de contrôle par l'insuline ou de rétroaction négative par l'ATP ou le citrate (i.e. reflet du statut énergétique de la cellule) sur ces deux dernières, la totalité du fructose présent dans l'hépatocyte est alors rapidement convertie en trioses-P. Par ailleurs, dans la mesure où la fructokinase possède une activité enzymatique plus élevée que l'aldolase B, il en découle une accumulation transitoire de fructose-1-P lors de la fructolyse active, qui peut allostériquement agir sur de nombreuses réactions enzymatiques hépatiques [47].

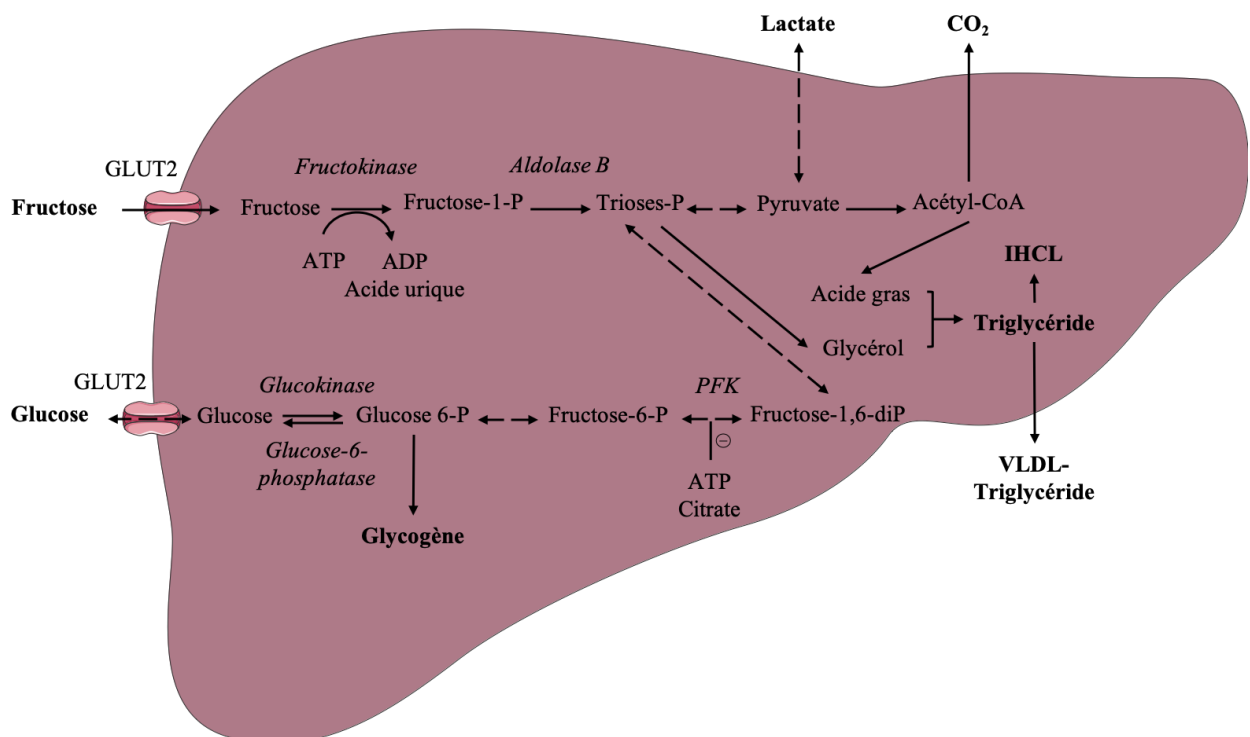


Figure 1 : Métabolisme hépatique du fructose et du glucose.

Abréviations : ADP, adénosine diphosphate ; ATP, adénosine triphosphate ; CO_2 , dioxyde de carbone ; GLUT2, transporteur de glucose 2 ; IHCL, graisse intrahépatique ; P, phosphate ; PFK, phosphofruktokinase ; VLDL, lipoprotéines de très basse densité.

A l'inverse, la dégradation glycolytique du glucose est régulée à plusieurs niveaux. Tout d'abord, la glucokinase régule la phosphorylation du glucose en glucose-6-P à l'intérieur de l'hépatocyte. L'affinité de cette enzyme pour le glucose est faible ($K_m \approx 10$ mmol/L), i.e. une valeur supérieure à la glycémie normale (≈ 5 mmol/L). Par conséquent, la phosphorylation n'a lieu qu'à la suite de changements significatifs dans les concentrations de glucose dans la circulation porte. De plus, la transcription du gène codant la glucokinase est régulée par l'insuline. Par ailleurs, des taux élevés d'ATP ou de citrate inhibent l'activité de la phosphofructokinase (PFK), une autre enzyme impliquée dans la dégradation glycolytique du glucose (i.e. convertissant le fructose-6-P en fructose-1,6-diP).

La fructolyse hépatique entraîne donc, de manière non-réglée, un surplus de trioses-P. L'utilisation de traceurs isotopiques stables [48-51] a permis de démontrer, chez des individus en bonne santé, dans des conditions expérimentales strictes (e.g. allongé, à jeun depuis la veille au soir, après une nuit de sommeil d'au moins 8 heures), que la majeure partie des carbones issus du fructose recirculaient dans la circulation systémique sous la forme de glucose (néoglucogenèse $\approx 50\%$; libération finale catalysée par l'enzyme glucose-6-phosphatase) et de lactate ($\approx 25\%$), tandis qu'une plus faible partie ($\approx 15\%$) était stockée sous forme de glycogène dans l'hépatocyte. La part restante ($\approx 10\%$) peut être soit oxydée dans le cycle de Krebs en CO_2 et H_2O , soit convertie en glycérol ou en acides gras par la voie de la lipogenèse *de novo* puis être libérée dans la circulation systémique en tant que triglycérides (TG) liés aux lipoprotéines de très basse densité (VLDL) ou être stockée sous la forme de graisses intrahépatiques (*intrahepatocellular lipid*, IHCL). Quatre à six heures après l'ingestion, $\approx 50\%$ de la charge de fructose est oxydée, et ce principalement dans les tissus extra-hépatiques (muscles) [52].

De nombreuses données ont montré l'adaptabilité du métabolisme sus-mentionné, en réponse à une alimentation hyperglucidique de quelques jours. Il a en effet été rapporté qu'une consommation excessive de glucose ou de fructose pouvait augmenter l'expression de certains

facteurs de transcription clés (e.g. *Sterol Response Element Binding Protein 1c*, SREBP1c ; *Carbohydrate Responsive Element Binding Protein*, ChREBP), qui sont par ailleurs connus pour réguler l'expression génique de protéines impliquées dans la glycolyse (e.g. GLUT2, glucokinase), la fructolyse (e.g. GLUT5, fructokinase), la néoglucogénèse (e.g. glucose-6-phosphatase) ou encore dans la lipogénèse *de novo* (e.g. *fatty acid synthase*, FAS ; *acetyl-CoA carboxylase*, ACC) [53, 54].

1.2.3 Alimentation riche en sucres et facteurs de risque cardiovasculaire

1.2.3.1 Obésité et distribution anormale de la graisse corporelle

De nombreuses études ont rapporté que l'adjonction de sucres, dans le cadre d'une alimentation *ad libitum*, pouvait favoriser le gain de poids et ainsi promouvoir le développement de l'obésité, tant chez les enfants que chez les adultes [28, 55, 56]. Il reste cependant questionné si la consommation de fructose joue un rôle spécifique dans le développement de l'obésité [40, 57]. D'un point de vue mécanistique, si le fructose favorise effectivement le gain de poids et le développement de l'obésité, cela sous-entend que sa consommation induit une balance énergétique déséquilibrée, i.e. en favorisant les apports alimentaires et/ou en altérant la dépense énergétique. Comparativement au glucose, la consommation de fructose engendre cependant une augmentation de la dépense énergétique de repos, médiée par une élévation de la thermogénèse alimentaire et des oxydations glucidiques nettes [58]. Cette hausse est majoritairement expliquée par le surcoût énergétique engendré par la conversion du fructose en substrats secondaires (i.e. glucose et lactate, principalement) pour permettre ensuite leur oxydation et/ou leur stockage dans les tissus extra-hépatiques [59]. Les effets supposés obésogènes du fructose pourraient donc plutôt provenir d'une augmentation des apports énergétiques. Ce postulat est consolidé par certaines données ayant rapporté une absence de compensation dans les apports énergétiques totaux chez des volontaires soumis à la

consommation de boissons contenant du fructose [60]. Les raisons évoquées pour expliquer ce phénomène pourraient en partie être associées aux propriétés moins satiétogènes du fructose, comparativement à d'autres sucres (i.e. faibles réponses glycémique et insulinémique, concentrations de ghréline élevées et de leptine abaissées, favorisant *in fine* la prise alimentaire) [61]. Cependant, des études interventionnelles ne corroborent pas cette hypothèse, et ne rapportent pas de différence dans les niveaux de satiété ainsi que dans les apports énergétiques totaux à la suite de l'ingestion de boissons contenant des pourcentages variables de fructose [62]. Certaines études rapportent même une réduction subséquente de la prise alimentaire [63]. Il est intéressant de noter que la substitution du saccharose ou du fructose par d'autres sources de glucides n'engendre pas de variations dans le poids corporel [64, 65]. Ces données suggèrent par conséquent que les changements de poids constatés reposent plus sur l'excès calorique ingéré que sur les propriétés spécifiques du fructose. Plusieurs études rapportent à ce propos que la consommation de sucres est significativement associée à un apport énergétique excessif [66, 67]. Cette hypothèse est par ailleurs étayée par un certain nombre d'études épidémiologiques longitudinales ayant démontré que l'association entre la consommation de sucres et la prise de poids était drastiquement atténuée lorsque les apports énergétiques totaux étaient intégrés comme co-variable [56].

L'obésité est un facteur de risque important dans le développement de la résistance à l'insuline, du diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires. Cependant, il a aussi été démontré que le développement de ces altérations était étroitement dépendant de la distribution corporelle des graisses. De multiples études ont en effet rapporté que les individus possédant un excès de tissu adipeux au niveau intra-abdominal ou viscéral, ainsi qu'un dépôt de graisses ectopiques (i.e. foie, muscle squelettique, cœur) présentaient des risques élevés de dysfonctions cardiométaboliques [68]. Une étude interventionnelle a plus particulièrement démontré que la consommation journalière d'un litre de boissons sucrées durant six mois favorisait

l'accumulation de graisse viscérale ainsi que les dépôts de graisses ectopiques chez des individus en surpoids [69]. Sur une population similaire, d'autres données ont suggéré que la consommation de fructose puisse favoriser le dépôt de graisse viscérale de manière plus prononcée que le glucose [40]. Cette distinction n'a cependant pas été confirmée chez des individus en bonne santé soumis à une alimentation hypercalorique, riche en fructose ou en glucose [57].

1.2.3.2 Résistance à l'insuline

De nombreux sujets obèses, possédant notamment une forte adiposité abdominale, souffrent d'une altération de l'homéostasie glucidique, qui peut être expliquée par une résistance à l'insuline des tissus cibles. Cet état peut résulter d'une diminution de la captation du glucose médiée par l'insuline dans le muscle squelettique et le tissu adipeux, et au niveau hépatique, par une augmentation de la production endogène de glucose (PEG) et/ou une atténuation de la capacité de l'insuline à supprimer la PEG. De nombreuses études ont rapporté, chez des individus en bonne santé et de poids normal, soumis à une alimentation riche en fructose, une augmentation significative de la PEG et/ou une atténuation de la capacité de l'insuline à supprimer cette dernière lors de clamp euglycémique-hyperinsulinémique [70-73]. Ces données suggèrent ainsi qu'une alimentation riche en fructose peut favoriser le développement d'une résistance hépatique à l'insuline. Aucun changement dans la captation périphérique du glucose médiée par l'insuline n'a cependant été rapporté lors de ces clamps [70, 71, 73], démontrant que la sensibilité des organes périphériques (muscles squelettiques) à l'insuline n'a pas été altérée [74]. Ces perturbations ont été observées pour des consommations en fructose supérieures à 80 g/jour [70-73], mais pas dans le cadre d'une alimentation de maintien de poids, riche (15%) en saccharose [75, 76]. De manière intéressante, la sensibilité hépatique à l'insuline semble être plus sensible à la consommation de fructose qu'à celle de glucose, malgré l'ingestion de quantités équivalentes [71]. Les mécanismes responsables des altérations

susmentionnées restent hypothétiques, mais pourraient être associés à une augmentation des réserves hépatiques en glycogène (i.e. issues de la néoglucogenèse), ou encore être liés à un phénomène de lipotoxicité hépatique [70]. La prise de poids associée aux protocoles de suralimentation a également été proposée comme facteur confondant [36]. Par ailleurs, des données ont rapporté une altération de la sensibilité du tissu adipeux à l'insuline à la suite d'une suralimentation en fructose (i.e. 3g/kg/jour) de 6 jours [70].

1.2.3.3 Dyslipidémie

De nombreux essais contrôlés ont démontré, à la suite d'une suralimentation en fructose de quelques jours à quelques semaines, une élévation des concentrations de TG à jeun et en période post-prandiale [77, 78]. Ces dernières représentent un facteur de risque important dans le développement des maladies coronariennes [79]. Une méta-analyse a plus particulièrement montré qu'une consommation journalière de fructose de plus de 50 g augmentait les concentrations postprandiales de TG plasmatiques, tandis que l'hypertriglycéridémie à jeun était constatée pour des quantités > 100 g [80]. Les mécanismes responsables de ces élévations peuvent être multifactoriels. D'une part, une augmentation de la voie de la lipogenèse hépatique a été démontrée à la suite d'une consommation de fructose de quelques jours [81], tout comme à la suite d'une charge unique [82]. Les seules propriétés lipogéniques du fructose ne semblent cependant pas suffisantes pour expliquer l'élévation des TG plasmatiques. Une augmentation similaire de la lipogenèse hépatique a en effet été observée chez des volontaires sains et obèses soumis à une suralimentation iso-énergétique riche en glucose ou en saccharose (i.e. mélange glucose/fructose) [83]. D'autre part, des études ont révélé, en mesurant spécifiquement l'incorporation de ^{13}C dans les acides palmitiques contenus dans les VLDL suite à l'ingestion d'une charge orale de ^{13}C -fructose, que l'hypertriglycéridémie postprandiale provenait certes d'une augmentation de la sécrétion des VLDL-TG, mais aussi d'une diminution de leur clairance dans les tissus extra-hépatiques [81]. Certains auteurs ont par ailleurs proposé que

l'altération de clairance puisse provenir d'une diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) du tissu adipeux, qui pourrait résulter de la faible réponse insulinémique induite lors de la prise aiguë de fructose [84] ou, à plus long terme, de l'altération de la sensibilité du tissu adipeux à l'insuline dans le cadre d'une suralimentation [40]. Par ailleurs, la consommation de sucres ne semble pas altérer les autres paramètres du profil lipidique (i.e. HDL- et LDL-cholestérol) [36].

1.2.3.4 Stéatose hépatique non-alcoolique

La stéatose hépatique non-alcoolique se définit comme une accumulation excessive de TG à l'intérieur du foie, en l'absence d'une consommation excessive d'alcool. On parle de stéatose hépatique lorsque les concentrations d'IHCL, mesurées par spectroscopie à résonance magnétique du proton (¹H-MRS), sont supérieures à 60 mmol/L, soit plus de 5% de graisses dans le foie [85]. Des données ont rapporté une corrélation entre les concentrations d'IHCL et le développement d'une résistance à l'insuline [86]. Si l'accumulation d'IHCL peut provenir d'un afflux excessif d'acides gras suite à la stimulation de la lipolyse adipocytaire, elle peut aussi provenir d'une consommation excessive de glucides suite à leur conversion en acides gras par la voie de la lipogénèse hépatique [87]. De nombreuses études interventionnelles ont ainsi démontré une augmentation significative des concentrations d'IHCL suite à la consommation excessive de sucres, dans le cadre d'une alimentation hypercalorique de quelques jours [73, 81, 88-92]. Des études ont par ailleurs cherché à comparer l'influence d'une alimentation riche en fructose ou en glucose sur les IHCL. Bien que la plupart d'entre elles n'observent pas de différence [57, 88, 91], certaines données rapportent une augmentation plus marquée avec le fructose [90]. Cette réponse pourrait être expliquée par la plus haute expression de certains facteurs de transcription lipogéniques clés (e.g. SREBP1c, ChREBP), impliqués dans la synthèse des acides gras (e.g. FAS, ACC), suite à la consommation de fructose, comparativement au glucose [93]. Cependant, il est aussi probable que ces effets soient dictés

par l'excès calorique ingéré plutôt qu'être associés à la consommation d'un macronutriment spécifique. En effet, des données n'ont montré aucune accumulation d'IHCL à la suite d'une alimentation de maintien de poids, riche en fructose ou en glucose [91, 94], tandis que les concentrations d'IHCL étaient augmentées dans le cadre d'une alimentation hypercalorique, riche en graisses [89, 95]. Il est intéressant de noter que l'augmentation des concentrations d'IHCL induite par une alimentation hypercalorique riche en fructose est atténuée par une supplémentation en acides aminés essentiels [81], tandis qu'elle est potentialisée par un apport excessif conjoint en graisses [89].

1.2.3.5 Hypertension artérielle

Bien que de nombreuses études épidémiologiques soutiennent une association entre la consommation de sucres et l'hypertension artérielle (i.e. supérieure à 140/90 mmHg) [34, 35, 96], les conclusions des études interventionnelles sont cependant plus disparates. Certaines rapportent en effet une élévation de la pression artérielle suite à la consommation de fructose [97-99], tandis que d'autres ne démontrent pas de changement [40, 81, 100-102]. Certains auteurs mettent en doute la persistance de ces associations lorsque les effets des sucres sont investigués dans des conditions expérimentales se rapprochant des consommations de la vie réelle [103] ou suite à la prise en compte d'un certain nombre de variables confondantes, telles que l'obésité [104]. Différents mécanismes ont cependant été avancés pour expliquer cette relation potentielle. Des données expérimentales suggèrent que les effets hypertensifs du fructose puissent être en partie médiés par une altération de la fonction endothéliale ou encore être provoqués par une augmentation de la réabsorption du sodium dans le tube contourné proximal. Ces deux mécanismes ont été décrits en détails dans plusieurs revues [104, 105]. Par ailleurs, des données suggèrent que les effets hypertensifs du fructose puissent résulter d'une activité spécifique de ce dernier sur le système nerveux sympathique (SNS). L'administration aiguë de glucose, mais pas celle de fructose, engendre en effet une augmentation de l'activité

efférente sympathique et induit entre autres une augmentation de la vasodilatation artériolaire dans les muscles squelettiques [106, 107]. Des données ont plus particulièrement montré que ces réponses hémodynamiques et cardiovasculaires étaient plus spécifiquement médiées par la libération d'oxyde nitrique induite par l'insuline [108]. Enfin, quelques auteurs ont émis l'hypothèse que la consommation de fructose puisse également avoir une plus forte activité sur les fibres sympathiques vasoconstrictrices [104].

1.3 Le stress

1.3.1 Ce nouveau « mal du siècle » aux propriétés protectrices

De nos jours, le mot « stress » apparaît dans de nombreuses conversations. Dans le langage courant, ce terme peut faire référence à une surcharge de travail, à un état d'anxiété engendré par des cris ou un mouvement de foule, à un état de choc après l'annonce d'un diagnostic de maladie grave, ou encore dans l'attente de la clôture d'une rencontre sportive. Des données rapportent que le travail est l'une des principales sources de stress actuel [109]. En 2003, une étude menée par le Secrétariat d'État à l'économie (SECO) en Suisse a plus particulièrement estimé que la dépense supplémentaire annuelle imputable à l'état de stress était d'environ 650 francs suisses par personne⁶. Cependant, cet état de stress, bien que caractérisé par certains comme le « nouveau mal du siècle » [109], a par ailleurs été longuement décrit comme indispensable à la préservation de la vie. Cette notion a plus particulièrement été introduite par Hans Selye, dans le milieu du XX^e siècle. Il a en effet constaté que lorsqu'il soumettait des souris à de multiples agents stressants (e.g. infection, brûlure, froid), celles-ci répondaient d'une manière stéréotypée, qui se caractérisait par un élargissement des glandes surrénales, une atrophie du thymus et des noyaux lymphatiques, et par une apparition d'ulcères gastro-intestinaux [110]. Ces découvertes ont ainsi conduit au concept selon lequel, lorsque la survie d'un organisme se trouve être menacée, ce dernier met en place une série de réponses neuroendocriniennes réflexes visant à préserver le milieu interne (i.e. un processus dénommé homéostasie [111]) pour *in fine* le détourner de la mort. Plus tard, il a été montré que la prolongation des réponses de stress, tout comme l'absence d'adaptation vis-à-vis d'agents stressants, peuvent à long terme promouvoir le développement de maladies cardiovasculaires [112].

⁶ Source : SECO (<https://www.seco.admin.ch>)

1.3.2 Réponses neuroendocriniennes au stress

Comme énoncé précédemment, tout stimulus menaçant l'organisme déclenche de surcroît une série de réponses neuroendocriniennes (**Figure 2**). Ces réponses comprennent, d'une part, une stimulation du SNS et de la médullosurrénale, induisant une libération de catécholamines (i.e. adrénaline et noradrénaline). Si l'adrénaline et la noradrénaline peuvent toutes les deux se lier aux récepteurs α -adrénergiques sur les muscles lisses vasculaires et entraîner une vasoconstriction, seule l'adrénaline peut se lier aux récepteurs β -adrénergiques et induire une vasodilatation [113]. D'autre part, ces réponses provoquent la libération de corticolibérine (i.e. *corticotropin-releasing hormone*, CRH) par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, qui stimule ensuite la synthèse de l'hormone corticotrope (i.e. *adrenocorticotropic hormone*, ACTH) par les cellules basophiles du lobe antérieur de l'hypophyse. L'ACTH présente dans la circulation sanguine stimule la corticosurrénale et engendre une élévation de la production de glucocorticoïdes, tel que le cortisol chez l'homme ou la corticostérone chez le rongeur. Par le biais d'un système de feedback négatif, les glucocorticoïdes sécrétés exercent par ailleurs un effet suppresseur sur la sécrétion de CRH et d'ACTH. L'activation concomitante du SNS et de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) permet la mise à disposition, dans la circulation sanguine, de substrats endogènes (i.e. glucose issu des réserves glycogéniques hépatiques et de la néoglucogenèse ; acides gras issus de la lipolyse du tissu adipeux), dans le but de garantir une production énergétique cellulaire suffisante. Par ailleurs, les réponses ventilatoires, hémodynamiques et métaboliques associées, caractérisée par une hyperventilation, une augmentation du débit cardiaque, une vasodilatation dans les muscles squelettiques et une vasoconstriction dans les tissus splanchniques, favorisent un approvisionnement optimal en substrats et en oxygène au système locomoteur [104, 114, 115]. Ces adaptations rendent possible les réactions de combat ou de fuite, telles qu'elles peuvent être communément observées chez les animaux vis-à-vis d'un prédateur [116].

Bien que ces réponses neuroendocriniennes semblent être communes à l'ensemble des agressions, de nombreux travaux ont par ailleurs démontré l'hétérogénéité des réponses métaboliques et hémodynamiques, suite à l'activation du SNS et de la médullosurrénale, en fonction des caractéristiques de l'agent stressant.

1.3.3 Réponses métaboliques et hémodynamiques au stress

Chez l'homme, les réponses métaboliques et hémodynamiques engendrées par un stress mental sont comparables à la réaction combat-fuite (Figure 2). En effet, l'exposition d'un individu à un test d'interférences couleur-mot (e.g. test de Stroop), à des calculs arithmétiques complexes ou à une présentation orale, engendrent tous une augmentation de l'activité du SNS et de la médullosurrénale, et la sécrétion de catécholamines. Il en résulte une diminution [117-120] ou une absence de changement [121, 122] dans les résistances vasculaires systémiques (RVS) ainsi qu'une augmentation du débit cardiaque, de la fréquence cardiaque (FC) et de la pression artérielle. Des données expérimentales ont par ailleurs démontré que l'effet vasodilatateur du stress mental était médié par l'activation des récepteurs β -adrénergiques et par la libération d'oxyde nitrique dans les muscles squelettiques [123]. Si cette vasomotricité réactionnelle permet d'une part de limiter l'augmentation de la pression artérielle induite par le stress, elle engendre d'autre part, notamment au niveau périphérique, une élévation du débit sanguin, une amélioration de la distribution des substrats énergétiques et de l'oxygène et une amélioration de la sensibilité à l'insuline [124, 125].

Les réponses hémodynamiques et métaboliques susmentionnées divergent cependant grandement de celles provoquées par des procédures expérimentales altérant le retour veineux (e.g. application d'une pression négative aux membres inférieurs ; *lower body negative pressure*) ou engendrant une douleur (e.g. test au froid, *cold pressure test*, CPT). En effet, ces procédures induisent une élévation des RVS, de la FC et de la pression artérielle, sans

modification du débit cardiaque [119, 120, 126]. Des données expérimentales ont par ailleurs démontré que cette vasoconstriction dans les muscles squelettiques était médiée par l'activation des récepteurs α -adrénergiques [127]. La diminution du débit sanguin périphérique permet notamment de garantir un apport suffisant en substrats énergétiques au niveau des organes vitaux (e.g. cerveau, cœur) [128, 129], et a été associée à une altération de la sensibilité à l'insuline [130, 131]. Dans la vie de tous les jours, ces réponses sont notamment mises en jeu en cas d'hypoglycémie, de déshydratation, de baisse de la disponibilité en oxygène ou encore lors de situations critiques, comme à la suite d'un choc hémorragique [129].

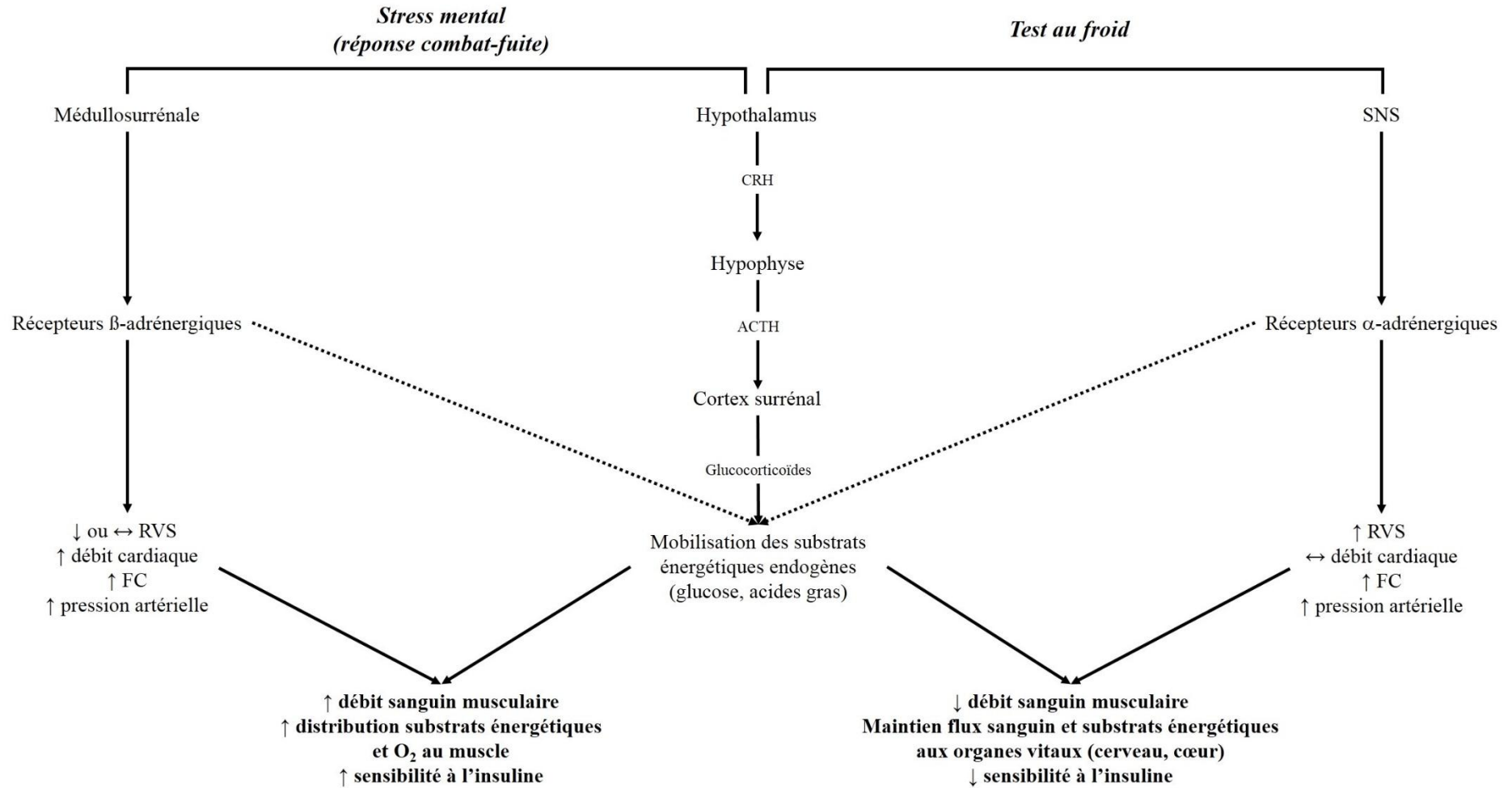


Figure 2 : Réponses neuroendocriniennes, métaboliques et hémodynamiques induites par un stress mental et un test au froid.

Abréviations : ACTH, hormone corticotrope ; CRH, corticolibérine ; FC, fréquence cardiaque ; O₂, oxygène ; RVS, résistance vasculaire systémique ; SNS, système nerveux sympathique.

1.3.4 Rôle du stress dans le développement des maladies cardiovasculaires

Le stress est supposé jouer un rôle non négligeable dans le développement des maladies cardiovasculaires, et ce, pour différentes raisons. Premièrement, au cours d'un stress mental, la lipolyse du tissu adipeux est stimulée suite à l'activation des récepteurs β -adrénergiques médiée par l'adrénaline [132, 133]. A court terme, une élévation des flux d'acides gras libres peut engendrer une altération des réponses hémodynamiques et métaboliques de stress, comparable à celles observées chez les individus obèses, et dont l'origine pourrait résulter d'un dysfonctionnement cellulaire endothélial [118]. A plus long terme, cette augmentation peut également favoriser le développement d'une résistance à l'insuline, notamment dans le muscle squelettique et le foie [134]. Deuxièmement, l'exposition d'un individu à des stress répétés peut induire une suractivation du SNS et de l'axe HHS. Or, des concentrations élevées en catécholamines et en glucocorticoïdes ont toutes deux été associées à une résistance à l'insuline [131, 135]. Une élévation chronique de glucocorticoïdes peut en outre augmenter l'activité de la LPL dans le tissu adipeux, et favoriser l'accumulation de graisses intra-abdominales (au dépend d'une distribution de ces dernières au niveau sous-cutané), qui représente un facteur de risque important dans le développement des maladies cardiométaboliques [136]. Enfin, une augmentation des médiateurs inflammatoires dans les cellules mononucléaires a aussi été rapportée suite à un stress aigu et chronique, et peut contribuer à long terme au développement de l'obésité, d'une résistance à l'insuline et au syndrome métabolique [128]. De manière intéressante, plusieurs travaux supportent que l'alimentation peut influencer le développement des altérations cardiovasculaires et métaboliques induites par les réponses de stress [118, 137-139].

1.4 Vers une compréhension plus intégrée des maladies cardiovasculaires : les interactions sucres – stress

1.4.1 Effets du stress sur le comportement alimentaire

Même si les effets des sucres et du stress ont fait l'objet de nombreuses investigations, leurs interactions restent cependant partiellement étudiées. Un certain nombre d'évidences suggère que les situations de stress peuvent moduler le comportement alimentaire. Des études ont plus précisément rapporté qu'au moins 35% des adultes augmentent leurs apports énergétiques journaliers dans le cadre de situations perçues comme stressantes [140, 141]. Les mécanismes responsables de ces modifications alimentaires restent à ce jour incomplètement élucidés et hautement complexes. Une partie de la littérature a cependant démontré que l'élévation des glucocorticoïdes pouvait moduler de nombreux déterminants impliqués dans la régulation de la prise alimentaires, tels que l'expression de certains neuropeptides orexigéniques (e.g. neuropeptide Y, NPY ; *agouti-related protein*, AgRP) ou anorexigéniques (e.g. hormone α -stimulante de la mélanocortine, α -MSH ; CRH), et altérer les signaux hormonaux périphériques (e.g. leptine, insuline et ghréline) [142]. Par ailleurs, des données ont fait état d'une modification des préférences alimentaires chez l'animal et chez l'homme suite à une exposition à des agents stressants, avec une élévation spécifique de la consommation d'aliments à haute densité énergétique (i.e. riches en sucres et/ou graisses) [140, 143, 144]. Il est intéressant de noter que cette augmentation a également été observée chez les personnes diminuant leurs apports énergétiques journaliers en situations de stress [145]. Sur la base de ce constat, des auteurs ont proposé que la consommation d'aliments appétents puisse activer le circuit de la récompense, et diminuer les effets induits par les facteurs de stress [143]. Cependant, comme il a précédemment été énoncé, cette consommation peut également favoriser le dépôt de graisses viscérales, et promouvoir le développement de l'obésité abdominale, la résistance à l'insuline et les maladies cardiovasculaires.

1.4.2 Privation de sommeil et suralimentation : des effets synergiques ?

1.4.2.1 Etat de la littérature

Depuis des décennies, de nombreux projets de recherche sont accomplis dans le but d'identifier et d'éclaircir les effets causés par les changements environnementaux dans le développement des maladies cardiovasculaires. Dans ce contexte, les modifications observées sur le temps et la qualité du sommeil ont fait l'objet de nombreuses investigations [146]. Plusieurs cohortes épidémiologiques prospectives ont en effet observé une association entre un temps de sommeil restreint et/ou de mauvaise qualité et l'obésité [147, 148], le diabète de type 2 [149], l'hypertension [150], les maladies coronariennes [151] ou encore avec un risque aggravé de mortalité [152]. Des études interventionnelles ont plus spécifiquement rapporté une altération du métabolisme du glucose [153, 154] et une résistance périphérique à l'insuline [155-157], chez des individus en bonne santé, soumis à une privation partielle de sommeil allant d'une nuit à quelques jours (< 7 jours). Une multitude de mécanismes potentiels ont été proposés pour expliquer le développement de ces altérations [158]. Parmi eux, de nombreux indicateurs laissent penser que ces perturbations puissent être médiées par les réponses neuroendocriniennes de stress. En effet, des augmentations marquées des concentrations de cortisol [153-155, 159, 160] et de catécholamines [154, 155, 160, 161] ont été rapportées suite à des restrictions partielles de sommeil. Alors que ces modifications hormonales peuvent à elles seules favoriser le développement d'une obésité viscérale, d'une résistance à l'insuline et du syndrome métabolique [131, 135, 136], elles peuvent par ailleurs engendrer une dysfonction du tissu adipeux [162]. Dans ce sens, une étude a observé une altération des voies de signalisation de l'insuline dans les adipocytes de sujets dont le sommeil a été restreint pendant quelques jours [157]. En complément, d'autres observations ont fait état d'une augmentation des niveaux d'acides gras circulants, notamment durant la nuit [160]. L'augmentation de la lipolyse du tissu adipeux représente un facteur de risque important dans le développement des maladies

cardiovasculaires, puisqu'elle peut en partie promouvoir le dépôt de graisses dans les tissus ectopiques, tels que le foie (i.e. IHCL) [134].

Au-delà de la réponse de stress, un déséquilibre dans la balance énergétique pourrait également expliquer les perturbations associées au sommeil. Une augmentation dans les apports énergétiques totaux a en effet été constatée lors de privation de sommeil, plus particulièrement durant les temps d'éveil imposés la nuit [163, 164]. Plusieurs études ont plus précisément rapporté que l'augmentation d'appétit était majoritairement assouvie par la consommation d'aliments à haute valeur calorique, contenant notamment de grandes proportions de glucides [164, 165]. Il reste cependant à ce jour non-élucidé si les réponses de stress et une balance énergétique positive peuvent avoir des effets synergiques dans le développement des maladies cardiovasculaires.

1.4.2.2 Objectif projet I

Dans le but de déterminer si les réponses de stress et une balance énergétique positive peuvent avoir des effets synergiques dans le développement des maladies cardiovasculaires, nous avons mis en place un plan d'étude croisé aléatoire, au cours duquel 10 volontaires non-obèses ont été exposés à une alimentation hypercalorique de 6 jours, riche en saccharose et en graisses, couplée à un sommeil normal (i.e. possibilité de dormir 8 heures par nuit) ou restreint (i.e. possibilité de dormir 4 heures par nuit). Nous avons plus particulièrement émis l'hypothèse que les altérations métaboliques et cardiovasculaires engendrées par la période de suralimentation seraient potentialisées par la privation de sommeil, et que celles-ci pourraient être expliquées par les réponses de stress associées. Ce travail, dénommé ci-après *projet I*, a fait l'objet d'un article de recherche original intitulé *Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals*, et a été publié en 2019 dans l'*American Journal of Clinical Nutrition* [166].

1.4.3 La consommation de sucre : une stratégie comportementale pour altérer les réponses de stress ?

1.4.3.1 Etat de la littérature

Comme il a précédemment été évoqué, de nombreuses études ont fait état, en situations de stress, d'une augmentation de la consommation d'aliments riches en sucres, et ce, indépendamment des modifications dans les apports énergétiques journaliers [140, 143-145]. Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse que les sucres étaient consommés en plus grande quantité afin de faire face aux facteurs de stress [143]. Ce postulat repose sur des études conduites sur l'animal [139, 167, 168] et l'homme [169-171], qui ont démontré une association entre la consommation de sucres et la diminution des réponses de stress. Les mécanismes responsables de ces effets restent, encore à ce jour, très incertains.

Plusieurs études, conduites chez le modèle murin, ont démontré une diminution de l'expression de CRH dans le cerveau, en situations de stress, à la suite d'une alimentation riche en saccharose [172, 173]. L'une d'entre elles a par ailleurs relevé que cette diminution était aussi observable suite à la consommation de saccharine (i.e. un édulcorant) [172]. Dans la mesure où les édulcorants ne possèdent pas de charge calorique, mais un fort pouvoir sucrant, il a été proposé que la diminution des réponses de stress puissent être déclenchée par l'activation des récepteurs au goût sucré situés notamment dans les microvillosités apicales des cellules gustatives (i.e. récepteurs couplés aux protéines G, mettant en jeu les complexes hétéromériques des récepteurs T1R2 et T1R3) [174, 175], et qui pourrait être médiée par l'activation du système opioïdérique endogène [176] ou du circuit de la récompense [177]. Les mécanismes sous-jacents semblent cependant être plus complexes que cela, dans la mesure où une autre étude a démontré chez le rat que la consommation *ad libitum* de saccharose normalisait l'élévation de l'expression de CRH dans le cerveau, observée à la suite d'une surrénalectomie, alors que la consommation de boissons édulcorées était inefficace [178]. Sur la base de ces données, il est donc tentant de

postuler que les propriétés métaboliques des sucres soient aussi impliquées dans la diminution de l'activité de l'axe HHS. Des données sur l'homme étayent cette hypothèse, puisqu'une diminution des concentrations salivaires de cortisol en réponse à un stress mental a été rapportée à la suite d'une alimentation riche en saccharose de plusieurs jours, alors que ces concentrations étaient augmentées dans le cadre d'une alimentation édulcorée [170].

1.4.3.2 Objectif projet II

A ce jour, le rôle joué par l'activation des récepteurs au goût sucré et les signaux métaboliques dépendant de l'énergie, sur les réponses du SNS chez l'humain, reste largement méconnu. Dans cette optique, nous avons mis en place un plan d'étude croisé aléatoire, au cours duquel 12 volontaires féminins, en bonne santé et non-obèses, ont été exposées à un stress mental de 30 minutes (i.e. test d'interférences couleur-mot de Stroop, alterné avec des calculs arithmétiques complexes, qui engendrent principalement l'activation des récepteurs β -adrénergiques) ainsi qu'à un CPT de 3 minutes (qui engendre principalement l'activation des récepteurs α -adrénergiques), tout en consommant oralement de petites solutions (25 mL) à base d'eau, de saccharose ou d'un mélange d'édulcorants. Les effets induits par la consommation des boissons sur l'activité du SNS en réponse aux deux procédures de stress ont été investigués par l'enregistrement en continu des réponses hémodynamiques par bioimpédance électrique thoracique. Ce travail, dénommé *Effect of nutritive and non-nutritive sweeteners on hemodynamic responses to stress: a randomized crossover trial in healthy women*, ci-après *projet II*, a été soumis le 20 Mars 2019 en tant qu'article de recherche original auprès du journal *Nutrition and Diabetes*. Il est actuellement en cours révision.

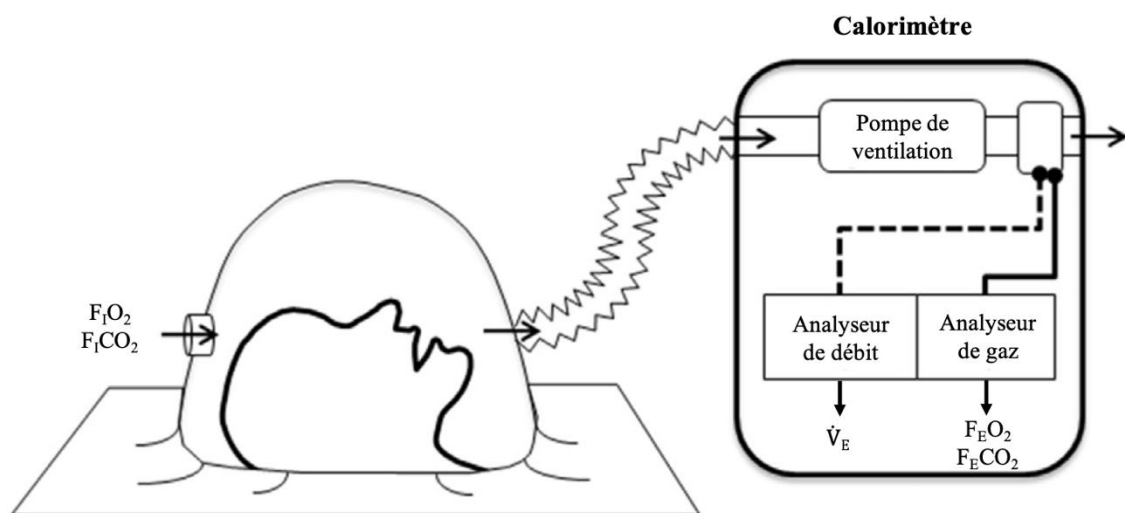
2 METHODOLOGIE POUR L'EVALUATION DU METABOLISME GLUCIDIQUE CHEZ L'HOMME

Une vision détaillée du métabolisme glucidique a été permise, dans le *projet I*, grâce à l'emploi de la calorimétrie indirecte et de traceurs isotopiques stables. Cette partie méthodologie n'a pas pour objectif de décrire exhaustivement ces deux techniques d'évaluation, revues en détails ailleurs [179, 180], mais d'énoncer brièvement leurs grands principes afin de faciliter la compréhension des résultats présentés ci-après.

2.1 Calorimétrie indirecte

La calorimétrie indirecte est une méthode de mesure qui a été développée au début du XX^e siècle, et qui repose sur l'application des principes thermodynamiques [181]. Elle permet d'estimer, de manière non-invasive, la dépense énergétique ainsi que les oxydations nettes des substrats glucido-lipidiques chez un sujet. La dénomination « indirecte » fait référence au fait que la production d'énergie est mesurée, non pas directement sur les transferts de chaleur, mais à partir des échanges gazeux respiratoires [i.e. consommation d'oxygène (O_2) et production de dioxyde de carbone (CO_2)] [182]. Cette technique de mesure, décrite avec précision ailleurs [183], est illustrée dans la **Figure 3**.

Brièvement, dans cette représentation, un sujet éveillé (respirant spontanément) est allongé sous une cagoule transparente, couplée à un voile en plastique afin d'éviter les fuites d'air. Celle-ci est connectée à un calorimètre, lui-même équipé d'une pompe à débit constant afin de faciliter l'écoulement de l'air expiré vers l'extérieur. La mesure de la $\dot{V}O_2$ et de la $\dot{V}CO_2$ est permise par l'analyse du débit expiratoire (\dot{V}_E) et des concentrations de gaz expirés après dilution (i.e. O_2 par le biais de cellules paramagnétiques et CO_2 par le biais de cellules infrarouges) [184].



$$\begin{aligned}\dot{V}O_2 &= \dot{V}_E \times (F_I O_2 - F_E O_2) \\ \dot{V}CO_2 &= \dot{V}_E \times (F_E CO_2 - F_I CO_2)\end{aligned}$$

Figure 3 : Représentation du fonctionnement de la calorimétrie indirecte en circuit ouvert.
 Abréviations : $F_E CO_2$, fraction expirée en dioxyde de carbone (%); $F_I CO_2$, fraction inspirée en dioxyde de carbone (%); $F_E O_2$, fraction expirée en oxygène (%); $F_I O_2$, fraction inspirée en oxygène (%); $\dot{V}CO_2$, excrétion de dioxyde de carbone (L/min); $\dot{V}O_2$, consommation d'oxygène; \dot{V}_E , débit expiratoire (L/min). Adapté d'Oshima et al. [184].

Les équations permettant d'estimer les oxydations nettes des substrats énergétiques (i.e. glucides, lipides et protéines) [185], ainsi que celle de la dépense énergétique [186] sont données dans l'**Équation 1**. Au-delà de la $\dot{V}O_2$ et de la $\dot{V}CO_2$, celles-ci requièrent également la mesure de l'excrétion urinaire d'azote (N), i.e. le produit final de l'oxydation des acides aminés.

$$\text{Oxydation glucidique nette} = 4.55 \times \dot{V}CO_2 - 3.21 \times \dot{V}O_2 - 2.87 \times N$$

$$\text{Oxydation lipidique nette} = 1.67 \times \dot{V}O_2 - 1.67 \times \dot{V}CO_2 - 1.92 \times N$$

$$\text{Oxydation protéique nette} = 6.25 \times N$$

$$\text{Dépense énergétique} = 3.941 \times \dot{V}O_2 + 1.106 \times \dot{V}CO_2 - 2.17 \times N$$

Équation 1 : Oxydations nettes des substrats et dépense énergétique.

Les oxydations nettes sont exprimées en g/min, la dépense énergétique en kcal/min, la $\dot{V}O_2$ et la $\dot{V}CO_2$ en L/min et l'excrétion urinaire d'azote (N) en g/min.

L'une des limitations à cette méthode d'évaluation est qu'elle fournit des estimations des oxydations nettes, et non réelles, des substrats énergétiques. A titre d'exemple, l'oxydation glucidique nette est la somme de l'oxydation en CO₂ et H₂O des molécules de glucose provenant du glycogène hépatique et musculaire, ainsi que du glucose exogène, mais ne comprend pas l'oxydation des nouvelles molécules de glucose, synthétisées à partir des lipides (i.e. glycérol) ou encore des acides aminés [187]. L'utilisation des traceurs isotopiques, en parallèle de la calorimétrie indirecte, permet notamment de répondre à cette limitation.

2.2 Traceurs isotopiques stables

Un traceur est une molécule chimiquement et fonctionnellement semblable à un élément d'intérêt (i.e. le « tracé »), mais qui s'en distingue par une caractéristique donnée (i.e. une masse atomique différente, engendrée par des variations dans le nombre de neutrons dans le noyau), rendant *in fine* possible sa détection par le biais d'un spectromètre de masse. Dans le domaine de la nutrition, les traceurs isotopiques sont utilisés afin d'investiguer plus finement les flux métaboliques sous-tendant des changements physiologiques [188]. Dans l'évaluation du métabolisme glucidique, leur utilisation peut être par exemple utile afin de comprendre, si l'élévation des concentrations plasmatiques en glucose est le reflet d'une augmentation de la PEG et/ou d'une diminution de son utilisation par les tissus périphériques, ou encore afin d'investiguer le devenir métabolique d'une charge orale de fructose.

2.2.1 Flux totaux de glucose : utilisation du [6,6-²H₂-glucose]

L'évaluation des flux totaux de glucose dans la circulation systémique est permise par l'emploi du glucose deutéré, de nomenclature [6,6-²H₂-glucose]. Pour ce traceur, 2 isotopes stables de l'hydrogène de masse 2 (deutérium) ont été liés au carbone n°6 de la molécule de glucose. Le traceur est introduit dans le compartiment plasmatique par voie intraveineuse, et est perfusé de

manière continue⁷, afin de garantir un état d'équilibre isotopique. En mesurant la dilution du traceur [6,6-²H₂-glucose] par les molécules non marquées (i.e. toutes les molécules de glucose), et en appliquant les équations en état non stationnaire, telles que décrites initialement par Steele [189] et modifiées ensuite par Debodo et al. [190], il est alors possible de déterminer le débit d'apparition et de disparition total du glucose dans la circulation systémique (dénommés ci-après RaT et RdT, respectivement ; **Équation 2**) :

$$RaT = \frac{F - pV \times \left(\frac{C_t + C_{t+1}}{2} \right) \times \left(\frac{E_{t+1} - E_t}{T_{t+1} - T_t} \right)}{\left(\frac{E_t + E_{t+1}}{2} \right)}$$

$$RdT = RaT - pV \times \frac{C_{t+1} - C_t}{T_{t+1} - T_t}$$

Équation 2 : Débit d'apparition et de disparition total du glucose, en état non stationnaire.
RaT, débit d'apparition total du glucose (mmol/kg/min) ; RdT, débit de disparition total du glucose (mmol/kg/min) ; F, débit de perfusion du [6,6-²H₂-glucose] (mmol/kg/min) ; pV, fraction du volume de distribution (L/kg) ; C_t et C_{t+1}, concentrations plasmatiques en glucose aux temps t et t+1, respectivement (mmol/L) ; E_t et E_{t+1}, enrichissements isotopiques plasmatiques en [6,6-²H₂-glucose] aux temps t et t+1, respectivement (mol percent excess, MPE) ; T_{t+1} et T_t, points temporels d'intérêts (min).

En période de jeûne (et sans apport nutritif exogène), le débit d'apparition total du glucose dans la circulation sanguine correspond à la PEG (ca. 2 mg/kg/min). Cependant, dans le cadre d'un apport nutritif exogène, l'apparition totale du glucose dans la circulation sanguine est la somme de la PEG et de l'apparition exogène du glucose. L'incorporation d'un traceur distinct (i.e. marquant le débit d'apparition exogène du glucose), est indispensable afin de distinguer l'origine des sources de glucose. C'est la méthode du double marquage.

⁷ **NB** : la plupart du temps, suite à l'application d'un bolus.

2.2.2 Flux exogène de glucose : utilisation du [U-¹³C₆]-glucose

Dans le *projet I*, l'apport nutritif exogène correspond à l'hyperglycémie provoquée par voie orale (*oral glucose tolerance test* ; OGTT). Cet examen, d'une durée de 2 à 4 heures, consiste à ingérer 75 grammes de glucose (dilués dans 300 mL d'eau), et à évaluer les réponses postprandiales de l'organisme (i.e. glycémie, insulinémie) dans un but de dépistage du diabète sucré (e.g. diabète de type 2, diabète gestationnel) [191, 192]. Dans le cadre de ce projet, une quantité infime des carbones du glucose a été uniformément enrichie avec l'isotope de masse ¹³C, et en appliquant les équations telles qu'elles ont été initialement établies chez le rat par Proietto et al. [193], puis adaptées pour l'utilisation des isotopes stables chez l'humain par Schneiter et al. [194], il est alors possible de déterminer le débit d'apparition exogène du glucose (RaE ; **Équation 3**) :

$$\text{RaE} = \frac{(\text{RaT} - F) \times \left(\frac{E_t + E_{t+1}}{2}\right) + pV \times \left(\frac{C_t + C_{t+1}}{2}\right) \times \left(\frac{E_{t+1} - E_t}{T_{t+1} - T_t}\right)}{E^{13}\text{C-glucose}}$$

Équation 3 : Débit d'apparition exogène du glucose.

RaE, débit d'apparition exogène du glucose (mmol/kg/min) ; RaT, débit d'apparition total du glucose (mmol/kg/min) ; F, débit de perfusion du [6,6-²H₂-glucose] (mmol/kg/min) ; E_t et E_{t+1}, enrichissements isotopiques plasmatiques en [¹³C₆-glucose] aux temps t et t+1 (MPE) ; pV, fraction du volume de distribution (L/kg) ; C_t et C_{t+1}, concentrations plasmatiques en glucose aux temps t et t+1, respectivement (mmol/L) ; T_{t+1} et T_t, points temporels d'intérêts (min) ; E¹³C-glucose, enrichissement isotopique de la charge de glucose ingérée (%).

A partir de la différence entre le débit d'apparition total (RaT) et exogène (RaE) du glucose dans la circulation systémique, il est alors possible de déterminer la PEG [194]. L'évolution du RaT, RaE et de la PEG, suite à l'ingestion d'une charge orale de glucose (1g/kg), est illustrée dans la **Figure 4**.

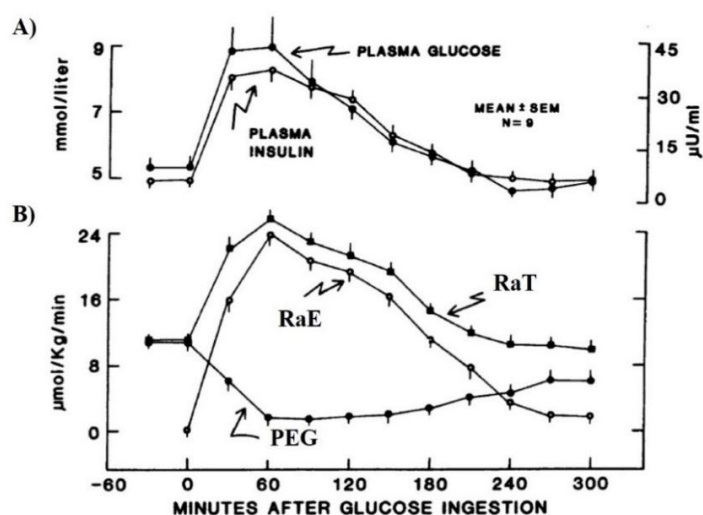


Figure 4 : Évolutions des concentrations plasmatiques en glucose et insuline (A), débits d'apparition totale et exogène du glucose, et production de glucose endogène (B) en réponse à une charge orale de glucose (1 g/kg).

Abréviations : PEG, production endogène de glucose ; RaE, débit d'apparition exogène du glucose ; RaT, débit d'apparition totale du glucose. Adapté de Kelley et al. [195].

Après absorption, le glucose exogène peut (schématiquement) être oxydé ou être stocké dans l'organisme (i.e. principalement sous la forme de glycogène). La mesure de l'enrichissement isotopique en ^{13}C dans le CO_2 expiré permet de quantifier l'oxydation totale du glucose exogène (Équation 4) [194].

$$\text{Oxydation glucose exogène} = \frac{E^{13}\text{CO}_2}{E^{13}\text{C-glucose}} \times \dot{V}\text{CO}_2 \times \frac{1}{0.54} \times \frac{1}{0.134}$$

Équation 4 : Oxydation du glucose exogène.

Oxydation du glucose exogène est exprimée en $\mu\text{mol}/\text{min}$; $E^{13}\text{CO}_2$, enrichissement isotopique en ^{13}C dans le CO_2 expiré (atom percent excess ; APE) ; $E^{13}\text{C-glucose}$, enrichissement isotopique de la charge de glucose ingérée (%) ; $\dot{V}\text{CO}_2$, débit d'excrétion du CO_2 (mL/min) ; le facteur 0.54 correspond au facteur de correction pour la rétention des atomes de carbone lors de l'oxydation du [$\text{U-}^{13}\text{C}_6\text{-glucose}$] dans des conditions de repos ; le facteur 0.134 correspond à la production de CO_2 (en mL) lors de l'oxydation de 1 μmol de glucose.

En supposant une absorption intestinale complète, la quantité non-oxydée du glucose ingéré peut être estimée comme la différence entre le glucose ingéré et la quantité de glucose exogène oxydée. La différence entre le glucose ingéré et l'oxydation glucidique nette permet par ailleurs d'évaluer le stockage net de glycogène (i.e. sans distinction entre la synthèse de glycogène hépatique et musculaire) [196].

3 RÉSULTATS

3.1 Projet I

Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals

Jérémy Cros, Enea Pianezzi, Robin Rosset, Léonie Egli, Philippe Schneiter, Françoise Cornette, Bertrand Pouymayou, Raphaël Heinzer, Luc Tappy, Roland Kreis, Chris Boesch, José Haba-Rubio et Virgile Lecoultre

Article publié dans l'*American Journal of Clinical Nutrition*, le 5 Janvier 2019.

Contribution du candidat : recrutement des volontaires, participation aux tests métaboliques, analyse des données, rédaction du manuscrit.

Résumé : Les résultats de cette étude démontrent qu'une alimentation hypercalorique de 6 jours, riche en sucres et en graisses, augmente significativement les concentrations d'IHCL (+53% ± 16% ; $P < 0.001$), ainsi que la PEG ($P = 0.034$), suggérant le développement d'une résistance hépatique à l'insuline. Aucune donnée ne démontre cependant le développement d'une résistance périphérique à l'insuline. Les 4 heures d'opportunité de sommeil ont engendré une diminution significative dans les durées des stades 1 et 2, ainsi que du sommeil paradoxal (*rapid eye movement sleep*) (tous les $P < 0.001$), alors que la durée du sommeil profond (*slow wave sleep*) a été préservée ($P = 0.809$). Aucune des altérations métaboliques rapportées dans le cadre de la suralimentation n'a été potentialisée par la privation de sommeil ($P > 0.05$ pour toutes les interactions). Il est intéressant de noter qu'aucun des paramètres investigués n'a permis de mettre en exergue un effet de la privation de sommeil sur les réponses de stress (i.e. pas de changement dans les concentrations de cortisol, ni de FC ou de pression sanguine).

3.2 Projet II

Effect of nutritive and non-nutritive sweeteners on hemodynamic responses to stress: a randomized controlled trial in healthy women

Jérémy Cros, Lucie Bidlingmeyer, Robin Rosset, Kévin Seyssel, Camille Crézé, Nathalie Stefanoni, Philippe Schneiter et Luc Tappy

Article soumis au journal *Nutrition and Diabetes*, le 20 Mars 2019 (actuellement en révision)

Contribution du candidat : design de l'étude, recrutement des volontaires, participation aux tests métaboliques, analyse des données, rédaction du manuscrit.

Résumé : Les résultats de cette étude ont confirmé la divergence des réponses hémodynamiques engendrées par un stress mental et un CPT (qui engendrent, de manière prépondérante, une activation des récepteurs β - et α -adrénergiques, respectivement). En accord avec la littérature, le stress mental n'a pas modifié les RVS ($P = 0.437$), et a induit une augmentation du débit cardiaque, de la FC et de la pression artérielle moyenne (tous les $P < 0.001$). A l'inverse, le CPT a entraîné des augmentations marquées des RVS, de la FC ainsi que de la pression artérielle moyenne (tous les $P < 0.001$), sans modifier le débit cardiaque ($P = 0.252$). La consommation répétée de boissons sucrées ou édulcorées, en comparaison à l'eau, n'a engendré aucune modification dans les réponses hémodynamiques induites par le stress mental et le CPT ($P > 0.05$ pour toutes les interactions).

4 DISCUSSION GENERALE

L'identification des facteurs environnementaux qui contribuent au développement des maladies non-transmissibles constitue, depuis plusieurs décennies, un enjeu de santé publique. Dans cette optique, de nombreuses études ont démontré qu'une consommation excessive de sucres [27-35] et une exposition chronique au stress [11, 115, 128, 136, 197] représentaient des facteurs de risques importants dans le développement des maladies cardiovasculaires. Cependant, leurs interactions potentielles restent à ce jour incomplètement investiguées, et constituent l'objet de cette thèse.

4.1 Validation des modèles expérimentaux des projets

4.1.1 Effets d'une alimentation hypercalorique, riche en sucres et en graisses

Le *projet I* vise à déterminer si une privation partielle de sommeil (i.e. opportunité de sommeil de 4 heures par nuit vs. 8 heures) peut potentialiser les altérations métaboliques engendrées par une alimentation hypercalorique de 6 jours, riche en sucres et en graisses. Les concentrations d'IHCL, mesurées par ¹H-MRS, ont été considérées comme notre variable d'intérêt primaire puisqu'elles représentent un marqueur sensible et précoce des dysfonctions métaboliques [198].

Les résultats de ce projet sont en accord avec les données de la littérature sur les effets induits par une suralimentation, riche en fructose et en graisses de quelques jours, couvrant 130 à 135% des besoins énergétiques journaliers. La suralimentation a en effet engendré une hausse des IHCL de +53%. Des augmentations similaires ont été rapportées dans le cadre de suralimentations riches en fructose [89, 90] et en graisses [73, 88-90]. Les concentrations plasmatiques de TG à jeun et en période post-prandiale n'ont cependant pas été modifiées à la suite de la suralimentation. Ces absences d'effets peuvent être expliquées par la quantité de fructose ingérée (ca. 45 g par jour), qui se situe en dessous des valeurs seuils à partir desquelles

l'hypertriglycéridémie à jeun et post-prandiale ont été rapportées (i.e. >100 et >50 g par jour, respectivement) [80]. Par ailleurs, dans le cadre d'une suralimentation combinée, une étude a démontré que les graisses pouvaient prévenir l'élévation des concentrations de VLDL-TG à jeun induite par le fructose [89]. Après 6 jours de suralimentation, les concentrations d'insuline à jeun, tout comme la PEG en réponse à l'OGTT ont été augmentées, laissant suggérer le développement d'une résistance hépatique à l'insuline. Ces résultats sont en accord avec de précédents travaux ayant montré que la sensibilité hépatique à l'insuline était rapidement altérée dans le cadre d'une alimentation hyperglucidique [70, 72, 73, 88-90]. Enfin, après intervention, une diminution des concentrations de glucose et une augmentation de l'oxydation du glucose exogène ont également été observées lors de l'OGTT, et ce, sans modification des concentrations d'insuline. Ces données, en accord avec d'autres [70, 73], démontrent que la sensibilité périphérique à l'insuline n'est pas altérée suite à une alimentation hyperglucidique de quelques jours. Enfin, aucune modification dans la tension artérielle n'a été constatée suite à la période de suralimentation, comme précédemment rapporté [81, 100, 102]. L'ensemble des altérations susmentionnées a été observé indépendamment d'une prise de poids ou d'une modification de la composition corporelle. Plusieurs protocoles similaires sont parvenus aux mêmes résultats [70, 89, 90], bien que d'autres ont relevé une augmentation du poids [72, 73, 88] et de la masse grasse [88]. Certaines données laissent par ailleurs penser que le fructose puisse contribuer, de manière plus prononcée que le glucose, à l'augmentation du tissu adipeux viscéral [40].

4.1.2 Réponses hémodynamiques durant un stress mental et un CPT

Le *projet II* vise à explorer si l'activation des récepteurs au goût sucré peut atténuer les réponses hémodynamiques déclenchées par deux procédures de stress standardisées (i.e. un stress mental et un CPT). Dans cette étude, les RVS (mesurées par bioimpédance électrique thoracique) ont

été considérées comme notre variable d'intérêt primaire, puisqu'elles constituent une mesure non-invasive et sensible de la réactivité vasculaire [199].

Les résultats de ce projet ont confirmé la divergence des réponses hémodynamiques induites par un stress mental et un CPT. En effet, en accord avec une partie de la littérature, le stress mental n'a pas modifié les RVS, et a induit une augmentation du débit cardiaque, de la FC et de la pression artérielle moyenne [117-120, 200]. A l'inverse, le CPT a entraîné une augmentation marquée des RVS, de la FC et de la pression artérielle moyenne, sans modification du débit cardiaque [119, 120, 126].

4.2 Apports scientifiques et limitations des projets

Dans le cadre du *projet I*, bien que la privation partielle de sommeil ait été effective (comme cela a été attesté par les données de polysomnographie), celle-ci n'a cependant induit aucune altération dans les paramètres métaboliques investigués (e.g. IHCL, TG, PEG, tolérance au glucose). Ces données ne confirment ainsi pas l'hypothèse principale selon laquelle les altérations métaboliques et cardiovasculaires engendrées par une période de suralimentation sont potentialisées par la privation de sommeil. Il est également intéressant de noter qu'aucune des données recueillies ne soutient un effet de la privation de sommeil sur les réponses de stress (i.e. pas de modification des concentrations de cortisol, ni de changement de FC ou de pression sanguine). Des explications potentielles à ces absences d'effets ont été discutées dans le manuscrit correspondant [166].

En regard du *projet II*, l'ingestion répétée de boissons sucrées ou édulcorées, en comparaison à l'eau, n'a engendré aucune modification dans les réponses hémodynamiques induites par le stress mental et le CPT. Ces données invalident ainsi l'hypothèse principale selon laquelle les réponses hémodynamiques de stress peuvent être atténuées par l'activation des récepteurs au goût sucré. Dans la mesure où les boissons ont été ingérées suite au rinçage de bouche, ces

données suggèrent par ailleurs que les réponses hémodynamiques aux procédures de stress n'ont également pas été impactées par les signaux métaboliques induits par le saccharose. Ces résultats ont été discutés plus longuement dans le manuscrit correspondant (**Annexe 2**).

Ensemble, les cadres expérimentaux de ces deux protocoles ne sont pas parvenus à mettre en évidence les interactions proposées entre les sucres et les réponses de stress. Les résultats de ces deux projets doivent cependant être considérés en regard de deux limitations majeures. Premièrement, les interactions sucre – stress ont été investiguées sur de courtes périodes d'intervention. Il est par conséquent fort possible que des résultats différents puissent être obtenus dans le cadre d'interventions plus longues, induisant par exemple, une prise de poids et/ou un changement de composition corporelle (*projet I*), ou encore à la suite d'une stimulation prolongée du SNS et de l'axe HHS (*projet II*). Deuxièmement, les investigations ont été conduites sur de jeunes volontaires sains et non-obèses. Il est par conséquent tentant de postuler que la bonne santé générale de ces individus puisse dans un premier temps les protéger des interactions auxquelles ils ont été exposés. Les conclusions susmentionnées ne peuvent ainsi pas être extrapolées à des populations présentant des complications métaboliques (e.g obésité, hypertension, hypercorticisme), qui peuvent par ailleurs accentuer les effets d'une suralimentation et des réponses de stress.

4.3 L'obésité : le point de départ des maladies cardiovasculaires ?

4.3.1 Réponses de stress chez les individus obèses

Comparativement aux individus minces, les individus obèses présentent de nombreuses altérations dans les réponses métaboliques et hémodynamiques au stress. Dans le cadre d'un stress mental, une absence de réponse vasodilatatrice a été rapportée chez ces individus (i.e. l'absence de changement dans les SVR est principalement expliquée par une atténuation de l'augmentation du débit cardiaque), alors que l'activation du SNS n'est pas altérée [124]. En

parallèle, une altération de la captation du glucose médiée par l'insuline a été rapportée lors de clamp euglycémique-hyperinsulinémique. Bien que les mécanismes explicatifs restent à ce jour partiellement élucidés, certaines données suggèrent que ces modifications puissent en partie provenir d'une altération de la fonction cellulaire endothéliale et être médiées par l'élévation des acides gras libres circulants [118]. De nombreuses études ont également investigué l'influence de la répartition des graisses corporelles (i.e. central vs. périphérique) sur les réponses de stress. Celles-ci ont précisément démontré que l'altération des RVS était étroitement associée à l'accumulation de graisses au niveau viscéral, tant chez les hommes [201] que chez les femmes [202]. Ces données soutiennent ainsi l'hypothèse initiale de Björntorp selon laquelle l'accumulation de graisses viscérales peut être le lien entre les facteurs de stress psychosociaux et le développement des maladies cardiovasculaires [203].

4.3.2 Hétérogénéité des réponses de stress

De multiples études ont tenté de comprendre les raisons pour lesquelles les individus ne répondaient pas tous de la même manière aux facteurs de stress. Dans cette optique, plusieurs d'entre elles ont cherché à déterminer les gènes impliqués dans les réponses de stress. Plusieurs gènes (et variants génétiques) associés à la vulnérabilité au stress ont été identifiés, comme ceux codants pour la CRH [204], les récepteurs aux glucocorticoïdes [205] ou encore pour le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF), qui pourrait jouer un rôle dans la plasticité de certaines aires cérébrales en situation de stress (e.g. l'hippocampe) [206]. D'autres études ont par ailleurs cherché à estimer la part d'héritabilité des réponses de stress. Une étude sur des jumeaux a montré que l'héritabilité des modifications de l'axe HHS, en réponse à un stress mental, était d'environ 33% [207]. De façon surprenante, les auteurs ont rapporté une augmentation de l'héritabilité lorsque les individus étaient soumis sur plusieurs semaines au même stress mental (i.e. héritabilité estimée à plus de 97 % lors de la troisième évaluation),

suggérant que l'influence du patrimoine génétique dans les réponses de stress peut être modulée par le contexte.

De nombreux travaux ont également démontré que le patrimoine génétique peut être influencé par les expériences de vie, qu'elles soient agréables ou désagréables (facteurs épigénétiques). Les effets induits par les expériences pourraient être différents en fonction du cycle de la vie, avec une vulnérabilité accrue au cours de la période de développement ou de vieillissement (i.e. périodes où les structures cérébrales sont fortement modifiées) [208]. Des données ont plus spécifiquement montré que les individus ayant subi des traumatismes sévères durant l'adolescence, tels que la perte d'un parent [209] ou un abus sexuel [210], pouvaient présenter une dérégulation de l'activité du SNS et de l'axe HHS, ainsi que des troubles à caractères anxieux ou dépressif. A l'inverse, des données ont montré que le soutien social apporté notamment par la famille ou les amis pouvait atténuer les vulnérabilités génétiques et environnementales des réponses neuroendocriennes au stress [211].

Si de nombreux facteurs peuvent moduler la vulnérabilité d'un individu au stress, plusieurs données soutiennent par ailleurs que, pour un même individu, les réponses de stress puissent être également différentes d'un jour à l'autre. Chez les femmes, des changements dans les concentrations de cortisol en réponse à un stress psychosocial ont été rapportées en fonction des variations hormonales engendrées par les phases du cycle ovarien (i.e. phase folliculaire vs. lutéale) [212]. Sur le plan alimentaire, des données ont mis en évidence qu'une supplémentation en acides gras oméga-3 pouvait inhiber l'activation du SNS et l'axe HHS déclenchée par un stress mental [213]. Enfin, des travaux ont constaté que l'activité du SNS peut être stimulée par la consommation d'alcool, tandis qu'elle peut être bloquée par l'administration de dexaméthasone (i.e. un glucocorticoïde) [138].

En conclusion, bien que des prédispositions génétiques existent, la vulnérabilité au stress peut être grandement modulée par les facteurs environnementaux et les spécificités journalières. Il

est ainsi légitime de postuler que la part substantielle des individus obèses qui ne développent pas de complications métaboliques et cardiovasculaires puisse bénéficier, du moins en partie, d'une vulnérabilité au stress diminuée.

4.4 L'exercice physique comme moyen de prévention des maladies cardiovasculaires

Les effets bénéfiques de l'exercice physique sur la santé en général, tout comme sur le développement des maladies cardiovasculaires ont été largement documentés (revus en détails ailleurs [214]). Des études ont plus spécifiquement démontré que l'activité physique améliore les altérations métaboliques observées chez les individus souffrant du syndrome métabolique [215]. Ces améliorations étaient par ailleurs d'autant plus appréciables lorsque l'activité physique était associée à des changements dans les comportements alimentaires [216].

Des données ont plus particulièrement démontré que l'exercice physique pouvait également prévenir les altérations métaboliques engendrées par une alimentation riche en sucres. Une étude a spécifiquement démontré que l'hypertriglycémie à jeun et post-prandiale, engendrée par une alimentation hyperglucidique, pouvait être prévenue par l'accomplissement de 60 minutes de marche rapide par jour [217]. Une autre étude a rapporté que l'hypertriglycémie à jeun et post-prandiale induite par une alimentation riche en fructose (30%) pouvait être également prévenue par l'accomplissement biquotidien d'un effort aérobie de 30 minutes à 125 Watts [102]. Cette étude a mis en exergue que les effets préventifs de l'exercice étaient indépendants des variations dans la balance énergétique (i.e. les apports énergétiques journaliers ayant par ailleurs été augmentés afin de contrecarrer le déficit énergétique engendré par l'exercice). Ces effets pouvaient cependant être expliqués par une diminution de la lipogenèse hépatique d'une part, et par une augmentation de la clairance des VLDL-TG par les tissus extra-hépatiques d'autre part. Les mécanismes par lesquels l'exercice physique modifie

le devenir métabolique des carbones du fructose ingéré restent à ce jour non élucidés. Il est cependant probable que les effets puissent être dépendants de la relation temporelle entre le placement de l'exercice et la charge de fructose ingérée (i.e. avant vs. après) [196]. De manière intéressante, des travaux ont par ailleurs montré que l'accomplissement d'un exercice physique pouvait également atténuer les réponses cardiovasculaires engendrées par un stress psychosocial [218].

5 CONCLUSION

5.1 Modélisation des interactions sucres – stress dans le développement des maladies cardiovasculaires

Une modélisation en regard des interactions entre les sucres et les réponses de stress dans le développement des maladies cardiovasculaires est proposée dans la **Figure 5**. D'une part, une alimentation hypercalorique de quelques jours, riche en sucres et en graisses, induit une augmentation du contenu intrahépatique en graisses ainsi qu'une résistance hépatique à l'insuline (*projet I*), qui représentent des facteurs de risques importants dans le développement des maladies cardiovasculaires. D'autre part, l'exposition à des facteurs de stress environnementaux (e.g. stress mental, CPT) induit une activation du SNS (*projet II*) et de l'axe HHS, qui, dans le cadre de stimulations répétées, peuvent toutes deux favoriser une résistance à l'insuline et le développement des maladies cardiovasculaires. Sur le long terme, une balance énergétique positive contribue au développement de l'obésité. L'élévation chronique des glucocorticoïdes peut promouvoir une accumulation de graisses dans le tissu adipeux viscéral ainsi que dans les tissus ectopiques, et potentialiser ainsi les altérations métaboliques engendrées par la surcharge calorique. L'obésité et la résistance à l'insuline peuvent par ailleurs altérer les réponses de stress, et accentuer le développement des maladies cardiovasculaires.

Dans la mesure où les personnes obèses ne développent cependant pas toutes de maladies cardiovasculaires, il est fort probable que d'autres déterminants puissent moduler la nature de ces relations. Bien que ces déterminants restent partiellement élucidés, de nombreux travaux ont néanmoins démontré que les réponses de stress étaient influencées par les facteurs génétiques et épigénétiques, ainsi que par une composante journalière (e.g. cycle ovarien, alimentation, prise médicamenteuse). L'activité physique représente un puissant moyen de prévention des maladies cardiovasculaires, puisqu'elle peut contrecarrer les altérations cardiométaboliques induites par une alimentation hypercalorique, mais également atténuer les réponses de stress.

5.2 Implication pratique et perspective

Sur la base de l'ensemble de ces éléments, il appert que l'obésité puisse représenter l'un des points de départ des maladies cardiovasculaires. Dans le but de prévenir son développement, il convient de limiter le déséquilibre énergétique chronique, dans lequel les apports alimentaires excèdent les dépenses énergétiques. En pratique, le suivi de la balance énergétique n'est cependant pas une chose aisée, puisqu'il repose en grande partie sur les variations de poids corporel, constatées à postériori. Depuis plusieurs années, de nombreuses recherches sont accomplies dans le but d'identifier des marqueurs métaboliques qui permettent de rendre compte plus rapidement des variations dans la balance énergétique, et donc des potentiels gains ou pertes de poids. Dans cette optique, plusieurs études ont suggéré que la mesure de l'acétone dans l'air expiré puisse être utile. Il a en effet été démontré que l'acétone expiré représentait un indicateur fiable et non-invasif de la céto-genèse hépatique [219], i.e. une voie métabolique stimulée dans des conditions de jeûne, de restriction calorique et d'exercice physique [220]. A l'inverse, des données ont également montré que les concentrations d'acétone expiré en période de jeûne étaient diminuées suite à l'ingestion de calories [221]. Il a ainsi été proposé que la

mesure de ce corps cétonique puisse représenter un marqueur instantané de la balance énergétique [220]. Cependant, une dernière, récente étude menée par notre laboratoire n'est pas parvenue à mettre en évidence les changements attendus dans les concentrations d'acétone expiré suite à de légères variations dans la balance énergétique, et a laissé entrevoir quelques limitations sur l'utilisation de ce marqueur dans le cadre d'une alimentation riche en sucres [222].

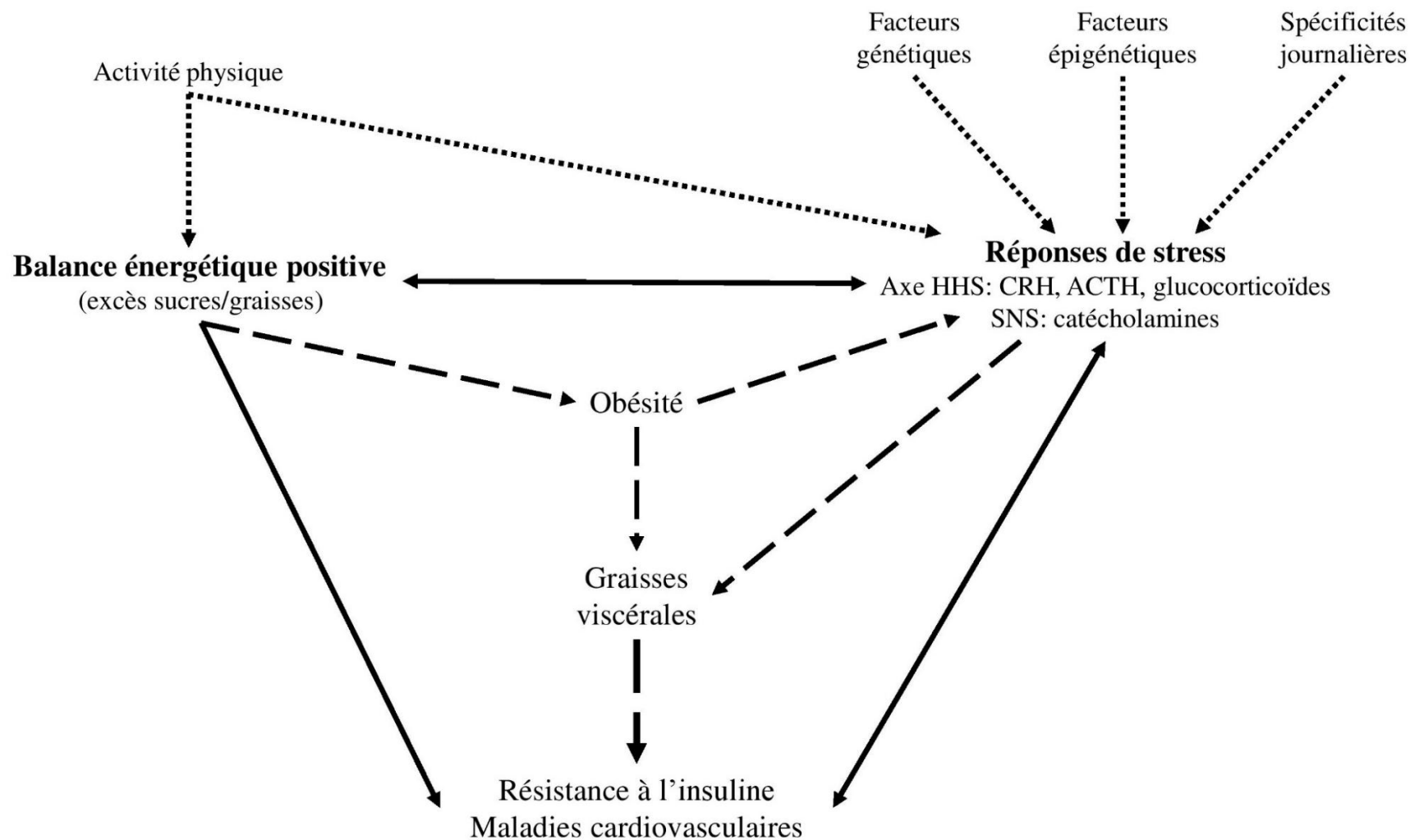


Figure 5 : Rôle des facteurs environnementaux dans le développement des maladies cardiovasculaires.

Les traits pleins représentent les axes d'investigations de cette thèse ; les traits hachurés représentent les altérations attendues à long terme ; les traitillés représentent les facteurs susceptibles d'influencer les interactions ; Abréviations : ACTH, hormone corticotrope ; CRH, corticolibérine ; HHS, axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ; SNS, système nerveux sympathique.

6 BIBLIOGRAPHIE

1. Omran, A.R., *The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change*. 1971. *Milbank Q*, 2005. **83**(4): p. 731-57.
2. Herrera, B.M. and C.M. Lindgren, *The genetics of obesity*. *Curr Diab Rep*, 2010. **10**(6): p. 498-505.
3. Parikh, R.M. and V. Mohan, *Changing definitions of metabolic syndrome*. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 2012. **16**(1): p. 7-12.
4. Groop, L., *Genetics of the metabolic syndrome*. *Br J Nutr*, 2000. **83 Suppl 1**: p. S39-48.
5. Prentice, A.M., *Obesity--the inevitable penalty of civilisation?* *Br Med Bull*, 1997. **53**(2): p. 229-37.
6. White, J.S., *Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't*. *Am J Clin Nutr*, 2008. **88**(6): p. 1716S-1721S.
7. Brantley, P.J., V.H. Myers, and H.J. Roy, *Environmental and lifestyle influences on obesity*. *J La State Med Soc*, 2005. **157 Spec No 1**: p. S19-27.
8. Popkin, B.M. and P. Gordon-Larsen, *The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants*. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2004. **28 Suppl 3**: p. S2-9.
9. Hill, J.O., H.R. Wyatt, and J.C. Peters, *Energy balance and obesity*. *Circulation*, 2012. **126**(1): p. 126-32.
10. Blüher, M., *The distinction of metabolically 'healthy' from 'unhealthy' obese individuals*. *Curr Opin Lipidol*, 2010. **21**(1): p. 38-43.
11. Chandola, T., E. Brunner, and M. Marmot, *Chronic stress at work and the metabolic syndrome: prospective study*. *BMJ*, 2006. **332**(7540): p. 521-5.
12. Evans, G.W., *Environnemental stress*. 1984: Cambridge University Press.
13. van Winkel, R., N.C. Stefanis, and I. Myin-Germeys, *Psychosocial Stress and Psychosis. A Review of the Neurobiological Mechanisms and the Evidence for Gene-Stress Interaction*. *Schizophrenia Bulletin*, 2008. **34**(6): p. 1095-1105.
14. Björntorp, P., *Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities?* *Obes Rev*, 2001. **2**(2): p. 73-86.
15. Tappy, L., *Q&A: 'toxic' effects of sugar: should we be afraid of fructose?* *BMC Biol*, 2012. **10**: p. 42.
16. Rivard, C., et al., *Sack and sugar, and the aetiology of gout in England between 1650 and 1900*. *Rheumatology (Oxford)*, 2013. **52**(3): p. 421-6.
17. Tappy, L. and K.A. Lê, *Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity*. *Physiol Rev*, 2010. **90**(1): p. 23-46.
18. Cordain, L., et al., *Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **81**(2): p. 341-54.
19. Goldfein, K.R. and J.L. Slavin, *Why Sugar Is Added to Food: Food Science 101*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015. **14**(5): p. 644-656.
20. Hanover, L.M. and J.S. White, *Manufacturing, composition, and applications of fructose*. *Am J Clin Nutr*, 1993. **58**(5 Suppl): p. 724S-732S.
21. Rippe, J.M. and T.J. Angelopoulos, *Sucrose, high-fructose corn syrup, and fructose, their metabolism and potential health effects: what do we really know?* *Adv Nutr*, 2013. **4**(2): p. 236-45.
22. Hruby, A. and F.B. Hu, *The Epidemiology of Obesity: A Big Picture*. *Pharmacoeconomics*, 2015. **33**(7): p. 673-89.

23. Bray, G.A., S.J. Nielsen, and B.M. Popkin, *Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity*. Am J Clin Nutr, 2004. **79**(4): p. 537-43.
24. Popkin, B.M. and S.J. Nielsen, *The sweetening of the world's diet*. Obes Res, 2003. **11**(11): p. 1325-32.
25. Reedy, J. and S.M. Krebs-Smith, *Dietary sources of energy, solid fats, and added sugars among children and adolescents in the United States*. J Am Diet Assoc, 2010. **110**(10): p. 1477-84.
26. Pan, A. and F.B. Hu, *Effects of carbohydrates on satiety: differences between liquid and solid food*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2011. **14**(4): p. 385-90.
27. Palmer, J.R., et al., *Sugar-sweetened beverages and incidence of type 2 diabetes mellitus in African American women*. Arch Intern Med, 2008. **168**(14): p. 1487-92.
28. Ludwig, D.S., K.E. Peterson, and S.L. Gortmaker, *Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis*. Lancet, 2001. **357**(9255): p. 505-8.
29. Vorster, H.H., et al., *Added sugar intake in South Africa: findings from the Adult Prospective Urban and Rural Epidemiology cohort study*. Am J Clin Nutr, 2014. **99**(6): p. 1479-86.
30. Fagherazzi, G., et al., *Consumption of artificially and sugar-sweetened beverages and incident type 2 diabetes in the Etude Epidemiologique aupres des femmes de la Mutuelle Generale de l'Education Nationale-European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort*. Am J Clin Nutr, 2013. **97**(3): p. 517-23.
31. Xi, B., et al., *Intake of fruit juice and incidence of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis*. PLoS One, 2014. **9**(3): p. e93471.
32. Malik, V.S., et al., *Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis*. Diabetes Care, 2010. **33**(11): p. 2477-83.
33. De Koning, L., et al., *Sweetened beverage consumption, incident coronary heart disease, and biomarkers of risk in men*. Circulation, 2012. **125**(14): p. 1735-41, S1.
34. Jayalath, V.H., et al., *Sugar-sweetened beverage consumption and incident hypertension: a systematic review and meta-analysis of prospective cohorts*. Am J Clin Nutr, 2015. **102**(4): p. 914-21.
35. Dhingra, R., et al., *Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community*. Circulation, 2007. **116**(5): p. 480-8.
36. Tappy, L., et al., *French Recommendations for Sugar Intake in Adults: A Novel Approach Chosen by ANSES*. Nutrients, 2018. **10**(8).
37. Johnson, R.K., et al., *Dietary sugars intake and cardiovascular health: a scientific statement from the American Heart Association*. Circulation, 2009. **120**(11): p. 1011-20.
38. Aller, E.E.J.G., et al., *Starches, sugars and obesity*. Nutrients, 2011. **3**(3): p. 341-369.
39. Bray, G.A., *Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose*. Curr Opin Lipidol, 2010. **21**(1): p. 51-7.
40. Stanhope, K.L., et al., *Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans*. J Clin Invest, 2009. **119**(5): p. 1322-34.
41. Bray, G.A. and B.M. Popkin, *Calorie-sweetened beverages and fructose: what have we learned 10 years later*. Pediatr Obes, 2013. **8**(4): p. 242-8.
42. Truswell, A.S., J.M. Seach, and A.W. Thorburn, *Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of glucose*. The American Journal of Clinical Nutrition, 1988. **48**(6): p. 1424-1430.

43. Francey, C., et al., *The extra-splanchnic fructose escape after ingestion of a fructose-glucose drink: An exploratory study in healthy humans using a dual fructose isotope method*. Clin Nutr ESPEN, 2019. **29**: p. 125-132.
44. Mayes, P.A., *Intermediary metabolism of fructose*. Am J Clin Nutr, 1993. **58**(5 Suppl): p. 754S-765S.
45. Johnson, R.J., et al., *Sugar, Uric Acid, and the Etiology of Diabetes and Obesity*. Diabetes, 2013. **62**(10): p. 3307-3315.
46. Ali, M., P. Rellos, and T.M. Cox, *Hereditary fructose intolerance*. J Med Genet, 1998. **35**(5): p. 353-65.
47. Rosset, R., L. Egli, and V. Lecoultre, *Glucose-fructose ingestion and exercise performance: The gastrointestinal tract and beyond*. Eur J Sport Sci, 2017. **17**(7): p. 874-884.
48. Delarue, J., et al., *The contribution of naturally labelled 13C fructose to glucose appearance in humans*. Diabetologia, 1993. **36**(4): p. 338-45.
49. Tounian, P., et al., *Effects of infused fructose on endogenous glucose production, gluconeogenesis, and glycogen metabolism*. Am J Physiol, 1994. **267**(5 Pt 1): p. E710-7.
50. Tran, C., et al., *Sex differences in lipid and glucose kinetics after ingestion of an acute oral fructose load*. Br J Nutr, 2010. **104**(8): p. 1139-47.
51. Theytaz, F., et al., *Metabolic fate of fructose ingested with and without glucose in a mixed meal*. Nutrients, 2014. **6**(7): p. 2632-49.
52. Sun, S.Z. and M.W. Empie, *Fructose metabolism in humans - what isotopic tracer studies tell us*. Nutrition & metabolism, 2012. **9**(1): p. 89-89.
53. Jegatheesan, P. and J.P. De Bandt, *Fructose and NAFLD: The Multifaceted Aspects of Fructose Metabolism*. Nutrients, 2017. **9**(3).
54. Iizuka, K., *The Role of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Intestinal and Hepatic Fructose Metabolism*. Nutrients, 2017. **9**(2): p. 181.
55. Tordoff, M.G. and A.M. Alleva, *Effect of drinking soda sweetened with aspartame or high-fructose corn syrup on food intake and body weight*. Am J Clin Nutr, 1990. **51**(6): p. 963-9.
56. Berkey, C.S., et al., *Sugar-added beverages and adolescent weight change*. Obes Res, 2004. **12**(5): p. 778-88.
57. Silbernagel, G., et al., *Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial*. Br J Nutr, 2011. **106**(1): p. 79-86.
58. Rosset, R., et al., *Postexercise repletion of muscle energy stores with fructose or glucose in mixed meals*. Am J Clin Nutr, 2017. **105**(3): p. 609-617.
59. Tappy, L., et al., *Effects of fructose-containing caloric sweeteners on resting energy expenditure and energy efficiency: a review of human trials*. Nutr Metab (Lond), 2013. **10**(1): p. 54.
60. Havel, P.J., *Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism*. Nutr Rev, 2005. **63**(5): p. 133-57.
61. Teff, K.L., et al., *Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(6): p. 2963-72.
62. Soenen, S. and M.S. Westerterp-Plantenga, *No differences in satiety or energy intake after high-fructose corn syrup, sucrose, or milk preloads*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(6): p. 1586-94.

63. Rodin, J., *Comparative effects of fructose, aspartame, glucose, and water preloads on calorie and macronutrient intake*. Am J Clin Nutr, 1990. **51**(3): p. 428-35.
64. Te Morenga, L., S. Mallard, and J. Mann, *Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies*. BMJ, 2012. **346**: p. e7492.
65. Sievenpiper, J.L., et al., *Effect of fructose on body weight in controlled feeding trials: a systematic review and meta-analysis*. Ann Intern Med, 2012. **156**(4): p. 291-304.
66. Vartanian, L.R., M.B. Schwartz, and K.D. Brownell, *Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis*. Am J Public Health, 2007. **97**(4): p. 667-75.
67. Mrdjenovic, G. and D.A. Levitsky, *Nutritional and energetic consequences of sweetened drink consumption in 6- to 13-year-old children*. J Pediatr, 2003. **142**(6): p. 604-10.
68. Després, J.P. and I. Lemieux, *Abdominal obesity and metabolic syndrome*. Nature, 2006. **444**(7121): p. 881-7.
69. Maersk, M., et al., *Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study*. Am J Clin Nutr, 2012. **95**(2): p. 283-9.
70. Faeh, D., et al., *Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men*. Diabetes, 2005. **54**(7): p. 1907-13.
71. Aeberli, I., et al., *Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in healthy young men: a randomized controlled trial*. Diabetes Care, 2013. **36**(1): p. 150-6.
72. Couchepin, C., et al., *Markedly blunted metabolic effects of fructose in healthy young female subjects compared with male subjects*. Diabetes Care, 2008. **31**(6): p. 1254-6.
73. Lê, K.A., et al., *Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(6): p. 1760-5.
74. Shulman, G.I., *Cellular mechanisms of insulin resistance*. J Clin Invest, 2000. **106**(2): p. 171-6.
75. Black, R.N., et al., *Effect of eucaloric high- and low-sucrose diets with identical macronutrient profile on insulin resistance and vascular risk: a randomized controlled trial*. Diabetes, 2006. **55**(12): p. 3566-72.
76. Lewis, A.S., et al., *Comparison of 5% versus 15% sucrose intakes as part of a eucaloric diet in overweight and obese subjects: effects on insulin sensitivity, glucose metabolism, vascular compliance, body composition and lipid profile. A randomised controlled trial*. Metabolism, 2013. **62**(5): p. 694-702.
77. Bantle, J.P., et al., *Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects*. Am J Clin Nutr, 2000. **72**(5): p. 1128-34.
78. Zavaroni, I., Y.D. Chen, and G.M. Reaven, *Studies of the mechanism of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat*. Metabolism, 1982. **31**(11): p. 1077-83.
79. Han, S.H., et al., *Hypertriglyceridemia and Cardiovascular Diseases: Revisited*. Korean Circ J, 2016. **46**(2): p. 135-44.
80. Livesey, G. and R. Taylor, *Fructose consumption and consequences for glycation, plasma triacylglycerol, and body weight: meta-analyses and meta-regression models of intervention studies*. Am J Clin Nutr, 2008. **88**(5): p. 1419-37.
81. Theytaz, F., et al., *Effects of supplementation with essential amino acids on intrahepatic lipid concentrations during fructose overfeeding in humans*. Am J Clin Nutr, 2012. **96**(5): p. 1008-16.

82. Parks, E.J., et al., *Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults*. J Nutr, 2008. **138**(6): p. 1039-46.
83. McDevitt, R.M., et al., *De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women*. Am J Clin Nutr, 2001. **74**(6): p. 737-46.
84. Chong, M.F., B.A. Fielding, and K.N. Frayn, *Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia*. Am J Clin Nutr, 2007. **85**(6): p. 1511-20.
85. Szczepaniak, L.S., et al., *Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **288**(2): p. E462-8.
86. Szendroedi, J. and M. Roden, *Ectopic lipids and organ function*. Curr Opin Lipidol, 2009. **20**(1): p. 50-6.
87. Neuschwander-Tetri, B.A., *Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2013. **16**(4): p. 446-52.
88. Ngo Sock, E.T., et al., *Effects of a short-term overfeeding with fructose or glucose in healthy young males*. Br J Nutr, 2010. **103**(7): p. 939-43.
89. Sobrecases, H., et al., *Effects of short-term overfeeding with fructose, fat and fructose plus fat on plasma and hepatic lipids in healthy men*. Diabetes Metab, 2010. **36**(3): p. 244-6.
90. Lecoultrre, V., et al., *Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans*. Obesity (Silver Spring), 2013. **21**(4): p. 782-5.
91. Johnston, R.D., et al., *No difference between high-fructose and high-glucose diets on liver triacylglycerol or biochemistry in healthy overweight men*. Gastroenterology, 2013. **145**(5): p. 1016-1025.e2.
92. Sevastianova, K., et al., *Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans*. Am J Clin Nutr, 2012. **96**(4): p. 727-34.
93. Koo, H.-Y., et al., *Replacing dietary glucose with fructose increases ChREBP activity and SREBP-1 protein in rat liver nucleus*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009. **390**(2): p. 285-289.
94. Jin, R., et al., *Dietary fructose reduction improves markers of cardiovascular disease risk in Hispanic-American adolescents with NAFLD*. Nutrients, 2014. **6**(8): p. 3187-201.
95. Van der Meer, R.W., et al., *Effects of short-term high-fat, high-energy diet on hepatic and myocardial triglyceride content in healthy men*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(7): p. 2702-8.
96. Nguyen, S., et al., *Sugar-sweetened beverages, serum uric acid, and blood pressure in adolescents*. J Pediatr, 2009. **154**(6): p. 807-13.
97. Brown, C.M., et al., *Fructose ingestion acutely elevates blood pressure in healthy young humans*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008. **294**(3): p. R730-7.
98. Grasser, E.K., A. Dulloo, and J.P. Montani, *Cardiovascular responses to the ingestion of sugary drinks using a randomised cross-over study design: Does glucose attenuate the blood pressure-elevating effect of fructose?* Br J Nutr, 2014. **112**(2): p. 183-92.
99. Perez-Pozo, S.E., et al., *Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response*. Int J Obes (Lond), 2010. **34**(3): p. 454-61.
100. Lê, K.A., et al., *A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans*. Am J Clin Nutr, 2006. **84**(6): p. 1374-9.
101. Koivisto, V.A. and H. Yki-Järvinen, *Fructose and insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes*. J Intern Med, 1993. **233**(2): p. 145-53.

102. Egli, L., et al., *Exercise prevents fructose-induced hypertriglyceridemia in healthy young subjects*. Diabetes, 2013. **62**(7): p. 2259-65.
103. Rippe, J.M. and T.J. Angelopoulos, *Relationship between Added Sugars Consumption and Chronic Disease Risk Factors: Current Understanding*. Nutrients, 2016. **8**(11).
104. Rosset, R., A. Surowska, and L. Tappy, *Pathogenesis of Cardiovascular and Metabolic Diseases: Are Fructose-Containing Sugars More Involved Than Other Dietary Calories?* Curr Hypertens Rep, 2016. **18**(6): p. 44.
105. Klein, A.V. and H. Kiat, *The mechanisms underlying fructose-induced hypertension: a review*. J Hypertens, 2015. **33**(5): p. 912-20.
106. Vollenweider, P., et al., *Differential effects of hyperinsulinemia and carbohydrate metabolism on sympathetic nerve activity and muscle blood flow in humans*. J Clin Invest, 1993. **92**(1): p. 147-54.
107. Brundin, T., R. Bränström, and J. Wahren, *Effects of oral vs. i.v. glucose administration on splanchnic and extrasplanchnic O₂ uptake and blood flow*. Am J Physiol, 1996. **271**(3 Pt 1): p. E496-504.
108. Rowe, J.W., et al., *Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man*. Diabetes, 1981. **30**(3): p. 219-25.
109. Stora, J.-B., *Introduction*, in *Le stress*. 2010, Presses Universitaires de France: Paris cedex 14. p. 3-12.
110. Selye, H., *The stress of life*. The stress of life. 1956, New York, NY, US: McGraw-Hill. xvi, 324-xvi, 324.
111. Cooper, S.J., *From Claude Bernard to Walter Cannon. Emergence of the concept of homeostasis*. Appetite, 2008. **51**(3): p. 419-27.
112. McEwen, B.S., *Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain*. Dialogues in clinical neuroscience, 2006. **8**(4): p. 367-381.
113. Molinoff, P.B., *α - and β -Adrenergic Receptor Subtypes*. Drugs, 1984. **28**(2): p. 1-15.
114. Seematter, G., C. Binnert, and L. Tappy, *Stress and metabolism*. Metab Syndr Relat Disord, 2005. **3**(1): p. 8-13.
115. Tappy, L., G. Seematter, and J.L. Martin, *Environmental influences on diseases in later life*. Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme, 2004. **9**: p. 19-30; discussion 30-5.
116. Cannon, W.B., *The wisdom of the body*. The wisdom of the body. 1932, New York, NY, US: W W Norton & Co. 312-312.
117. Spence, J.D., et al., *Hemodynamic and endocrine effects of mental stress in untreated borderline hypertension*. Am J Hypertens, 1990. **3**(11): p. 859-62.
118. Battilana, P., et al., *Effects of free fatty acids on insulin sensitivity and hemodynamics during mental stress*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(1): p. 124-8.
119. Sauder, K.A., et al., *Effect of meal content on heart rate variability and cardiovascular reactivity to mental stress*. Psychophysiology, 2012. **49**(4): p. 470-7.
120. West, S.G., et al., *Effects of diets high in walnuts and flax oil on hemodynamic responses to stress and vascular endothelial function*. J Am Coll Nutr, 2010. **29**(6): p. 595-603.
121. Paine, N.J., et al., *The effect of acute mental stress on limb vasodilation is unrelated to total peripheral resistance*. Psychophysiology, 2013. **50**(7): p. 680-690.
122. Tsai, P.-S., et al., *Hemodynamics and Arterial Properties in Response to Mental Stress in Individuals with Mild Hypertension*. Psychosomatic Medicine, 2003. **65**(4): p. 613-619.
123. Dietz, N.M., et al., *Nitric oxide contributes to the rise in forearm blood flow during mental stress in humans*. J Physiol, 1994. **480** (Pt 2): p. 361-8.

124. Seematter, G., et al., *Effects of mental stress on insulin-mediated glucose metabolism and energy expenditure in lean and obese women*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000. **279**(4): p. E799-805.
125. Moan, A., et al., *Mental stress increases glucose uptake during hyperinsulinemia: associations with sympathetic and cardiovascular responsiveness*. Metabolism, 1995. **44**(10): p. 1303-7.
126. Mourot, L., M. Bouhaddi, and J. Regnard, *Effects of the cold pressor test on cardiac autonomic control in normal subjects*. Physiol Res, 2009. **58**(1): p. 83-91.
127. Ring, C., et al., *Secretory immunoglobulin A and cardiovascular reactions to mental arithmetic, cold pressor, and exercise: Effects of alpha-adrenergic blockade*. Psychophysiology, 2000. **37**(5): p. 634-643.
128. Seematter, G., et al., *Relationship between stress, inflammation and metabolism*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2004. **7**(2): p. 169-73.
129. Tappy, L., *The Stress Response of Critical Illness: Metabolic and Hormonal Aspects*, in *The Stress Response of Critical Illness: Metabolic and Hormonal Aspects*, J.-C. Preiser, Editor. 2016, Springer International Publishing: Cham. p. 75-87.
130. Tappy, L., et al., *Metabolic effects of an increase of sympathetic activity in healthy humans*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1995. **19**(6): p. 419-22.
131. Lembo, G., et al., *Acute noradrenergic activation induces insulin resistance in human skeletal muscle*. Am J Physiol, 1994. **266**(2 Pt 1): p. E242-7.
132. Hagström-Toft, E., et al., *Adrenergic regulation of human adipose tissue metabolism in situ during mental stress*. J Clin Endocrinol Metab, 1993. **76**(2): p. 392-8.
133. Lönnqvist, F., et al., *Effects of mental stress on lipolysis in humans*. Metabolism, 1992. **41**(6): p. 622-30.
134. Ebbert, J.O. and M.D. Jensen, *Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia*. Nutrients, 2013. **5**(2): p. 498-508.
135. Tappy, L., et al., *Mechanisms of dexamethasone-induced insulin resistance in healthy humans*. J Clin Endocrinol Metab, 1994. **79**(4): p. 1063-9.
136. Björntorp, P., *The regulation of adipose tissue distribution in humans*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1996. **20**(4): p. 291-302.
137. Seematter, G., et al., *Metabolic effects of mental stress during over- and underfeeding in healthy women*. Obes Res, 2002. **10**(1): p. 49-55.
138. Randin, D., et al., *Suppression of alcohol-induced hypertension by dexamethasone*. N Engl J Med, 1995. **332**(26): p. 1733-7.
139. Strack, A.M., et al., *A hypercaloric load induces thermogenesis but inhibits stress responses in the SNS and HPA system*. Am J Physiol, 1997. **272**(3 Pt 2): p. R840-8.
140. Oliver, G. and J. Wardle, *Perceived effects of stress on food choice*. Physiol Behav, 1999. **66**(3): p. 511-5.
141. Weinstein, S.E., D.J. Shide, and B.J. Rolls, *Changes in food intake in response to stress in men and women: psychological factors*. Appetite, 1997. **28**(1): p. 7-18.
142. Maniam, J. and M.J. Morris, *The link between stress and feeding behaviour*. Neuropharmacology, 2012. **63**(1): p. 97-110.
143. Adam, T.C. and E.S. Epel, *Stress, eating and the reward system*. Physiol Behav, 2007. **91**(4): p. 449-58.
144. Wardle, J., et al., *Stress, dietary restraint and food intake*. J Psychosom Res, 2000. **48**(2): p. 195-202.
145. Gibson, E.L., *Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways*. Physiol Behav, 2006. **89**(1): p. 53-61.
146. Van Cauter, E., et al., *Metabolic consequences of sleep and sleep loss*. Sleep Med, 2008. **9 Suppl 1**: p. S23-8.

147. Spiegel, K., et al., *Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk*. Nat Rev Endocrinol, 2009. **5**(5): p. 253-61.
148. Chaput, J.P., et al., *The association between sleep duration and weight gain in adults: a 6-year prospective study from the Quebec Family Study*. Sleep, 2008. **31**(4): p. 517-23.
149. Cappuccio, F.P., et al., *Quantity and quality of sleep and incidence of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis*. Diabetes Care, 2010. **33**(2): p. 414-20.
150. Gangwisch, J.E., et al., *Short sleep duration as a risk factor for hypertension: analyses of the first National Health and Nutrition Examination Survey*. Hypertension, 2006. **47**(5): p. 833-9.
151. Nagai, M., S. Hoshida, and K. Kario, *Sleep duration as a risk factor for cardiovascular disease- a review of the recent literature*. Curr Cardiol Rev, 2010. **6**(1): p. 54-61.
152. Gallicchio, L. and B. Kalesan, *Sleep duration and mortality: a systematic review and meta-analysis*. J Sleep Res, 2009. **18**(2): p. 148-58.
153. Spiegel, K., R. Leproult, and E. Van Cauter, *Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function*. Lancet, 1999. **354**(9188): p. 1435-9.
154. Buxton, O.M., et al., *Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men*. Diabetes, 2010. **59**(9): p. 2126-33.
155. Rao, M.N., et al., *Subchronic sleep restriction causes tissue-specific insulin resistance*. J Clin Endocrinol Metab, 2015. **100**(4): p. 1664-71.
156. Donga, E., et al., *A single night of partial sleep deprivation induces insulin resistance in multiple metabolic pathways in healthy subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(6): p. 2963-8.
157. Broussard, J.L., et al., *Impaired insulin signaling in human adipocytes after experimental sleep restriction: a randomized, crossover study*. Ann Intern Med, 2012. **157**(8): p. 549-57.
158. Mesarwi, O., et al., *Sleep disorders and the development of insulin resistance and obesity*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2013. **42**(3): p. 617-34.
159. Leproult, R., et al., *Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening*. Sleep, 1997. **20**(10): p. 865-70.
160. Broussard, J.L., et al., *Sleep restriction increases free fatty acids in healthy men*. Diabetologia, 2015. **58**(4): p. 791-8.
161. Nedeltcheva, A.V., et al., *Exposure to recurrent sleep restriction in the setting of high caloric intake and physical inactivity results in increased insulin resistance and reduced glucose tolerance*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(9): p. 3242-50.
162. Divertie, G.D., M.D. Jensen, and J.M. Miles, *Stimulation of lipolysis in humans by physiological hypercortisolemia*. Diabetes, 1991. **40**(10): p. 1228-32.
163. Markwald, R.R., et al., *Impact of insufficient sleep on total daily energy expenditure, food intake, and weight gain*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(14): p. 5695-700.
164. Nedeltcheva, A.V., et al., *Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks*. Am J Clin Nutr, 2009. **89**(1): p. 126-33.
165. Spiegel, K., et al., *Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite*. Ann Intern Med, 2004. **141**(11): p. 846-50.
166. Cros, J., et al., *Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals*. Am J Clin Nutr, 2019.
167. Ulrich-Lai, Y.M., et al., *Pleasurable behaviors reduce stress via brain reward pathways*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(47): p. 20529-34.

168. Suchecki, D., J. Antunes, and S. Tufik, *Palatable solutions during paradoxical sleep deprivation: reduction of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and lack of effect on energy imbalance*. *J Neuroendocrinol*, 2003. **15**(9): p. 815-21.
169. Bucher, H.U., et al., *Sucrose reduces pain reaction to heel lancing in preterm infants: a placebo-controlled, randomized and masked study*. *Pediatr Res*, 1995. **38**(3): p. 332-5.
170. Tryon, M.S., et al., *Excessive Sugar Consumption May Be a Difficult Habit to Break: A View From the Brain and Body*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015: p. jc20144353.
171. Deuster, P.A., et al., *Hormonal responses to ingesting water or a carbohydrate beverage during a 2 h run*. *Med Sci Sports Exerc*, 1992. **24**(1): p. 72-9.
172. Ulrich-Lai, Y.M., et al., *Daily limited access to sweetened drink attenuates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis stress responses*. *Endocrinology*, 2007. **148**(4): p. 1823-34.
173. Dallman, M.F., et al., *Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food"*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. **100**(20): p. 11696-701.
174. Lee, A.A. and C. Owyang, *Sugars, Sweet Taste Receptors, and Brain Responses*. *Nutrients*, 2017. **9**(7).
175. Laffitte, A., F. Neiers, and L. Briand, *Functional roles of the sweet taste receptor in oral and extraoral tissues*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014. **17**(4): p. 379-85.
176. Mysels, D.J. and M.A. Sullivan, *The relationship between opioid and sugar intake: review of evidence and clinical applications*. *J Opioid Manag*, 2010. **6**(6): p. 445-52.
177. Nicklaus, S. and C. Divert, *Le goût sucré, de l'enfance... à la dépendance ?* *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2013. **48**(6): p. 272-281.
178. Laugero, K.D., et al., *Sucrose ingestion normalizes central expression of corticotropin-releasing-factor messenger ribonucleic acid and energy balance in adrenalectomized rats: a glucocorticoid-metabolic-brain axis?* *Endocrinology*, 2001. **142**(7): p. 2796-804.
179. Wolfe, R. and D. Chinkes, *Isotope tracers in metabolic research, Principles and practice of kinetic analysis, Second Edition*. 2005. 474.
180. Jéquier, E. and J.P. Felber, *Indirect calorimetry*. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1987. **1**(4): p. 911-35.
181. Ferrannini, E., *The theoretical bases of indirect calorimetry: a review*. *Metabolism*, 1988. **37**(3): p. 287-301.
182. Simonson, D.C. and R.A. DeFronzo, *Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems*. *Am J Physiol*, 1990. **258**(3 Pt 1): p. E399-412.
183. Blond, E., et al., *A new indirect calorimeter is accurate and reliable for measuring basal energy expenditure, thermic effect of food and substrate oxidation in obese and healthy subjects*. *European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 2011. **6**(1): p. e7-e15.
184. Oshima, T., et al., *Indirect calorimetry in nutritional therapy. A position paper by the ICALIC study group*. *Clinical Nutrition*, 2017. **36**(3): p. 651-662.
185. Frayn, K.N., *Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange*. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1983. **55**(2): p. 628-34.
186. Weir, J.B., *New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism*. *J Physiol*, 1949. **109**(1-2): p. 1-9.
187. Tappy, L., et al., *Assessment of glucose metabolism in humans with the simultaneous use of indirect calorimetry and tracer techniques*. *Clin Physiol*, 1995. **15**(1): p. 1-12.
188. Delarue, J. and M. Beylot, *Les traceurs isotopiques stables en nutrition humaine : que peut-on faire avec ?* *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2007. **42**(6): p. 324-335.

189. Steele, R., *Influences of glucose loading and of injected insulin on hepatic glucose output*. Ann N Y Acad Sci, 1959. **82**: p. 420-30.
190. Debodo, R.C., et al., *On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism; studies with C14 glucose*. Recent Prog Horm Res, 1963. **19**: p. 445-88.
191. Association, A.D., *Gestational diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2004. **27 Suppl 1**: p. S88-90.
192. Association, A.D., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2010. **33 Suppl 1**: p. S62-9.
193. Proietto, J., et al., *Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model*. Am J Physiol, 1987. **252**(1 Pt 1): p. E77-84.
194. Schneiter, P. and L. Tappy, *Kinetics of dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy humans*. Am J Physiol, 1998. **275**(5 Pt 1): p. E806-13.
195. Kelley, D., et al., *Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load*. J Clin Invest, 1988. **81**(5): p. 1563-71.
196. Egli, L., et al., *Exercise performed immediately after fructose ingestion enhances fructose oxidation and suppresses fructose storage*. Am J Clin Nutr, 2016. **103**(2): p. 348-55.
197. Nieuwenhuijsen, K., D. Bruinvels, and M. Frings-Dresen, *Psychosocial work environment and stress-related disorders, a systematic review*. Occup Med (Lond), 2010. **60**(4): p. 277-86.
198. Fabbrini, E. and F. Magkos, *Hepatic Steatosis as a Marker of Metabolic Dysfunction*. Nutrients, 2015. **7**(6): p. 4995-5019.
199. West, S.G., *Effect of diet on vascular reactivity: an emerging marker for vascular risk*. Curr Atheroscler Rep, 2001. **3**(6): p. 446-55.
200. Vieweg, W.V.R., L.M. Dougherty, and C.S. Nicholson, *Mental stress and the cardiovascular system part I: Cardiovascular response to acute mental stress in normal subjects*. Medical Update for Psychiatrists, 1997. **2**(4): p. 94-98.
201. Jern, S., et al., *Relation of central hemodynamics to obesity and body fat distribution*. Hypertension, 1992. **19**(6 Pt 1): p. 520-7.
202. Davis, M.C., et al., *Body fat distribution and hemodynamic stress responses in premenopausal obese women: a preliminary study*. Health Psychol, 1999. **18**(6): p. 625-33.
203. Björntorp, P., *Visceral fat accumulation: the missing link between psychosocial factors and cardiovascular disease?* Journal of Internal Medicine, 1991. **230**(3): p. 195-201.
204. Binder, E.B. and C.B. Nemeroff, *The CRF system, stress, depression and anxiety—insights from human genetic studies*. Molecular Psychiatry, 2009. **15**: p. 574.
205. Wüst, S., et al., *A Psychobiological Perspective on Genetic Determinants of Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis Activity*. 2004. **1032**(1): p. 52-62.
206. Phillips, C., *Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Physical Activity: Making the Neuroplastic Connection*. Neural Plast, 2017. **2017**: p. 7260130.
207. Federenko, I.S., et al., *The heritability of hypothalamus pituitary adrenal axis responses to psychosocial stress is context dependent*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(12): p. 6244-50.
208. Lupien, S.J., et al., *Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition*. Nature Reviews Neuroscience, 2009. **10**: p. 434.
209. Luecken, L.J., *Childhood attachment and loss experiences affect adult cardiovascular and cortisol function*. Psychosom Med, 1998. **60**(6): p. 765-72.
210. Putnam, F.W., et al., *Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in sexually abused girls*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1994. **78**(2): p. 249-255.

211. Ozbay, F., et al., *Social support and resilience to stress: from neurobiology to clinical practice*. Psychiatry (Edgmont (Pa. : Township)), 2007. **4**(5): p. 35-40.
212. Maki, P.M., et al., *Menstrual cycle effects on cortisol responsivity and emotional retrieval following a psychosocial stressor*. Hormones and behavior, 2015. **74**: p. 201-208.
213. Delarue, J., et al., *Fish oil prevents the adrenal activation elicited by mental stress in healthy men*. Diabetes Metab, 2003. **29**(3): p. 289-95.
214. Strong, W.B., et al., *Evidence Based Physical Activity for School-age Youth*. The Journal of Pediatrics, 2005. **146**(6): p. 732-737.
215. Golbidi, S., A. Mesdaghinia, and I. Laher, *Exercise in the metabolic syndrome*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2012. **2012**: p. 349710-349710.
216. Nseir, W., E. Hellou, and N. Assy, *Role of diet and lifestyle changes in nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(28): p. 9338-44.
217. Koutsari, C., et al., *Exercise prevents the accumulation of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants seen when changing to a high-carbohydrate diet*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(9): p. 1520-5.
218. Roy, M. and A. Steptoe, *The Inhibition of Cardiovascular Responses to Mental Stress Following Aerobic Exercise*. 1991. **28**(6): p. 689-700.
219. Likhodii, S.S., S.C. Cunnane, and K. Musa-Veloso, *Breath acetone is a reliable indicator of ketosis in adults consuming ketogenic meals*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2002. **76**(1): p. 65-70.
220. Samudrala, D., et al., *Breath acetone to monitor life style interventions in field conditions: An exploratory study*. 2014. **22**(4): p. 980-983.
221. Anderson, J.C., *Measuring breath acetone for monitoring fat loss: Review*. Obesity (Silver Spring, Md.), 2015. **23**(12): p. 2327-2334.
222. Bovey, F., et al., *Breath acetone as a marker of energy balance: an exploratory study in healthy humans*. Nutr Diabetes, 2018. **8**(1): p. 50.

7 LISTE DES PUBLICATIONS

- 2019 -

Cros, J., L. Bidlingmeyer, R. Rosset, K. Seyssel, C. Crézé, N. Stefanoni, P. Schneiter and L. Tappy. 2019. Effect of nutritive and non-nutritive sweeteners on hemodynamic responses to stress: a randomized crossover trial in healthy women. *Nutr and Diabetes* (en révision).

Surowska, A., P. Jegatheesan, V. Campos, A.S. Marques, L. Egli, **J. Cros**, R. Rosset, V. Lecoultre, R. Kreis, C. Boesch, B. Pouymayou, P. Schneiter, and L. Tappy. 2019. Effects of Dietary Protein and Fat Content on Intrahepatocellular and Intramyocellular Lipids during a 6-Day Hypercaloric, High Sucrose Diet: A Randomized Controlled Trial in Normal Weight Healthy Subjects. *Nutrients*. 11.

Francey, C., **J. Cros**, R. Rosset, C. Crézé, V. Rey, N. Stefanoni, P. Schneiter, L. Tappy, and K. Seyssel. 2019. The extra-splanchnic fructose escape after ingestion of a fructose-glucose drink: An exploratory study in healthy humans using a dual fructose isotope method. *Clin Nutr ESPEN*. 29:125-132.

Cros, J., E. Pianezzi, R. Rosset, L. Egli, P. Schneiter, F. Cornette, B. Pouymayou, R. Heinzer, L. Tappy, R. Kreis, C. Boesch, J. Haba-Rubio, and V. Lecoultre. 2019. Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals. *The American journal of clinical nutrition*.

- 2018 -

Bovey, F.*, **J. Cros***, B. Tuzson, K. Seyssel, P. Schneiter, L. Emmenegger, and L. Tappy. 2018. Breath acetone as a marker of energy balance: an exploratory study in healthy humans. *Nutr and Diabetes*. 8:50. (* contribution égale)

Seyssel, K., **J. Cros**, C. Crézé, and L. Tappy. 2018. Les risques métaboliques associés à la consommation de fructose : évidences établies et hypothèses persistantes. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 12:405-411.

- 2017 -

Rosset, R., V. Lecoultre, L. Egli, **J. Cros**, V. Rey, N. Stefanoni, V. Sauvinet, M. Laville, P. Schneiter, and L. Tappy. 2017. Endurance Training with or without Glucose-Fructose Ingestion: Effects on Lactate Metabolism Assessed in a Randomized Clinical Trial on Sedentary Men. *Nutrients*. 9.

Rosset, R., V. Lecoultre, L. Egli, **J. Cros**, A.S. Dokumaci, K. Zwyzgart, C. Boesch, R. Kreis, P. Schneiter, and L. Tappy. 2017. Postexercise repletion of muscle energy stores with fructose or glucose in mixed meals. *The American journal of clinical nutrition*. 105:609-617.

- 2016 -

Egli, L., V. Lecoultre, **J. Cros**, R. Rosset, A.S. Marques, P. Schneiter, L. Hodson, L. Gabert, M. Laville, and L. Tappy. 2016. Exercise performed immediately after fructose ingestion enhances fructose oxidation and suppresses fructose storage. *The American journal of clinical nutrition*. 103:348-355.

8 COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ET CONFERENCES

- 2018 -

Six days of partial sleep restriction do not worsen the metabolic alterations induced by a mixed sugar-fat overfeeding.

European Group for the study of Insulin Resistance Meeting, Lille (France).
Communication orale.

Sugar and non-nutritive sweeteners: do they reduce stress response? The EduStress study.
Progress report, Département de Physiologie, Lausanne. Communication orale.

- 2017 -

Six days of sleep restriction do not potentiate the metabolic effects of a mixed sugar-fat overfeeding.

European Congress on Obesity, Porto (Portugal). Poster.

Does subchronic sleep restriction potentiate the metabolic effects of a mixed sugar-fat overfeeding diet? The SleepDep study.

Progress report, Département de Physiologie, Lausanne. Communication orale.

- 2016 -

Exercise does not seem to change qualitative fructose disposal into glucose or lactate.

European College of Sport Science, Vienne (Autriche). Poster.

- 2015 -

Metabolic fate of a fructose load ingested before or after exercise.

World Obesity Federation, Berlin (Allemagne). Communication orale.

Metabolic fate of a fructose load ingested before or after exercise.

European College of Sport Science, Malmö (Suède). Poster.

9 ANNEXES

**Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by
overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals**

(projet I)

Impact of sleep restriction on metabolic outcomes induced by overfeeding: a randomized controlled trial in healthy individuals

Jérémy Cros,¹ Enea Pianezzi,¹ Robin Rosset,¹ Léonie Egli,¹ Philippe Schneider,¹ Françoise Cornette,² Bertrand Pouymayou,³ Raphaël Heinzer,² Luc Tappy,^{1,4} Roland Kreis,³ Chris Boesch,³ José Haba-Rubio,² and Virgile Lecoultré^{1,4}

¹Department of Physiology, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland; ²Center for Investigation and Research in Sleep, Lausanne University Hospital, Faculty of Biology and Medicine, Lausanne, Switzerland; ³Department of Biomedical Research and Department of Radiology, University of Bern, Bern, Switzerland; and ⁴Cardio-Metabolic Center, Broye Hospital, Estavayer-le-lac, Switzerland

ABSTRACT

Background: Overconsumption of energy-dense foods and sleep restriction are both associated with the development of metabolic and cardiovascular diseases, but their combined effects remain poorly evaluated.

Objective: The aim of this study was to assess whether sleep restriction potentiates the effects of a short-term overfeeding on intrahepatocellular lipid (IHCL) concentrations and on glucose homeostasis.

Design: Ten healthy subjects were exposed to a 6-d overfeeding period (130% daily energy needs, with 15% extra energy as sucrose and 15% as fat), with normal sleep (8 h sleep opportunity time) or sleep restriction (4 h sleep opportunity time), according to a randomized, crossover design. At baseline and after intervention, IHCL concentrations were measured by proton magnetic resonance spectroscopy, and a dual intravenous [6,6-²H₂]-, oral ¹³C-labeled glucose tolerance test and a polysomnographic recording were performed.

Results: Overfeeding significantly increased IHCL concentrations ($P_{\text{overfeeding}} < 0.001$; overfeeding + normal sleep: $+53\% \pm 16\%$). During the oral glucose tolerance test, overfeeding significantly increased endogenous glucose production ($P_{\text{overfeeding}} = 0.034$) and the oxidation of ¹³C-labeled glucose load ($P_{\text{overfeeding}} = 0.038$). Sleep restriction significantly decreased total sleep time, and the duration of stages 1 and 2 and rapid eye movement sleep (all $P < 0.001$), whereas slow-wave sleep duration was preserved ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.809$). Compared with overfeeding, overfeeding + sleep restriction did not change IHCL concentrations ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.541$; $+83\% \pm 33\%$), endogenous glucose production ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.567$), or exogenous glucose oxidation ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.118$). Sleep restriction did not significantly alter blood pressure, heart rate, or plasma cortisol concentrations (all $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = \text{NS}$).

Conclusions: Six days of a high-sucrose, high-fat overfeeding diet significantly increased IHCL concentrations and increased endogenous glucose production, suggesting hepatic insulin resistance. These effects of overfeeding were not altered by sleep restriction. This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT02075723. Other study ID numbers: SleepDep 02/14. *Am J Clin Nutr* 2019;109:17–28.

Keywords: intrahepatocellular lipids, hepatic insulin resistance, glucose tolerance, polysomnography, slow wave sleep, stress response, cardiovascular risk factors

Introduction

Consumption of energy-dense foods is known to play an important role in the development of abdominal obesity, insulin resistance, nonalcoholic fatty liver disease, and the metabolic syndrome (1). Sugars have been suggested to be particularly involved in the development of these disorders. Several short-term intervention studies have indeed demonstrated that hypercaloric diets containing high amounts of sugars (i.e., sucrose, glucose, or fructose) can increase intrahepatocellular lipid (IHCL) concentrations and plasma triglyceride (TG) concentrations, and decrease hepatic insulin sensitivity over a short period of time (2, 3). In real-life conditions, sugars and lipids are often consumed together and in excess, and these 2 nutrients may have additive effects on IHCL concentrations (4).

Funded by a research grant to LT from the Swiss National Science Foundation, Bern, Switzerland (grant 32002B_156167). Part of this work was presented in 2017 as a poster at the 24th European Congress on Obesity, Porto, Portugal.

Supplemental Figure 1 and Supplemental Table 1 are available from the “Supplementary data” link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at <https://academic.oup.com/ajcn/>.

JH-R and VL contributed equally.

Address correspondence to LT (e-mail: luc.tappy@unil.ch).

Abbreviations used: D, experimental day; EGP, endogenous glucose production; FFA, free fatty acids; IHCL, intrahepatocellular lipid; OGTT, oral-glucose-tolerance test; PSG, polysomnography; REM, rapid eye movement; SNS, sympathetic nervous system; SO, sleep opportunity; SWS, slow-wave sleep; TG, triglyceride; TST, total sleep time; ¹H-MRS, proton magnetic resonance spectroscopy.

Received April 3, 2018. Accepted for publication August 6, 2018.

First published online January 5, 2019; doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy215>.

Several observational studies have demonstrated that poor sleep quality and short sleep duration are also associated with an increased risk of obesity (5) and type 2 diabetes (6). This observation was further supported by intervention studies showing that a few days of sleep restriction could impair glucose tolerance (7, 8) and cause muscle and adipose tissue insulin resistance (9, 10). The mechanisms underlying this effect remain speculative. Short-term intervention studies have reported an activation of the sympathetic nervous system (SNS) and increased glucocorticoid secretion in sleep-deprived subjects (11, 12), which may decrease insulin-mediated glucose disposal (13, 14). Chronically elevated glucocorticoids also favor the deposition of intra-abdominal fat, thus further increasing cardiometabolic risk (15). In addition, sleep restriction-induced stress responses stimulate adipose tissue lipolysis and increase plasma free-fatty acid (FFA) concentrations (16), which may promote ectopic lipid deposition, notably in the liver (17). Some authors have therefore proposed that sleep restriction may act as a stressor, and that the activation of SNS and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis would secondarily lead to the development of abdominal obesity, insulin resistance, and increased cardiometabolic risk (18).

In real life, overfeeding and sleep restriction may often occur simultaneously. In prospective studies, sleep restriction has indeed been associated with weight gain (19), which implies the presence of a positive energy balance. Furthermore, several studies have shown that daily caloric intake was increased during sleep restriction periods (20, 21), mainly from the consumption of energy-dense foods (22, 23). To date, the combined effects of these 2 factors remain, however, poorly evaluated. We therefore compared the effects of a short-term, hypercaloric, high-sucrose, high-fat diet associated with normal sleep and with sleep restriction in healthy volunteers. We selected IHCL concentration [measured by proton magnetic resonance spectroscopy ($^1\text{H-MRS}$)] as our primary outcome because this has been shown to be a reliable, early marker of metabolic dysfunction (24). We hypothesized that the increase in IHCL concentrations would be more pronounced when overfeeding was associated with sleep restriction.

Methods

Out of 62 volunteers screened, 16 were included and 10 volunteers [5 women and 5 men; mean \pm SEM age: 24 ± 1 y; BMI (kg/m^2): 21.6 ± 0.5] completed the study (**Supplemental Figure 1**). Subjects dropped out for various reasons: 2 for gastrointestinal complaints, 2 for voluntary withdrawal of consent, 1 for allergic reaction, and 1 for personal reasons unrelated to the nature of the study. All subjects were nonsmokers, had been weight stable (± 3 kg) for ≥ 3 mo, performed < 3 h of light to moderate exercise per week, were not currently taking any medication, reported no family history of diabetes, and had a habitual sleep opportunity (SO) > 7 h, no sleep complaints, and no night-shift work. Before inclusion, a physical examination was carried out to confirm the good health of the subjects. Subjects who scored > 5 on the Pittsburgh Sleep Quality Index questionnaire (25) or with extreme values (i.e., 16–30 and 70–86) on the self-assessment morningness-eveningness questionnaire (26) were not included. Finally, subjects exhibiting poor sleep

quality or sleep disturbances (i.e., characterized by a sleep efficiency $< 85\%$, an apnoea-hypopnoea index $> 15/\text{h}$, and periodic leg movements during sleep index $> 15/\text{h}$), as assessed during a screening outpatient overnight polysomnographic recording, were also excluded. All women reported being not pregnant throughout the experimental period. The protocol was approved by the Human Research Ethics Committee of Canton de Vaud and was registered at clinicaltrials.gov as NCT02075723. Before inclusion, all participants gave written informed consent.

Study design

The study design is illustrated in **Figure 1A**. The subjects of this randomized, crossover design were studied on 2 occasions, separated by a 4- to 8-wk washout period. Briefly, after a 3-d weight-maintenance diet [i.e., experimental day (D)–3 to D–1], participants underwent a 6-d overfeeding period (i.e., D1–D6; 130% of daily energy requirement, with 15% extra energy as sucrose and 15% extra energy as fat), with either normal sleep (8 h SO; the overfeeding + normal sleep condition) or sleep restriction (4 h SO; the overfeeding + sleep restriction condition). The metabolic effects induced by overfeeding with normal sleep or sleep restriction were assessed by measuring the accumulation of IHCLs by $^1\text{H-MRS}$ (primary outcome), by the alteration of hepatic glucose production, and by the metabolic fate of exogenous glucose during a dual, intravenous [$6,6\text{-}^2\text{H}_2$]-, oral ^{13}C -labeled-glucose-tolerance test (OGTT). The effects of both interventions on sleep parameters were assessed by polysomnography (PSG).

Baseline (D–3 to D–1)

In both conditions, subjects received instructions to consume an energy-balanced, weight-maintenance diet 3 d prior to the baseline metabolic evaluations and sleep recordings (i.e., D–3). During the last 2 d of baseline (i.e., D–2 to D–1), they then received a controlled, weight-maintenance diet containing 55% carbohydrates (45% as starch and 10% as sugar), 30% lipids and 15% proteins, and 36 g dietary fiber (**Table 1**). Individual energy requirements were calculated from the Harris-Benedict equation multiplied by a physical activity factor of 1.5. Diets were prepared accordingly by research staff and provided daily as prepacked meals and snacks for home consumption. Volunteers were asked to consume prepacked items at specific times of the day (i.e., 0800, 1000, 1200, 1500, and 1900), and to refrain from consuming any other foods or drinks with the exception of water. Throughout the baseline period, subjects were also asked to respect regular sleep times, with a minimum of 8 h of SO/night (i.e., from 2230 to 0630), and to refrain from consuming alcohol and performing structured physical activity. Compliance was checked through the use of dietary and sleep records.

Overfeeding (D1–D6)

At the end of the baseline period, volunteers entered a 6-d overfeeding (i.e., D1–D6). They received instructions to consume an energy-balanced, weight-maintenance diet during the first 4 intervention days (i.e., D1–D4), and they received exactly the same controlled, weight-maintenance diet as the one provided during the baseline period during the next 2 d (i.e.,

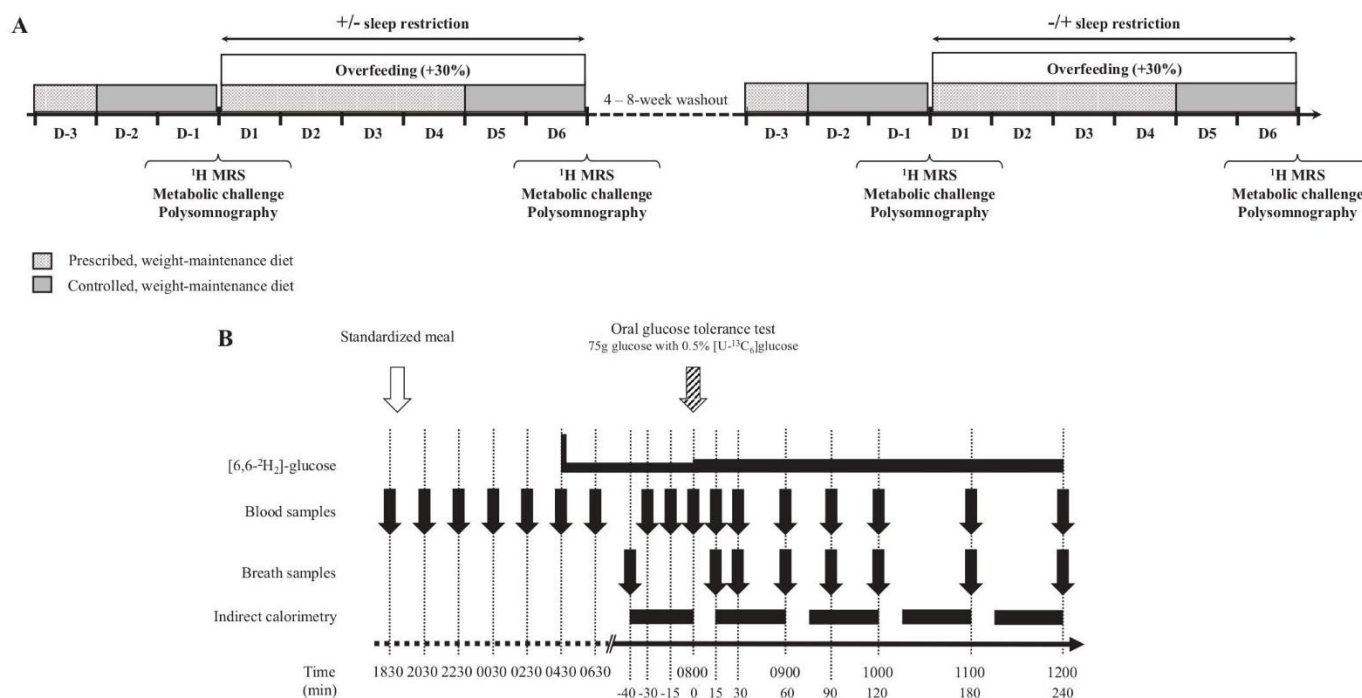


FIGURE 1 Experimental design of the study (A) and description of the metabolic challenge (B). After a 3-d weight-maintenance diet (i.e., D-3 to D-1), participants underwent a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period (i.e., D1–D6; 130% of daily energy requirement), with either normal sleep (8 h SO time) or sleep restriction (4 h SO time), in a randomized, crossover design. At baseline and after both interventions, participants performed a quantification of IHCL concentrations by ^1H -MRS, a metabolic challenge, and a PSG (A). The metabolic challenge (B) included an overnight metabolic evaluation (i.e., 1830–0630), followed by a dual intravenous $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -, oral ^{13}C -labeled glucose tolerance test (i.e., 0800–1200). Briefly, participants received at 1900 a standardized meal, covering 30% of their calculated daily energy requirement (white arrow). Blood samples were collected at 2-h intervals from 1830 to 0630 for the determination of night-time profiles of plasma metabolites and hormones (black arrows). The light was turned off from 2230 to 0630 (8 h SO time during the baseline evaluations and the overfeeding + normal sleep condition) or from 0200 to 0600 (4 h SO time) in the overfeeding + sleep restriction condition. At 0430, a primed (2 mg/kg), continuous ($0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) infusion of $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose was started. From 0720 to 0800, breath and blood samples were collected for the measurement of baseline breath $^{13}\text{CO}_2$ isotopic natural abundance, as well as fasting plasma substrate concentrations and isotopic enrichments. In parallel, respiratory exchange measurements (indirect calorimetry; black rectangles) were also performed for the assessment of resting energy expenditure and fasting substrate oxidation rates. At 0800, the perfusion rate of $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose was raised to $0.03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and subjects ingested 75 g of glucose labeled with 0.5% [$^{13}\text{C}_6$]glucose, dissolved in 300 mL water (striped arrow). The parameters of glucose metabolism were investigated over 4 h by the repeated collection of blood and breath samples (0815, 0830, 0900, 0930, 1000, 1100, and 1200), and by the continuous monitoring of respiratory gas exchanges. D, experimental day; IHCL, intrahepatocellular lipid; PSG, polysomnography; SO, sleep opportunity; ^1H -MRS, proton magnetic resonance spectroscopy.

D5–D6). Throughout the 6-d intervention period, overfeeding was achieved by adding the daily consumption of 2 drinks, providing a total of 30% extra energy, to regular meals. Each drink contained 7.5% energy requirement as sucrose (Hänseler AG) and 7.5% as fat (provided by a mixture of commercial products including fresh full cream, soy cream, and soy milk), and was consumed at snack times (i.e., at 1000 and 1500). The composition of the drinks was calculated for each volunteer by a research nutritionist, and was prepared by the investigators involved in the metabolic investigations. The overall composition of the overfeeding diet (solid diet + supplementary drinks) was 54% carbohydrate (35% as starch and 19% as sugar), 35% lipids, and 12% proteins (Table 1).

Intervention: sleep restriction

The overfeeding protocol was accompanied by either normal sleep (8 h of SO, from 2230 to 0630; the overfeeding + normal sleep condition) or sleep restriction (4 h of SO, from 0200 to 0600; the overfeeding + sleep restriction condition). More specifically, the first 2 experimental nights were spent at home. On the following 3 nights, subjects reported to the Center

for Investigation and Research in Sleep, Lausanne University Hospital, where they slept under supervision. During both conditions, subjects had to refrain from any structured physical activity. Daytime naps were not allowed. Compliance with the prescribed sleeping pattern and physical activity was objectively controlled throughout both interventions by continuous sleep-wake cycle recording by wrist actigraphy (Actiwatch, Cambridge Technology).

Metabolic challenge

Description of the metabolic challenge is illustrated in Figure 1B. Subjects reported to the Clinical Research Center of Lausanne University Hospital at 1800. Upon arrival, volunteers were settled into a bed. A first catheter was then inserted into a vein of the right forearm for repeated collection of blood samples. The catheter was kept patent by continuous infusion of a saline solution. To achieve partial arterialization of venous blood, this hand was placed under a heating pad (Solis). A second catheter was inserted into a vein of the left forearm for infusion of $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose (Cambridge Isotope Laboratories). From 1830 to 0630, blood samples were collected at 2-h intervals for

TABLE 1 Nutrient content of the weight-maintenance and the high-sucrose, high-fat overfeeding diets¹

	Weight-maintenance diet	Overfeeding diet
Energy, kcal	2333 ± 80	3033 ± 102
Carbohydrate, kcal	1282 ± 43	1629 ± 54
Starch, ² kcal	1048 ± 36	1048 ± 36
Dietary sugar, ³ kcal	234 ± 7	234 ± 7
Sucrose, ⁴ kcal	—	347 ± 11
Lipids, kcal	700 ± 24	1053 ± 36
Dietary saturated fatty acids, ⁵ kcal	300 ± 12	300 ± 12
Dietary unsaturated fatty acids, ⁵ kcal	401 ± 13	401 ± 13
Added saturated fatty acids, ⁶ kcal	—	132 ± 4
Added unsaturated fatty acids, ⁶ kcal	—	220 ± 7
Protein, ⁷ kcal	350 ± 12	350 ± 12
Fiber, ⁸ g	36 ± 3	36 ± 3

¹Data are expressed as means ± SEMs and are based on $n = 10$ volunteers.

²For example, bread, pasta, whole-grain rice cake, whole-grain cereals.

³For example, jam, fiber-rich fruit bar.

⁴Drinks.

⁵For example, olive oil, butter, cheese.

⁶Drinks: fresh full cream, soy cream, soy milk.

⁷For example, dried meat, cheese.

⁸For example, fiber-rich fruit bar, fiber crispy bread, whole-grain cereals.

the determination of night-time profiles of plasma metabolites and hormones. At 1900, participants received a standardized meal, covering 30% of their calculated daily energy requirement (containing 55% carbohydrates, 30% lipids, and 15% proteins). The light was progressively dimmed and then turned off from 2230 to 0630 (8 h of SO; baseline evaluations and the overfeeding + normal sleep condition) or from 0200 to 0600 (the overfeeding + sleep restriction condition). Free time before sleep was spent watching television, computer working, or talking with other research participants and staff. The subjects were asked to stop all activities 30 min prior to the scheduled bedtime. The investigators were present throughout each metabolic assessment to ensure that the protocol was properly followed. At 0430, a primed (2 mg/kg), continuous (0.02 mg · kg⁻¹ · min⁻¹) infusion of [6,6-²H₂]-glucose (10 mg/mL) was started. Upon awakening, volunteers were asked to void. They were then weighed (Seca 708, Seca GmbH) and their body composition was measured by bioelectrical impedance (Biacorpus RX 400, Medi Cal HealthCare GmbH). At 0720, 4 expired air samples were collected for the measurement of baseline breath ¹³CO₂ isotopic natural abundance. Three blood samples were then drawn at 0730, 0745, and 0800 for determination of fasting metabolites, hormones, [6,6-²H₂]-glucose isotopic enrichment, and the natural ¹³C abundance of plasma glucose. Resting energy expenditure and fasting substrate oxidation rates were assessed over 40 min from respiratory gas exchanges, monitored by open-circuit indirect calorimetry (Cosmed Quark RMR, Cosmed). Starting at 0800, a 4-h OGTT with dual glucose isotopes was performed to assess fasting and postprandial endogenous glucose production and the metabolic fate of exogenous glucose. Subjects ingested 75 g of glucose labeled with 0.5% [U-¹³C₆]-glucose (Cambridge Isotope Laboratories), and dissolved in 300 mL water. To account for the increase in whole-body glucose turnover, the perfusion rate of [6,6-²H₂]-glucose was raised to 0.03 mg · kg⁻¹ · min⁻¹ from 0800 until 1200. Blood and breath samples were

collected at 15, 30, 60, 90, 120, 180, and 240 min following glucose ingestion. Throughout the 240-min glucose challenge period, respiratory gas exchanges were continuously monitored by indirect calorimetry. Urine was collected throughout the metabolic investigation to quantify the urea nitrogen excretion rate.

At the end of the metabolic evaluation, subjects received a standardized lunch (35% daily energy requirements, with 55% as carbohydrates, 30% lipids, and 15% proteins) and then transferred to Bern University Hospital by public transportation for the assessment of IHCLs by ¹H-MRS. All IHCL assessments were performed between 1500 and 1700, but at exactly the same time for the 2 visits of each subject. In the postintervention period, subjects received their last high-sucrose, high-fat drink 1 h before the measurement of IHCL concentrations.

¹H-MRS

IHCL concentration was determined by ¹H-MRS on a clinical 3-T MR system (TIM Trio, Siemens Medical) through the use of a method that closely matches the one described in the supplemental text of Bucher et al. (27). In short, magnetic resonance spectra from a region of interest of 25 × 25 × 30 mm³ were localized with a short echo time-stimulated echo acquisition mode sequence (echo time 13 ms, middle time 15 ms, repetition time ~5 s depending on the respiratory rate) preceded by a navigator part (Siemens' 2D "prospective acquisition correction" module) that timed signal acquisition to occur in expiration based on the position of the diaphragm. Radiofrequency field strength was calibrated for the specific region of interest in expiration and optimization of field homogeneity was also performed in breath hold (28). Water-suppressed (24 acquisitions) and nonwater-suppressed (16 acquisitions) spectra were acquired with all acquisitions frequency aligned in postprocessing to

minimize effects of residual motion and thus improve linewidths. The medians of the water-suppressed and nonwater-suppressed spectra were fitted in FiTAID (29) with the use of prior knowledge constraints. The quantification of IHCLs was based on the total signal of water and lipids from the same region of interest. The transverse relaxation time T_2 of hepatic water needed for relaxation correction was determined from separate scans obtained in a single breath hold in expiration (5 spectra with echo times of 13, 20, 30, 50, and 75 ms, and a repetition time of 1500 ms). This relaxation time turned out to be independent of the intervention conditions and the same subject-specific T_2 value was used for all spectra from the same subject based on the median value determined from the 4 measurements in each subject. Absolute quantification of IHCLs was further based on assumptions on hepatic water content and fat composition, as described earlier (30).

Analytic procedures

Arterialized venous blood was collected on lithium heparin for measurement of isotopic enrichments and with EDTA-coated tubes for measurement of glucose, lactate, FFAs, TGs, insulin, and cortisol. After blood collection, samples were immediately centrifuged at 4°C for 10 min at $3600 \times g$ to separate plasma from blood. Plasma aliquots were then stored at -20°C until analysis. Plasma glucose, lactate, FFA, TG, and urinary nitrogen concentrations were measured by enzymatic methods (RX Monza, Randox Laboratories Ltd), and plasma insulin and cortisol concentrations were measured by radioimmunoassay kits (Merck Millipore).

Breath $^{13}\text{CO}_2$ isotopic enrichments were determined by isotope-ratio mass spectrometry (SerCon Ltd, Crewe, United Kingdom). Plasma $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ - and $[^{13}\text{C}_6]$ -glucose isotopic enrichments were measured by gas chromatography-mass spectrometry (Hewlett-Packard Instruments), in chemical ionization mode with selective monitoring of mass-to-charge ratios (m/z) 337, 333, and 331. For technical reasons, plasma samples for $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose isotopic enrichments were not available for 2 volunteers. For this reason, the parameters relating to glucose metabolism during the OGTT are based on $n = 8$ subjects [expected exogenous glucose oxidation ($n = 10$ subjects), which is independent from plasma $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose isotopic enrichments].

PSG

PSG was performed in order to rule out sleep disorders during the screening visit, and to investigate the redistribution of sleep architecture with sleep restriction. Subjects were equipped with a PSG recorder (Titanium, Embla Flaga) between 1700 and 2000 at the Center for Investigation and Research in Sleep, Lausanne University Hospital. The screening night took place in the patient's home environment, and sleep recordings during the experimental period took place in the sleep laboratory under continuous surveillance, following the American Academy of Sleep Medicine 2007 recommended setup specifications (31). Breathing was recorded with the use of nasal pressure sensors. A trained sleep technician scored the PSG recordings manually with the use of Somnologica software version 5.1.1 (Embla Flaga). Each recording was reviewed by an expert sleep physician

(JH-R). Sleep stages and arousals were scored according to the American Academy of Sleep Medicine 2007 recommendations (31), and the total sleep time (TST), and the time spent in the different sleep stages [i.e., stage 1, stage 2, slow-wave sleep (SWS) stage and rapid-eye movement (REM) sleep] were obtained.

Calculations

The rates of net substrate oxidations and energy expenditure were evaluated from respiratory gas exchanges. The rates of appearance and disappearance of total glucose was calculated from plasma $[6,6\text{-}^2\text{H}_2]$ -glucose isotopic enrichments according to Steele's equations for nonsteady-state conditions, as adapted by DeBodo et al. (32). The metabolic clearance rate of glucose was calculated by dividing the rate of disappearance of total glucose by plasma glucose concentration. The systemic rates of exogenous $[^{13}\text{C}_6]$ -glucose appearance and endogenous glucose production (EGP) were calculated as initially established in rats (33), and adapted for stable isotopes in humans (34). Exogenous glucose oxidation was estimated as previously described (34). The suppression of EGP was calculated by dividing the rate of EGP following the glucose load by its fasting value (i.e., time 0) and was used as an index of hepatic insulin sensitivity. Changes in metabolic responses were assessed by calculating the area under the curve according to the trapezoidal rule; this was performed over 720 min for the overnight assessment (i.e., 1830–0630), and over 240 min after glucose ingestion (i.e., 0800–1200).

Statistical analysis

The sequence of treatment allocation was determined by random generation of blocks with Microsoft Excel software (Microsoft Corp., Redmond, WA). The primary outcome was IHCL concentration. Previous data from our laboratory showed that a 6- to 7-d overfeeding diet can significantly increase the amounts of IHCLs (2), especially when fructose and fat are combined (4). By assuming the same effect size in IHCL accumulation after overfeeding, a sample size of 10 volunteers was required ($1 - \beta$: 90%; $\alpha = 0.05$). Prior to analysis, the normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. When necessary, variables were normalized through the use of the Box-Cox transformation [$^1\text{H-MRS}$: IHCL ($\lambda = -0.34$); night-time metabolic parameters: TG ($\lambda = -0.59$), FFA ($\lambda = -0.26$), lactate ($\lambda = -0.95$), cortisol ($\lambda = -0.63$); fasting parameters: insulin ($\lambda = -1.99$), TG ($\lambda = -0.75$); OGTT: lactate ($\lambda = -1.27$), TG ($\lambda = -0.51$), suppression of EGP ($\lambda = 1.84$); PSG: stage 1 ($\lambda = 0.30$)]. Baselines were compared by Student's paired t tests (2-tailed). All baseline comparisons were similar ($P > 0.05$), except for resting heart rate ($P = 0.046$) and stage 2 sleep ($P = 0.016$). The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$), and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of mixed-model analysis, with overfeeding and sleep as fixed effects and subject-specific intercepts and slopes as random effects. Baseline values for resting heart rate and stage 2 sleep were incorporated into their respective models, because they were significantly different between both conditions ($P < 0.05$). Furthermore, the effects of

TABLE 2 Clinical characteristics after a 3-d weight-maintenance diet and after a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO) or sleep restriction (4 h SO)¹

	Weight maintenance	Overfeeding + normal sleep	Weight maintenance	Overfeeding + sleep restriction	<i>P</i>	
					Overfeeding	Overfeeding × sleep
Weight, kg	63.7 ± 2.5	64.4 ± 2.5	64.2 ± 2.4	64.7 ± 2.5	0.050	0.626
Fat mass, %	14.1 ± 1.7	13.6 ± 1.9	14.9 ± 1.5	14.4 ± 1.8	0.713	0.518
Systolic blood pressure, mm Hg	114 ± 3	115 ± 3	114 ± 3	114 ± 5	0.906	0.723
Diastolic blood pressure, mm Hg	70 ± 2	68 ± 3	66 ± 3	71 ± 4	0.454	0.113
Resting heart rate, beats/min	68 ± 3	74 ± 3	73 ± 4	70 ± 4	0.731	0.423

¹Values are means ± SEMs. For all variables, $n = 10$ volunteers. The normality and homoscedasticity of the data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. No transformations were necessary for statistical analyses. The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$), and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$), were investigated by the use of mixed models. $P < 0.05$ was considered as statistically significant. SO, sleep opportunity.

sex, order body weight change, and washout period were initially incorporated into each model, and were removed as soon as they did not improve the goodness of fit. Post-hoc paired t tests (2-tailed) were performed when $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$ values were found to be significant. Statistical analyses were performed with R software version 3.3.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All values are expressed as means ± SEMs. Differences were considered as significant when P values were < 0.05 .

Results

The experimental protocol was carried out between March 2014 and December 2015. All participants declared having carefully followed the dietary and sleep instructions, as specified in the protocol. Sleep compliance was confirmed by actigraphy data analysis, with 367 ± 29 min as the mean daily rest time with

normal sleep, and 220 ± 5 min with sleep restriction (Student's paired t test, $P = 0.001$).

Clinical characteristics

Body weight, body fat mass, blood pressure, and resting heart rate during the weight-maintenance diet and after both interventions are presented in **Table 2**. Overall, body weight was significantly increased by 0.6 ± 0.1 kg after the 6-d overfeeding intervention. However, body composition, blood pressure, and resting heart rate did not change significantly (all $P = \text{NS}$).

IHCL concentrations

Overfeeding caused a marked increase in IHCL concentrations (**Figure 2**). However, sleep restriction did not exacerbate the

TABLE 3 Impact of a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO) or sleep restriction (4 h SO) on the parameters of glucose metabolism following the ingestion of a 75-g oral glucose load¹

	Weight maintenance	Overfeeding + normal sleep	Weight maintenance	Overfeeding + sleep restriction	<i>P</i>	
					Overfeeding	Overfeeding × Sleep
Total glucose appearance (g over 240 min, $n = 8$)	69.6 ± 3.6	75.2 ± 3.8	69.6 ± 2.6	72.0 ± 2.6	0.003	0.191
Exogenous glucose appearance (g over 240 min, $n = 8$)	58.8 ± 3.7	60.3 ± 3.5	58.6 ± 2.1	58.7 ± 1.8	0.689	0.693
EGP (g over 240 min, $n = 8$)	10.8 ± 0.9	14.9 ± 2.5	10.9 ± 1.1	13.3 ± 1.0	0.034	0.567
Suppression of EGP (%), $n = 8$)	-75 ± 2	-70 ± 4	-74 ± 2	-69 ± 3	0.006	0.793
Total glucose disappearance (g over 240 min, $n = 8$)	67.0 ± 3.7	72.0 ± 4.2	68.1 ± 2.7	72.2 ± 2.5	0.012	0.789
Exogenous glucose oxidation (g over 240, $n = 10$)	24.3 ± 0.6	26.4 ± 0.9	24.9 ± 1.0	25.2 ± 0.8	0.038	0.118
Glucose clearance (L/min, $n = 8$)	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.32 ± 0.04	0.144	0.188

¹Values are means ± SEMs. For technical reasons, plasma samples for [6,6-²H₂]-glucose isotopic enrichments were not available for 2 volunteers. For this reason, the parameters relating to glucose metabolism during the oral-glucose-tolerance test are based on $n = 8$ subjects [expected exogenous glucose oxidation ($n = 10$ subjects), which is independent from plasma [6,6-²H₂]-glucose isotopic enrichments]. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analyses, the Box-Cox transformation was applied to the suppression of EGP ($\lambda = 1.84$). The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$), and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of mixed models. $P < 0.05$ was considered as statistically significant. EGP, endogenous glucose production; SO, sleep opportunity.

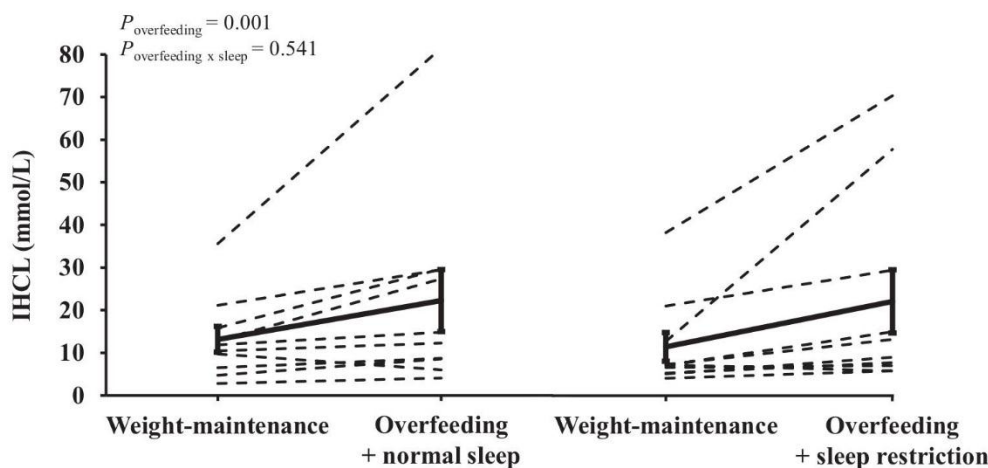


FIGURE 2 Individual (dashed lines) and mean \pm SEM (solid lines) changes in IHCL concentrations after a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO) or sleep restriction (4 h SO). For each condition, $n = 10$ volunteers. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analysis, IHCL concentration was transformed by the use of the Box-Cox transformation ($\lambda = -0.34$). The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$) and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of a mixed model. $P < 0.05$ was considered as statistically significant. IHCL, intrahepatocellular lipid; SO, sleep opportunity.

increased IHCL concentrations induced by overfeeding. Compared with the weight-maintenance diet, IHCL concentrations were significantly increased by $53\% \pm 16\%$ in overfeeding + normal sleep (from 13.2 ± 3.0 to 22.2 ± 7.3 mmol/L) and by $83\% \pm 33\%$ in overfeeding + sleep restriction (from 11.2 ± 3.3 to 21.6 ± 7.2 mmol/L; $P_{\text{overfeeding}} < 0.001$; $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.541$). Results were not altered when the statistical analysis was redone after removing one outlier ($P_{\text{overfeeding}} = 0.003$; $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.503$).

Night-time metabolic parameters

Night-time profiles of plasma insulin, lactate, FFA, TG, and cortisol concentrations are illustrated in **Figure 3**. Overfeeding did not change plasma insulin concentrations (**Figure 3A**), but significantly increased plasma lactate concentrations (**Figure 3B**). Plasma FFA concentrations increased modestly after sleep onset (**Figure 3C**). Compared with the weight-maintenance diet, the increase in plasma FFA concentrations was significantly blunted in overfeeding + normal sleep, but was preserved in overfeeding + sleep restriction. Plasma TG concentrations showed no major change throughout the night, and were not altered by overfeeding + normal sleep (**Figure 3D**). However, plasma TG concentrations were significantly decreased after overfeeding + sleep restriction. Plasma cortisol concentrations slightly decreased over time, reaching their nadir around 0030, and then exponentially increased until the end of the night (**Figure 3E**). Sleep restriction did not alter plasma cortisol concentrations.

Fasting parameters

Fasting parameters at 0800 (i.e., the last time point before OGTT) are given in **Supplemental Table 1**. Overfeeding significantly increased fasting plasma insulin and lactate concentrations, and significantly decreased fasting plasma FFA concentrations. It did not alter fasting plasma glucose and TG

concentrations, or endogenous glucose production. Basal energy expenditure and lipid oxidation rates were not changed, but basal carbohydrate oxidation rates were significantly higher after overfeeding. None of the fasting parameters were differently altered with sleep restriction (all $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = \text{NS}$).

OGTT

The kinetics of plasma glucose, insulin, lactate, FFA, and TG concentrations during the OGTT are illustrated in **Figure 4**. After the ingestion of the glucose load, plasma glucose, insulin, and lactate concentrations peaked (**Figure 4A–C**) within the first hour, whereas plasma FFA concentrations were markedly suppressed (**Figure 4D**). Plasma TG concentrations remained stable throughout the test (**Figure 4E**). Overfeeding significantly increased plasma lactate concentrations during the OGTT and significantly decreased plasma glucose and FFA concentrations. However, it did not change plasma insulin and TG concentrations. Overfeeding significantly increased net carbohydrate oxidation after the glucose load (overfeeding + normal sleep, from 35.2 ± 2.2 to 40.7 ± 2.4 g; overfeeding + sleep restriction, from 37.3 ± 1.6 to 41.3 ± 1.9 g over 240 min; $P_{\text{overfeeding}} = 0.002$; data not shown), whereas no change was observed in both net lipid oxidation (overfeeding + normal sleep, from 9.0 ± 1.2 to 7.9 ± 0.8 g; overfeeding + sleep restriction, from 8.3 ± 1.0 to 8.7 ± 0.5 g over 240 min; $P_{\text{overfeeding}} = 0.618$; data not shown) and energy expenditure (overfeeding + normal sleep, from 271 ± 10 to 274 ± 11 kcal; overfeeding + sleep restriction, from 270 ± 10 to 275 ± 11 kcal over 240 min; $P_{\text{overfeeding}} = 0.173$; data not shown).

The parameters related to glucose metabolism in response to the ^{13}C -labeled glucose challenge are depicted in **Table 3**. Overall, overfeeding significantly increased total glucose appearance. No change was observed on exogenous glucose appearance after overfeeding, whereas EGP was significantly increased. Moreover, the suppression of EGP was significantly altered by overfeeding, suggesting impaired hepatic insulin

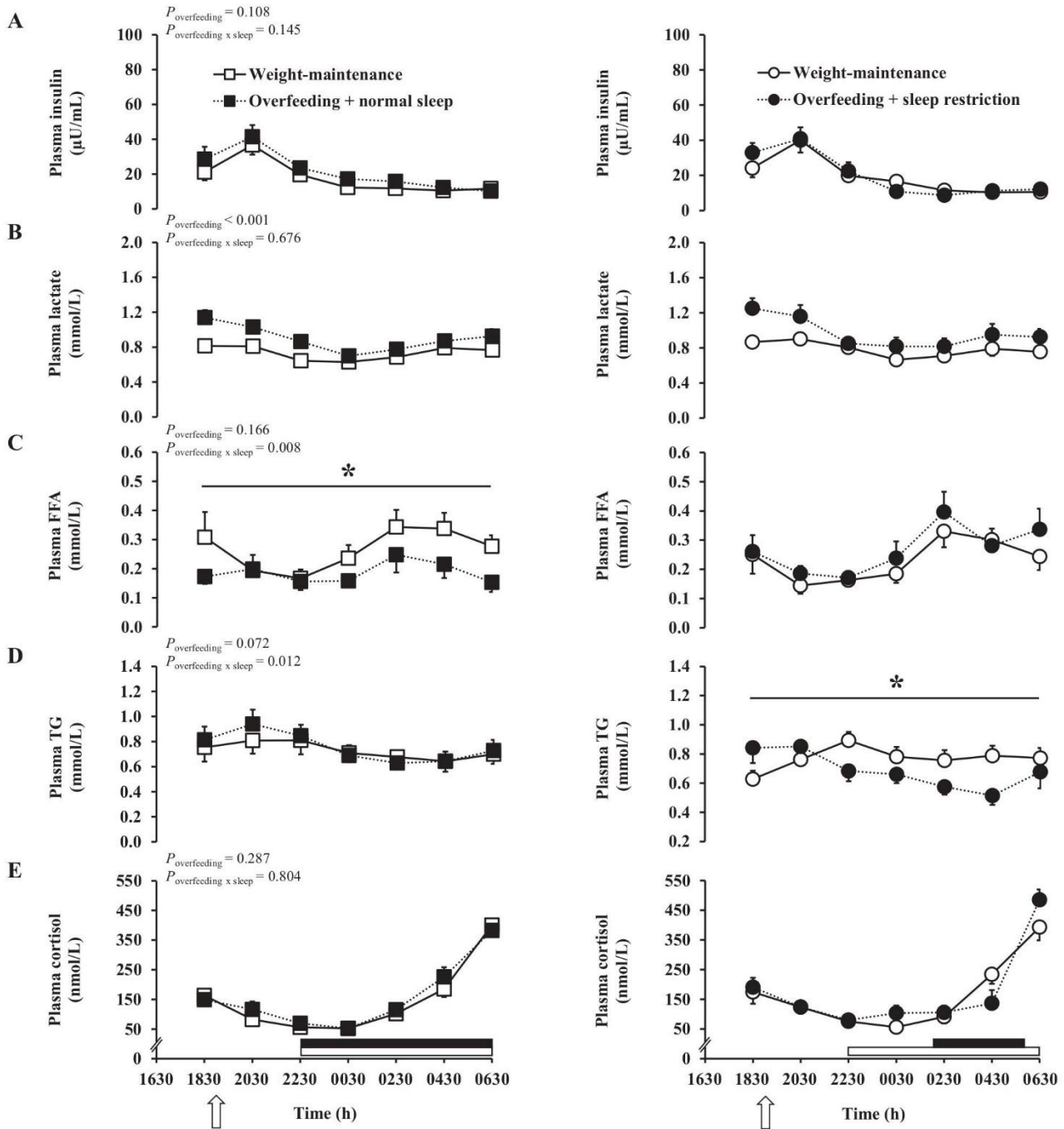


FIGURE 3 Mean \pm SEM changes in night-time plasma insulin (A), lactate (B), FFA (C), TG (D), and cortisol (E) concentrations after a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO; left panels) or sleep restriction (4 h SO; right panels). For all variables, $n = 10$ volunteers. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analyses, the Box-Cox transformation was applied to night-time plasma TG ($\lambda = -0.59$), FFA ($\lambda = -0.26$), lactate ($\lambda = -0.95$), and cortisol ($\lambda = -0.63$) concentrations. The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$) and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of mixed models. Post-hoc paired t tests (2-tailed) were performed when $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$ were < 0.05 (i.e., night-time plasma FFA and TG concentrations). Compared with the weight-maintenance diet, plasma FFA concentrations were significantly blunted in overfeeding + normal sleep ($P = 0.017$) but were preserved in overfeeding + sleep restriction ($P = 0.209$). Plasma TG concentrations were not altered by overfeeding + normal sleep ($P = 0.332$) but were significantly decreased after overfeeding + sleep restriction ($P = 0.011$). * $P < 0.05$ compared with the weight-maintenance diet. White arrow: ingestion of a standardized meal at 1900; white rectangles: SO time at baseline (8 h, from 2230 to 0630); black rectangles: SO time during overfeeding + normal sleep (8 h, from 2230 to 0630; left panels) or overfeeding + sleep restriction (4 h, from 0200 to 0600; right panels). FFA, free-fatty acid; SO, sleep opportunity; TG, triglyceride.

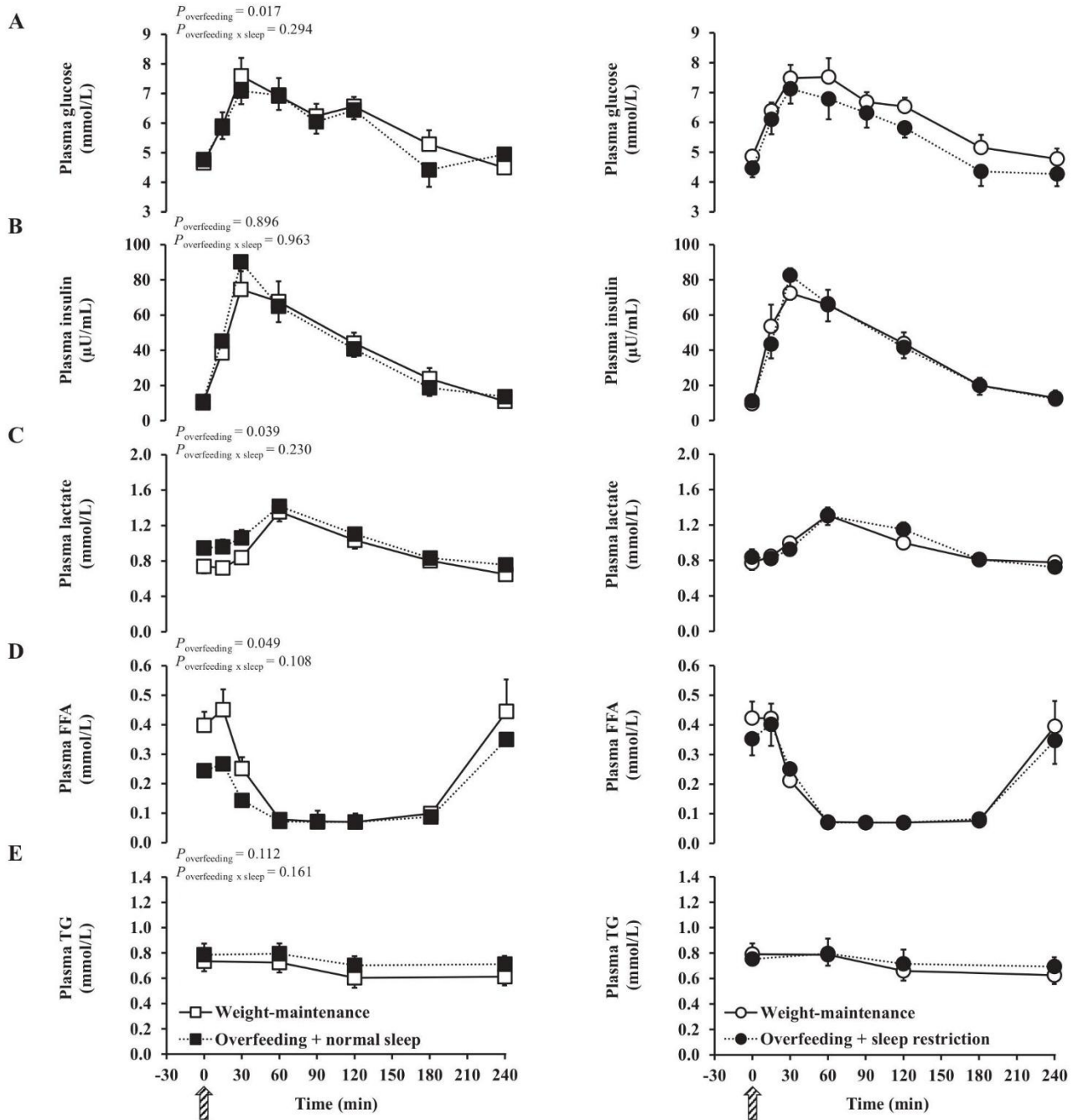


FIGURE 4 Mean \pm SEM changes in plasma glucose (A), insulin (B), lactate (C), FFA (D), and TG (E) concentrations during a 75-g oral-glucose-tolerance test after a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO; left panels) or sleep restriction (4 h SO; right panels). For all variables, $n = 10$ volunteers. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analyses, the Box-Cox transformation was applied to plasma lactate ($\lambda = -1.27$) and TG ($\lambda = -0.51$) concentrations. The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$) and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of mixed models. $P < 0.05$ was considered as statistically significant. Striped arrow: ingestion of 75 g of glucose labelled with 0.5% [$U\text{-}^{13}\text{C}_6$]-glucose, and dissolved in 300 mL water. FFA, free-fatty acid; SO, sleep opportunity; TG, triglyceride.

sensitivity. Overfeeding significantly increased total glucose disappearance and exogenous glucose oxidation, but did not change glucose clearance. All the parameters evaluated during OGTT were not significantly changed by sleep restriction (all $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = \text{NS}$).

Polysomnographic recording

TST and stage 1, stage 2, SWS and REM sleep are shown in **Figure 5**. After overfeeding + normal sleep, no change was observed regarding TST, and time spent in each of the sleep stages (all $P = \text{NS}$). In contrast, TST was significantly reduced with

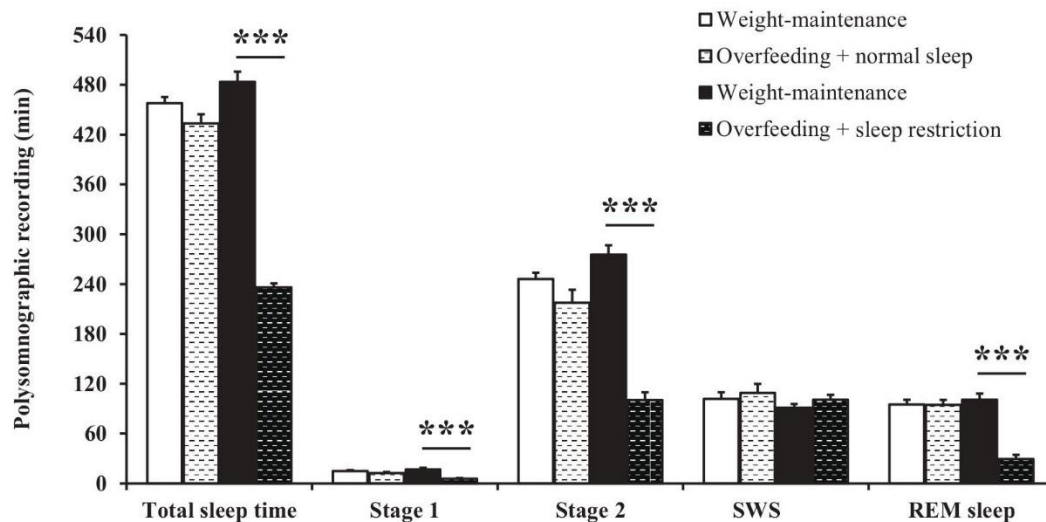


FIGURE 5 Mean \pm SEM changes in total sleep time and sleep stage durations after a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding period with normal sleep (8 h SO) or sleep restriction (4 h SO). For all variables, $n = 10$ volunteers. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected visually and checked by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analyses, the Box-Cox transformation was applied to stage 1 ($\lambda = 0.30$). The significant effect of overfeeding ($P_{\text{overfeeding}}$) and its interaction with SO time ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}}$) were investigated by the use of mixed models. Post-hoc paired t tests (2-tailed) were performed when $P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} < 0.05$ (i.e., total sleep time, stage 1, stage 2, and REM sleep, all $P < 0.001$; SWS, $P = 0.809$). *** $P < 0.001$, post-hoc paired t tests (2-tailed). REM, rapid eye movement; SO, sleep opportunity; SWS, slow-wave sleep.

overfeeding + sleep restriction. It was associated with reduced time spent in stage 1, stage 2, and REM sleep, whereas time spent in SWS remained unaffected ($P_{\text{overfeeding} \times \text{sleep}} = 0.809$).

Discussion

The purpose of this study was to investigate whether sleep restriction would exacerbate the adverse metabolic effects induced by overfeeding. To test this hypothesis, we exposed healthy volunteers to either 8 or 4 h of SO time during a 6-d high-sucrose, high-fat overfeeding. IHCL concentration was selected as a primary outcome because it is considered to be an early and sensitive marker of metabolic dysfunction (24). As expected, our results showed that overfeeding significantly increased IHCL concentration. However, this effect of overfeeding was not significantly altered by sleep restriction.

Metabolic effects of overfeeding

Our short-term mixed overfeeding significantly increased IHCL concentration by $+53\% \pm 16\%$ compared with the baseline weight-maintenance diet. This is consistent with other studies that report significant IHCL concentration increases with 30% excess energy as fructose (2, 4) or fat (2, 35). It was, however, not associated with an increase in fasting plasma TG concentrations as observed with fructose overfeeding (36). This may be due to the fact that the ~ 45 -g total daily fructose intake used in our overfeeding protocol remained below the threshold 50-g/d value above which postprandial hypertriglyceridemia occurs (37). In addition, fructose and fat overfeeding may have additive effects on IHCL concentration, but opposite effects on fasting plasma TG concentration (4), which may account for divergent net effects of our mixed overfeeding on IHCL and plasma TG concentrations. Overfeeding also significantly increased fasting

insulin concentrations and EGP during an OGTT, indicating that hepatic insulin sensitivity was impaired. This result is in accordance with several reports documenting the occurrence of impaired hepatic insulin sensitivity early after exposure to hypercaloric, high-fructose diets (2, 36, 38). Overfeeding also significantly decreased fasting FFA concentrations, as previously reported after short-term hypercaloric diets enriched with simple sugars (3) and fat (39). These effects are concomitant with increased adipose expression of key genes involved in fatty acid synthesis [e.g., sterol regulatory element binding protein-1c (*SREBP-1c*), fatty acid synthase (*FAS*), acetyl-CoA carboxylase (*ACC*)] and TG synthesis [e.g., long-chain acyl-CoA synthetase (*ACSL*), diacylglycerol acyltransferase (*DGAT2*)], whereas genes involved in lipolysis and lipid oxidation pathways remained either unchanged (35, 40, 41) or decreased over time (39). In addition, overfeeding slightly decreased plasma glucose responses and increased exogenous glucose oxidation during OGTT. This occurred independently of any change in plasma insulin, and most likely reflects an upregulation of genes involved in glucose transport and in modifying intracellular glucose metabolism (40, 42).

Effects of sleep restriction on metabolic responses to overfeeding

Sleep restriction did not significantly alter the effects of overfeeding on IHCL and diurnal plasma TG concentrations. It also did not alter the effects of overfeeding on fasting and post-prandial EGP, or on plasma glucose and insulin concentrations. These observations strongly argue against our hypothesis that sleep restriction would increase the cardiometabolic risk associated with a short-term overfeeding. This appears at odds with other studies that have demonstrated that sleep restriction impaired glucose tolerance (7, 8) or decreased whole-body

insulin sensitivity (8, 9). The maintenance of the SWS duration in our sleep-restriction protocol may have contributed to the preservation of glucose homeostasis. Experimental studies have indeed demonstrated that glucose tolerance and insulin sensitivity can be drastically impaired by a selective suppression of SWS stage by acoustic stimuli, independently of any change in total sleep time (43, 44). In contradiction with this explanation, however, the aforementioned studies reported that sleep restriction impaired glucose tolerance or decreased whole-body insulin sensitivity, and sometimes caused both effects independently of any change in SWS (7–9). Another explanation may be that our experimental protocol involved an overfeeding, whereas most studies used weight-maintenance diets. One other study performed in subjects during a period of positive energy balance reported that sleep restriction induced a modest 5% increase in the area under the glucose curve in response to an OGTT, but no increase in insulin responses (45). Chronic overconsumption of carbohydrate or fat is associated with an upregulation of many pathways involved in glucose and fat utilization in insulin-sensitive cells, and it is therefore possible that the adverse effects of sleep restriction on glucose tolerance were hidden by the more powerful effects of overfeeding to promote energy substrate use. Discrepancies may also be related to differences in the methods used to assess glucose homeostasis (e.g., OGTT compared with clamp studies).

We had hypothesized that sleep restriction would act as a stressor, and hence expected to observe signs of an activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and of the SNS. We observed, however, no change in night-time cortisol concentrations after sleep restriction. Although we did not measure plasma catecholamine concentrations, no change in heart rate and blood pressure were observed. Therefore, our data do not provide any direct or indirect evidence that sleep restriction elicited substantial stress responses. One study that used a similar protocol had already reached the same conclusions (46), and other studies have succeeded in documenting significant stress responses (7–9, 16). The reasons for these discrepancies remain unclear, but may possibly be related to differences in the protocols used for sleep restriction or the methods used to assess stress responses.

In this study, sleep restriction induced a significant decrease in night-time TG concentration and blunted the decrease in night-time FFA concentrations. An increase in night-time FFA concentrations after sleep restriction had already been reported by others (16). The mechanism responsible for this effect cannot be identified in our present data. It is possible that sleep restriction elicited low-grade stress responses, or stress responses specifically targeted at adipose tissue, which eluded our crude evaluation based on heart rate, blood pressure, and plasma cortisol concentrations. Alternatively, the maintenance of night-time FFA concentrations may merely be due to the higher night-time metabolic rate associated with sleep restriction. An elevation of 24-h energy expenditure was indeed reported during sleep-restriction periods, in part due to the longer time spent awake (20). Whatever the explanation, the maintenance of night-time FFA release was not associated with a significant increase in IHCL concentration.

Limitations

Our protocol presents several limitations that need to be mentioned. First, we investigated the effects of sleep restriction

associated with an overfeeding intervention. However, we did not assess the effects of sleep restriction alone (i.e., during a weight-maintenance diet). Second, the duration of overfeeding was short, and it is possible that a longer duration would have been required to elicit a significant stress response and cause whole-body insulin resistance. Third, our protocol was performed under free-living conditions, and we cannot exclude that the effects of sleep restriction may have been mitigated by changes in daily physical activity and energy expenditure (20). Fourth, we did not measure visceral fat mass, which is an important determinant of cardiometabolic risk. Finally, this protocol was performed in healthy volunteers, and our results cannot be extrapolated to subjects with sleep disorders, such as sleep apnoea syndrome, which is associated with reduced SWS and recurrent episodes of intermittent hypoxia, and may stimulate stress responses (47).

Conclusions

Our findings indicate that a short-term, high-sucrose, high-fat overfeeding significantly increased IHCL concentration and impaired hepatic insulin sensitivity, whereas glucose tolerance remained unaffected. These effects of overfeeding were not, however, potentiated by sleep restriction.

The authors' contributions were as follows—VL, LT, LE, JH-R, and RH: designed the study; VL: generated the random generation of blocks; JC and VL: assigned subjects to interventions; BP, RK, and CB: performed MR scanner measurements, IHCL quantification, and interpretations; JC, VL, EP, RR, LE, and PS: recruited subjects and performed metabolic tests; FC, JH-R, and RH: performed actigraphy and polysomnographic recordings and interpretations; JC and RR: analyzed the data and performed statistical analysis; JC, LT, and VL: wrote the manuscript; VL: had primary responsibility for the final content; and all authors: read, commented on, and approved the manuscript. LE is currently an employee of Nestec SA. RH is member of the medical advisory board of NightBalance, and received personal fees from this company. LT has previously received research support from Soremartec Italia, Srl for research unrelated to this article, speaker fees from Nestlé AG, Switzerland, and the Gatorade Sport Science Institute, and consultant fees from Takeda Pharma. None of the other authors reported conflicts of interest related to the study.

References

- Mendoza JA, Drewnowski A, Christakis DA. Dietary energy density is associated with obesity and the metabolic syndrome in U.S. adults. *Diabetes Care* 2007;30(4):974–9.
- Lecoultre V, Egli L, Carrel G, Theytaz F, Kreis R, Schneiter P, Boss A, Zwygart K, Lê KA, Bortolotti M, et al. Effects of fructose and glucose overfeeding on hepatic insulin sensitivity and intrahepatic lipids in healthy humans. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21(4):782–5.
- Ngo Sock ET, Lê KA, Ith M, Kreis R, Boesch C, Tappy L. Effects of a short-term overfeeding with fructose or glucose in healthy young males. *Br J Nutr* 2010;103(7):939–43.
- Sobrecases H, Lê KA, Bortolotti M, Schneiter P, Ith M, Kreis R, Boesch C, Tappy L. Effects of short-term overfeeding with fructose, fat and fructose plus fat on plasma and hepatic lipids in healthy men. *Diabetes Metab* 2010;36(3):244–6.
- Spiegel K, Tasali E, Leproult R, Van Cauter E. Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk. *Nat Rev Endocrinol* 2009;5(5):253–61.
- Cappuccio FP, D'Elia L, Strazzullo P, Miller MA. Quantity and quality of sleep and incidence of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2010;33(2):414–20.
- Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999;354(9188):1435–9.

8. Buxton OM, Pavlova M, Reid EW, Wang W, Simonson DC, Adler GK. Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes* 2010;59(9):2126–33.
9. Rao MN, Neylan TC, Grunfeld C, Mulligan K, Schambelan M, Schwarz JM. Subchronic sleep restriction causes tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(4):1664–71.
10. Donga E, van Dijk M, van Dijk JG, Biermasz NR, Lammers GJ, van Kralingen KW, Corssmit EP, Romijn JA. A single night of partial sleep deprivation induces insulin resistance in multiple metabolic pathways in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(6):2963–8.
11. Hirotsu C, Tufik S, Andersen ML. Interactions between sleep, stress, and metabolism: from physiological to pathological conditions. *Sleep Sci* 2015;8(3):143–52.
12. Reutrakul S, Van Cauter E. Interactions between sleep, circadian function, and glucose metabolism: implications for risk and severity of diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2014;1311:151–73.
13. Lembo G, Capaldo B, Rendina V, Iaccarino G, Napoli R, Guida R, Trimarco B, Saccà L. Acute noradrenergic activation induces insulin resistance in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1994;266(2 Pt 1):E242–7.
14. Tappy L, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Paquot N, Scherrer U, Schneider P, Nicod P, Jéquier E. Mechanisms of dexamethasone-induced insulin resistance in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79(4):1063–9.
15. Björntorp P. The regulation of adipose tissue distribution in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20(4):291–302.
16. Broussard JL, Chapotot F, Abraham V, Day A, Delebecque F, Whitmore HR, Tasali E. Sleep restriction increases free fatty acids in healthy men. *Diabetologia* 2015;58(4):791–8.
17. Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients* 2013;5(2):498–508.
18. Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Short sleep duration preferentially increases abdominal adiposity in adults: preliminary evidence. *Clin Obes* 2011;1(4-6):141–6.
19. Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. The association between sleep duration and weight gain in adults: a 6-year prospective study from the Quebec Family Study. *Sleep* 2008;31(4):517–23.
20. Markwald RR, Melanson EL, Smith MR, Higgins J, Perreault L, Eckel RH, Wright KP. Impact of insufficient sleep on total daily energy expenditure, food intake, and weight gain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(14):5695–700.
21. Spaeth AM, Dinges DF, Goel N. Effects of experimental sleep restriction on weight gain, caloric intake, and meal timing in healthy adults. *Sleep* 2013;36(7):981–90.
22. Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 2004;141(11):846–50.
23. Nedeltcheva AV, Kilkus JM, Imperial J, Kasza K, Schoeller DA, Penev PD. Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks. *Am J Clin Nutr* 2009;89(1):126–33.
24. Fabbrini E, Magkos F. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction. *Nutrients* 2015;7(6):4995–5019.
25. Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 1989;28(2):193–213.
26. Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976;4(2):97–110.
27. Bucher J, Krüsi M, Zueger T, Ith M, Stettler C, Diem P, Boesch C, Kreis R, Christ E. The effect of a single 2 h bout of aerobic exercise on ectopic lipids in skeletal muscle, liver and the myocardium. *Diabetologia* 2014;57(5):1001–5.
28. Gruetter R, Tkáč I. Field mapping without reference scan using asymmetric echo-planar techniques. *Magn Reson Med* 2000;43(2):319–23.
29. Chong DG, Kreis R, Bolliger CS, Boesch C, Slotboom J. Two-dimensional linear-combination model fitting of magnetic resonance spectra to define the macromolecule baseline using FiTAID, a Fitting Tool for Arrays of Interrelated Datasets. *MAGMA* 2011;24(3):147–64.
30. Bortolotti M, Maiolo E, Corazza M, Van Dijke E, Schneiter P, Boss A, Carrel G, Giusti V, Lê KA, Quo Chong DG, et al. Effects of a whey protein supplementation on intrahepatocellular lipids in obese female patients. *Clin Nutr* 2011;30(4):494–8.
31. Iber C, Sonia A-I, Chesson A, Qaun SF. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications. 1st ed: Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine 2007.
32. Debedo RC, Steele R, Altszuler N, Dunn A, Bishop JS. On the hormonal regulation of carbohydrate metabolism; studies with C14 glucose. *Recent Prog Horm Res* 1963;19:445–88.
33. Proietto J, Rohner-Jeanrenaud F, Ionescu E, Terrettaz J, Sauter JF, Jeanrenaud B. Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model. *Am J Physiol* 1987;252(1 Pt 1):E77–84.
34. Schneiter P, Tappy L. Kinetics of dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy humans. *Am J Physiol* 1998;275(5 Pt 1):E806–13.
35. Bortolotti M, Kreis R, Debard C, Cariou B, Faeh D, Chetiveaux M, Ith M, Vermathen P, Stefanoni N, Lê KA, et al. High protein intake reduces intrahepatocellular lipid deposition in humans. *Am J Clin Nutr* 2009;90(4):1002–10.
36. Faeh D, Minehira K, Schwarz JM, Periasamy R, Periasami R, Park S, Seongsu P, Tappy L. Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes* 2005;54(7):1907–13.
37. Livesey G, Taylor R. Fructose consumption and consequences for glycation, plasma triacylglycerol, and body weight: meta-analyses and meta-regression models of intervention studies. *Am J Clin Nutr* 2008;88(5):1419–37.
38. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, Hatcher B, Cox CL, Dyachenko A, Zhang W, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest* 2009;119(5):1322–34.
39. Meugnier E, Bossu C, Oliel M, Jeanne S, Michaut A, Sothier M, Brozek J, Rome S, Laville M, Vidal H. Changes in gene expression in skeletal muscle in response to fat overfeeding in lean men. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15(11):2583–94.
40. Minehira K, Vega N, Vidal H, Acheson K, Tappy L. Effect of carbohydrate overfeeding on whole body macronutrient metabolism and expression of lipogenic enzymes in adipose tissue of lean and overweight humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28(10):1291–8.
41. Alligier M, Meugnier E, Debard C, Lambert-Porcheron S, Chanseau E, Sothier M, Loizon E, Hssain AA, Brozek J, Scoazec JY, et al. Subcutaneous adipose tissue remodeling during the initial phase of weight gain induced by overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(2):E183–92.
42. Seyssel K, Alligier M, Meugnier E, Chanseau E, Loizon E, Canto C, Disse E, Lambert-Porcheron S, Brozek J, Blond E, et al. Regulation of energy metabolism and mitochondrial function in skeletal muscle during lipid overfeeding in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(7):E1254–62.
43. Tasali E, Leproult R, Ehrmann DA, Van Cauter E. Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(3):1044–9.
44. Stamatakis KA, Punjabi NM. Effects of sleep fragmentation on glucose metabolism in normal subjects. *Chest* 2010;137(1):95–101.
45. Nedeltcheva AV, Kessler L, Imperial J, Penev PD. Exposure to recurrent sleep restriction in the setting of high caloric intake and physical inactivity results in increased insulin resistance and reduced glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(9):3242–50.
46. O'Keefe M, Roberts AL, Kelleman M, Roychoudhury A, St-Onge MP. No effects of short-term sleep restriction, in a controlled feeding setting, on lipid profiles in normal-weight adults. *J Sleep Res* 2013;22(6):717–20.
47. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, Mooser V, Preisig M, Malhotra A, Waeber G, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med* 2015;3(4):310–8.

**Effect of nutritive and non-nutritive sweeteners on
hemodynamic responses to stress: a randomized crossover trial
in healthy women
(*projet II*)**

1 **Effect of nutritive and non-nutritive sweeteners on hemodynamic responses to**
2 **stress: a randomized crossover trial in healthy women**

3 Jérémy Cros¹, Lucie Bidlingmeyer¹, Robin Rosset¹, Kevin Seyssel¹, Camille Crézé¹, Nathalie Stefanoni¹,
4 Philippe Schneider¹ and Luc Tappy¹

5 ¹Department of Physiology, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, Lausanne,
6 Switzerland.

7 **Corresponding Author:**

8 Prof. Luc Tappy
9 Department of Physiology, University of Lausanne
10 Rue du Bugnon 7, CH-1005 Lausanne, Switzerland
11 Phone: +41 21 692 55 41, Fax: +41 21 692 55 95, E-Mail: Luc.Tappy@unil.ch

12 **Short running head:** Effects of sweet drinks on stress responses

13 **Conflict of interest:** LT has previously received research support and speaker fees from Soremartec
14 Italia, Srl for research unrelated to this article, speaker fees from Nestlé AG, Switzerland, and the
15 Gatorade Sport Science Institute, USA, and consultant fees from Takeda Pharma, USA. All other authors
16 declare no conflict of interest.

17 **Sources of Support:** This project was funded by a research grant to Prof. Luc Tappy from Swiss National
18 Science Foundation, Bern, Switzerland (grant n°320030_169206).

19 **Abbreviations:** C, drink condition; CPT, cold pressure test; CRF, corticotropin-releasing factor; NNS,
20 non-nutritive sweetener; S, stress; S x C interaction, stress x drink condition interaction; SEM, standard
21 error of the mean; SNS, sympathetic nervous system; SVR, systemic vascular resistance; U, arbitrary
22 unit.

Effects of sweet drinks on stress responses

- 23 **Word count:** Abstract: 295; Text: 2411
- 24 **Number of tables/figures:** 1 table and 2 figures

25 **ABSTRACT**

26 **Background:** The mechanisms by which chronic stress increases the risk of non-communicable diseases
27 remain poorly understood. On one hand, chronic stress may increase systemic vascular resistance (SVR)
28 and blood pressure, which may lead to blood vessels injury and altered myocardial perfusion. On the
29 other hand, chronic stress may promote the overconsumption of sugar-containing foods and favor
30 obesity. There is indeed evidence that sweet foods are preferentially consumed to alleviate stress
31 responses. Whether this effect is mediated by sweet taste receptors activation, or involves metabolic,
32 energy-related signal within the body, remains however unknown.

33 **Objective/design:** This study aimed at comparing the effects of sucrose- and non-nutritive sweeteners
34 (NNS)-containing drinks, as compared to unsweetened water, on hemodynamic responses to stress in
35 twelve healthy female subjects. Stress responses were elicited by a 30-min mental stress and a 3-min
36 cold pressure test (CPT), each preceded by a resting baseline period. Hemodynamic parameters were
37 monitored by thoracic electrical bioimpedance measurement and SVR was selected as a primary
38 outcome. Data were analyzed using mixed-models with stress (S effect), drink condition (C effect) and
39 their interaction (S × C interaction) as explanatory factors.

40 **Results:** With all three drinks, SVR were not changed with mental stress (S effect, $P = 0.437$), but were
41 increased with CPT (S effect, $P = 0.045$). Both mental stress and CPT increased mean arterial pressure
42 and heart rate (S effect, all $P < 0.001$). Cardiac output increased with mental stress (S effect, $P < 0.001$)
43 and remained unchanged with CPT (S effect, $P = 0.252$). No significant differences in hemodynamic
44 responses were observed between water, sucrose and NNS (S × C interactions, all $P > 0.05$).

45 **Conclusions:** These results indicate that sweet taste receptors activation does not alter hemodynamic
46 responses to standardized stress protocols, irrespective of their caloric content.

47 **Keywords:** sweet taste receptors; sucrose; non-nutritive sweeteners; hemodynamic parameters;
48 systemic vascular resistance; sympathetic nervous system; mental stress; cold pressure test.

Effects of sweet drinks on stress responses

49 INTRODUCTION

50 Psychosocial stress is currently suspected to play an important role in the development of non-
51 communicable diseases (1). This is based on observations that stress can favor overconsumption of
52 energy-dense foods (2, 3) and promote visceral fat deposition (4), thus leading to the development of
53 abdominal obesity, insulin resistance and increased cardiometabolic risk (5). It has also been proposed
54 that acute hemodynamic responses to stress may be causally associated with the incidence of acute
55 myocardial ischemia (6, 7). Interestingly, sucrose consumption has been reported to reduce sympatho-
56 adrenal activation and hemodynamic responses to acute stress in rodents (8) and humans (9, 10). It has
57 further been postulated that exposure to chronic stress may trigger the consumption of sweet foods in
58 order to alleviate stress responses and their adverse acute effects (11). Such stress-induced eating
59 behavior may however be associated with a risk of energy overload and obesity (12).

60 In rats, sucrose- and non-nutritive sweeteners (NNS) consumption has been associated with a down-
61 regulation of corticotropin-releasing factor (CRF) expression in the brain (13). It was therefore proposed
62 that activation of sweet taste receptors was instrumental in this effect, likely by stimulating the release
63 of intracerebral opioid (14, 15). However, one study reported that sucrose, but not saccharin, decreased
64 intracerebral CRF secretion in adrenalectomized rats, suggesting that energy-dependent metabolic
65 effects of sucrose were also involved (16). This hypothesis was further supported by a human study
66 showing that salivary cortisol response to mental stress was decreased after a high-sucrose diet, but
67 increased after a NNS-containing diet (17).

68 The respective roles of sweet taste receptors activation and of sugar-induced, energy dependent
69 metabolic signals in modulating hemodynamic stress responses remain incompletely investigated. In
70 order to address this issue, we submitted a group of healthy women to a mental stress, which elicits
71 predominant β -adrenergic hemodynamic responses, and to a cold pressure test (CPT), which elicits
72 predominant α -adrenergic responses (18), together with repeated oral administration of sucrose- or
73 NNS-sweetened drinks or of unsweetened water.

Effects of sweet drinks on stress responses

74 **MATERIALS AND METHODS**

75 **Ethics**

76 The experimental part of this study was conducted between September 2015 and October 2016. This
77 study was performed in accordance with the 1983 revision of the Declaration of Helsinki and was
78 approved by the Human Research Ethics Committee of Canton de Vaud. All participants were fully
79 informed of the nature and risks involved by the procedures and provided informed, written consent.
80 This study was registered at *clinicaltrial.gov* as NCT02973334.

81 **Participants**

82 Eligibility, allocation, follow-up and analysis of participants are depicted in **Figure 1**. This study
83 included sixteen participants who were recruited by advertisement at local university campuses. All
84 were Caucasian females, 18 to 40 years old, with a body mass index between 18.5 and 25 kg.m⁻² and
85 used monophasic oral contraceptive agents. Exclusion criteria were blood pressure > 140/90 mmHg,
86 history or current psychological and cardiovascular disorders, anemia or history of anemia, daily
87 consumption of > 5 dL caloric and NNS sweetened-beverages, > 400 mg caffeine, > 10 g alcohol, color
88 blindness, body weight variation > 3 kg over the past 4 weeks, performing physical activity > 4 h.week⁻¹,
89 any current medical treatment, current smokers, or consumption of illicit drugs. Eligible participants
90 were invited to a familiarization visit to be exposed to the mental stress and CPT procedures, as
91 conducted during the functional evaluations. Four participants did not complete the familiarization
92 visit: two because of voluntary withdrawal of consent, one because of time constraints and one because
93 of personal reasons unrelated to the nature of the study. Hence, twelve female participants were
94 enrolled and completed the study (mean ± SEM age: 21.8 ± 0.7 years; body mass index: 21.6 ± 0.5 kg.m⁻²).
95

96 **Study Design**

97 Each participant took part to three functional evaluations, during which they consumed either water-,
98 or sucrose- or NNS-containing test drinks, according to a randomized, crossover design. Successive

Effects of sweet drinks on stress responses

99 visits were separated by 1 – 3-week washout periods. Participants received instructions to consume an
100 energy-balanced, weight-maintenance diet during the two days preceding each functional evaluation.
101 They were asked to avoid sugars- and NNS-rich foods, and to abstain from consuming caffeine and
102 alcohol during this pre-evaluation period. Participants were also instructed to have a minimal 8h sleep
103 opportunity time per night and to refrain from structured physical activity. Compliance was checked
104 using food, physical activity and sleep records.

105 For each functional test, participants reported at 0700 to the Metabolism, Nutrition and Physical Activity
106 unit from the Clinical Research Center of the Lausanne University Hospital. They had been fasting since
107 2200 the day before. Upon arrival, they were asked to void and were weighed (Seca 708, Seca GmbH,
108 Hamburg, Germany). They were then comfortably installed in a bed in a reclining position. At 0800
109 (time 0 min), the functional evaluation started with a 90-min baseline period (**Figure 2**). It was followed
110 by a 30-min mental stress (time 90 – 120 min), consisting of 5-min periods of Stroop's color word conflict
111 test alternated with 5-min periods of complex mental arithmetic operations (19). Thereafter, a 30-min
112 recovery period was allowed, and a 3-min CPT was carried out at time 150 min. CPT consisted in
113 immersing their right hand for 3 min in ice water (20). From time 60 min, and every 15 min until the
114 end of the test (time 60, 75, 90, 105, 120, 135 and 150 min), participants ingested 25-mL test drinks
115 containing either water (Water condition), 106 g.L⁻¹ sucrose (Hänseler AG, Herisau, Switzerland;
116 Sucrose condition) or a mix of 392 mg.L⁻¹ sodium cyclamate (INRESA, Bartenheim, France), 181 mg.L⁻¹
117 acesulfame K (Celanese Corporation, Sulzbach, Germany) and 116 mg.L⁻¹ aspartame (INRESA,
118 Bartenheim, France) (NNS condition), based on the composition of commercial drinks (21). Before
119 swallowing every 25-mL test drink, participants were instructed to rinse their mouth for 10 seconds
120 with it to activate oral sweet taste receptors. Blood pressure was measured at time 30, 45, 75, 85, 95, 100,
121 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 145, 153, 158 and 163 min (BioZ ICG Monitor, CardioDynamics, San
122 Diego, California, United States). Throughout the study, cardiac output was measured by thoracic

Effects of sweet drinks on stress responses

123 electrical bioimpedance measurement (BioZ ICG Monitor, CardioDynamics, San Diego, California,
124 United States).

125 Calculations

126 Mean arterial pressure was estimated as follows (22):

$$127 \quad \text{Mean arterial pressure} = \frac{1 \times \text{systolic blood pressure} + 2 \times \text{diastolic blood pressure}}{3}$$

128 Cardiac output was determined from the product of heart rate and stroke volume (23).

129 SVR, expressed in terms of arbitrary unit (U), was calculated as (23):

$$130 \quad \text{SVR} = 80 \times \frac{(\text{mean arterial pressure} - \text{central venous pressure})}{\text{cardiac output}}$$

131 where the value for central venous pressure was defined at 6 mmHg (24).

132 Hemodynamic parameters were averaged by periods, i.e. resting baseline (i.e. before drink ingestion;
133 time 0 – 60 min), “baseline pre-mental stress” (time 60 – 85 min), “mental stress” (time 90 – 120 min),
134 “baseline pre-CPT” (time 125 – 145 min) and “CPT” (time 150 – 153 min).

135 Statistical Analyses

136 The primary outcome of this study was SVR changes across drink conditions (i.e. Water, Sucrose and
137 NNS). A sample size of $n = 12$ participants was calculated ($1 - \beta: 90\%$; $\alpha = 0.05$) to detect a $6 \pm 4\%$ difference
138 in postprandial SVR after the ingestion of sucrose, compared with water, as previously reported (25).

139 The sequence of treatment allocation was determined by random and balanced generation of six-
140 sequence blocks using Microsoft Excel software (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). Prior to the
141 statistical analysis, data distribution and equality of variances were attested by carrying out Shapiro-
142 Wilk and Bartlett tests, respectively. Non-normally distributed data (i.e. SVR) were transformed using
143 the Box-Cox algorithm. Body weight and hemodynamic responses during the resting baseline, baseline
144 pre-mental stress and baseline pre-CPT were compared between conditions using Student’s paired t -
145 tests, with Bonferroni corrections for multiple testing. Effects of stress (S effect), drink condition (C
146 effect) and their interaction (S \times C interaction) were investigated using mixed-model analyses, with

Effects of sweet drinks on stress responses

147 stress and drink condition as fixed factors and participant-specific intercepts and slopes as random
148 effects. *P* values < 0.05 were considered as significant. Statistical analyses were performed using the R
149 software, version 3.3.1 (R foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Data are presented as
150 mean ± standard error of the mean (SEM).

151 **RESULTS**

152 **Body weight and hemodynamic responses during the resting period**

153 Participants showed no significant differences in body weight between the 3 experimental conditions
154 (Water: 59.2 ± 1.3 ; Sucrose: 59.1 ± 1.3 ; NNS: 59.3 ± 1.3 kg; $P > 0.05$ for all comparisons). During the
155 resting period (i.e. before drink ingestion; time 0 – 60 min), SVR (Water: 1140 ± 61 ; Sucrose 1135 ± 55 ;
156 NNS: 1208 ± 73 U), mean arterial pressure (Water: 66 ± 2 ; Sucrose 65 ± 2 ; NNS: 66 ± 2 mmHg), cardiac
157 output (Water: 5.0 ± 0.3 ; Sucrose 4.9 ± 0.2 ; NNS: 4.7 ± 0.2 L.min⁻¹) and heart rate (Water: 69 ± 3 ; Sucrose
158 66 ± 3 ; NNS: 67 ± 3 beats.min⁻¹) were all comparable ($P > 0.05$ for all comparisons).

159 **Effects of mental stress**

160 Hemodynamic parameters during the baseline pre-mental stress period were all similar between
161 conditions ($P > 0.05$ for all comparisons; **Table 1**). Mental stress did not change SVR (S effect, $P = 0.437$),
162 but significantly increased mean arterial pressure (S effect, $P < 0.001$), cardiac output (S effect, $P < 0.001$)
163 and heart rate (S effect, $P < 0.001$). Changes in hemodynamic parameters during mental stress were not
164 altered by drink conditions (all S x C interactions, $P > 0.05$).

165 **Effects of CPT**

166 Hemodynamic parameters during the baseline pre-CPT period were all similar between conditions (P
167 > 0.05 for all comparisons; Table 1). CPT significantly increased SVR (S effect, $P < 0.001$), mean arterial
168 pressure (S effect, $P < 0.001$) and heart rate (S effect, $P < 0.001$), but did not change cardiac output (S
169 effect, $P = 0.252$). Changes in hemodynamic parameters during CPT were not altered by drink
170 conditions (all S x C interactions, $P > 0.05$).

Effects of sweet drinks on stress responses

171 DISCUSSION

172 The aim of this study was to investigate whether sweet drinks change hemodynamic stress responses.
173 To test this hypothesis, twelve healthy women were sequentially exposed to a 30-min mental stress and
174 a 3-min CPT, i.e. two stress procedures which both stimulate SNS activity, but elicit different
175 hemodynamic responses through differential activations of β - or α - adrenergic receptors (18).
176 Hemodynamic responses were monitored on three separate occasions, with subjects consuming either
177 water-, or sucrose- or NNS-containing drinks. We selected SVR as a primary outcome (measured by
178 thoracic electrical bioimpedance measurement), because this is a non-invasive and sensitive measure of
179 vascular reactivity (26). Mental stress and CPT both produced the expected effects on hemodynamic
180 responses. No significant differences were observed between Water, Sucrose and NNS, however,
181 suggesting that sweet taste receptors activation did not alter stress-induced stimulation of SNS.

182 **Validity of stress procedures**

183 Mental stress elicited the same hemodynamic responses as other studies published in the literature,
184 which reported significant increases of heart rate, mean arterial pressure, and cardiac output, and either
185 no change (27, 28) or a slight decrease (29-31) of SVR. Experimental studies have demonstrated that the
186 effects of mental stress on cardiac output and SVR were in part mediated by a β -adrenergic, nitric oxide
187 dependent vasodilation in skeletal muscle (32).

188 CPT also elicited the same hemodynamic responses as reported in the literature, i.e. significant increases
189 of SVR and heart rate, and mean arterial pressure, without any change in cardiac output (20, 31, 33).

190 **Effect of sucrose and NNS on hemodynamic responses**

191 As compared to Water, Sucrose and NNS did not change any of the hemodynamic parameters which
192 were monitored during mental stress and CPT. This is indirect, yet strong evidence that sweeteners,
193 whether containing calories or not, did not alter the sympathetic activation of heart rate during mental
194 stress and CPT, did not enhance cardiac muscle contraction strength, and did not induce peripheral
195 (muscle) vasodilation during mental stress or peripheral vasoconstriction during CPT. This observation

Effects of sweet drinks on stress responses

196 appears at odds with several other studies, however. In human newborns, sucrose ingestion before
197 painful procedures (e.g. heel prick), has indeed been associated with reduced heart rate (9, 10), as well
198 as alleviation of several pain indicators (34, 35). These effects were reported when sucrose was
199 intraorally delivered, but not after intragastric administration, suggesting that they were mediated by
200 oral sweet taste receptors activation (36). This observation was further supported by other pediatric
201 studies showing that pain indicators were effectively reduced with solutions containing sucrose and
202 aspartame, but not polyose (a glucose polymer that is metabolized by humans, but that has a very low
203 sweetness) (37). The reasons for these discrepancies between children and adults remain to date
204 unknown, but may be due to developmental changes in sweet taste sensitivity (38) or in actions of sweet
205 taste receptors on cerebral neuronal circuits (39), leading to different effects on hemodynamic stress
206 responses.

207 **Practical implications**

208 There is currently much concern that stress may be involved in the development of non-communicable
209 diseases (1), but the responsible mechanisms remain debated. Among other hypotheses, it has been
210 proposed that chronic stress may drive an overconsumption of sugar-rich foods (2, 3) as a mean to
211 alleviate stress-related neuroendocrine and hemodynamic responses (8-11, 13, 16, 17). The present
212 observations do not support this specific hypothesis, however, since neither sucrose nor NNS
213 significantly changed the hemodynamic responses to two different acute stress procedures. This does
214 by no means disprove the hypothesis that stress may promote the consumption of sweet or energy-
215 dense foods through other unrelated mechanisms. Our present results also do not challenge the concept
216 that chronic stress may contribute to the pathogenesis of non-communicable diseases by increasing
217 mean blood pressure, altering myocardial perfusion (6, 7), or increasing cortisol secretion (5), which
218 may in the long term lead to vascular damages and metabolic dysfunction.

219 **Limitations**

Effects of sweet drinks on stress responses

220 The current study has some limitations that need to be addressed. First, we investigated the effects of
221 stress procedures on hemodynamic parameters, but we did not directly assess SNS activity by plasma
222 catecholamine measurements, nor the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Second, we
223 aimed at designing this study with the highest ecological validity, and therefore asked participants to
224 swallow the test drinks after their mouth rinses. As a consequence, we cannot discard that small changes
225 in insulin concentrations induced by glucose metabolism may have altered hemodynamic responses
226 through its vasodilatory properties (25, 40). Finally, this study was conducted on young and healthy
227 women, and these results cannot be extrapolated to obese individuals of both genders, who showed
228 important alterations in their metabolic and hemodynamic stress responses (19).

229 **Conclusion**

230 In summary, these results indicate that sweet taste receptors activation does not alter hemodynamic
231 responses to standardized stress protocols, irrespective of their caloric content.

232 **Conflict of interest:** LT has previously received research support and speaker fees from Soremartec
233 Italia, Srl for research unrelated to this article, speaker fees from Nestlé AG, Switzerland, and the
234 Gatorade Sport Science Institute, USA, and consultant fees from Takeda Pharma, USA. All other authors
235 declare no conflict of interest.

236 **Author contributions:** JC, LB, RR, PS and LT designed the study; JC, LB, RR, KS and CC recruited
237 participants and performed functional evaluations; JC, NS and LT analyzed the data; JC and LT wrote
238 the manuscript; LT had primary responsibility for final content. All authors read, commented on, and
239 approved the manuscript.

REFERENCES

- 240 1. Chandola T, Brunner E, Marmot M. Chronic stress at work and the metabolic syndrome:
241 prospective study. *BMJ*. 2006;332(7540):521-5.
- 242 2. Oliver G, Wardle J. Perceived effects of stress on food choice. *Physiol Behav*.
243 1999;66(3):511-5.
- 244 3. Wardle J, Steptoe A, Oliver G, Lipsey Z. Stress, dietary restraint and food intake. *J*
245 *Psychosom Res*. 2000;48(2):195-202.
- 246 4. Epel ES, McEwen B, Seeman T, Matthews K, Castellazzo G, Brownell KD, et al. Stress
247 and body shape: stress-induced cortisol secretion is consistently greater among women with
248 central fat. *Psychosom Med*. 2000;62(5):623-32.
- 249 5. Björntorp P. The regulation of adipose tissue distribution in humans. *Int J Obes Relat*
250 *Metab Disord*. 1996;20(4):291-302.
- 251 6. Dimsdale JE. Psychological stress and cardiovascular disease. *Journal of the American*
252 *College of Cardiology*. 2008;51(13):1237-46.
- 253 7. Hammadah M, Alkhoder A, Al Mheid I, Wilmot K, Isakadze N, Abdulhadi N, et al.
254 Hemodynamic, catecholamine, vasomotor and vascular responses: Determinants of myocardial
255 ischemia during mental stress. *International journal of cardiology*. 2017;243:47-53.
- 256 8. Ulrich-Lai YM, Christiansen AM, Ostrander MM, Jones AA, Jones KR, Choi DC, et al.
257 Pleasurable behaviors reduce stress via brain reward pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
258 2010;107(47):20529-34.
- 259 9. Bucher HU, Moser T, von Siebenthal K, Keel M, Wolf M, Duc G. Sucrose reduces pain
260 reaction to heel lancing in preterm infants: a placebo-controlled, randomized and masked study.
261 *Pediatr Res*. 1995;38(3):332-5.

- 262 10. Acharya AB, Annamali S, Taub NA, Field D. Oral sucrose analgesia for preterm infant
263 venepuncture. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*. 2004;89(1):F17-
264 F8.
- 265 11. Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav*.
266 2007;91(4):449-58.
- 267 12. Lemmens SG, Rutters F, Born JM, Westtererp-Plantenga MS. Stress augments food
268 ‘wanting’ and energy intake in visceral overweight subjects in the absence of hunger.
269 *Physiology & Behavior*. 2011;103(2):157-63.
- 270 13. Ulrich-Lai YM, Ostrander MM, Thomas IM, Packard BA, Furay AR, Dolgas CM, et al.
271 Daily limited access to sweetened drink attenuates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis
272 stress responses. *Endocrinology*. 2007;148(4):1823-34.
- 273 14. Drolet G, Dumont EC, Gosselin I, Kinkead R, Laforest S, Trottier JF. Role of
274 endogenous opioid system in the regulation of the stress response. *Prog Neuropsychopharmacol*
275 *Biol Psychiatry*. 2001;25(4):729-41.
- 276 15. Kelley AE, Bakshi VP, Haber SN, Steininger TL, Will MJ, Zhang M. Opioid
277 modulation of taste hedonics within the ventral striatum. *Physiol Behav*. 2002;76(3):365-77.
- 278 16. Laugero KD, Bell ME, Bhatnagar S, Soriano L, Dallman MF. Sucrose ingestion
279 normalizes central expression of corticotropin-releasing-factor messenger ribonucleic acid and
280 energy balance in adrenalectomized rats: a glucocorticoid-metabolic-brain axis?
281 *Endocrinology*. 2001;142(7):2796-804.
- 282 17. Tryon MS, Stanhope KL, Epel ES, Mason AE, Brown R, Medici V, et al. Excessive
283 Sugar Consumption May Be a Difficult Habit to Break: A View From the Brain and Body. *J*
284 *Clin Endocrinol Metab*. 2015;jc20144353.
- 285 18. Seematter G, Binnert C, Martin JL, Tappy L. Relationship between stress, inflammation
286 and metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004;7(2):169-73.

Effects of sweet drinks on stress responses

- 287 19. Seematter G, Guenat E, Schneiter P, Cayeux C, Jéquier E, Tappy L. Effects of mental
288 stress on insulin-mediated glucose metabolism and energy expenditure in lean and obese
289 women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(4):E799-805.
- 290 20. Mourot L, Bouhaddi M, Regnard J. Effects of the cold pressor test on cardiac autonomic
291 control in normal subjects. *Physiol Res.* 2009;58(1):83-91.
- 292 21. Ordoñez EY, Rodil R, Quintana JB, Cela R. Determination of artificial sweeteners in
293 beverages with green mobile phases and high temperature liquid chromatography-tandem mass
294 spectrometry. *Food Chem.* 2015;169:162-8.
- 295 22. Meaney E, Alva F, Moguel R, Meaney A, Alva J, Webel R. Formula and nomogram for
296 the sphygmomanometric calculation of the mean arterial pressure. *Heart.* 2000;84(1):64.
- 297 23. Lee QY, Redmond SJ, Chan GSh, Middleton PM, Steel E, Malouf P, et al. Estimation
298 of cardiac output and systemic vascular resistance using a multivariate regression model with
299 features selected from the finger photoplethysmogram and routine cardiovascular
300 measurements. *Biomed Eng Online.* 2013;12:19.
- 301 24. Ventura HO, Taler SJ, Strobeck JE. Hypertension as a hemodynamic disease: the role
302 of impedance cardiography in diagnostic, prognostic, and therapeutic decision making. *Am J*
303 *Hypertens.* 2005;18(2 Pt 2):26S-43S.
- 304 25. Grasser EK, Dulloo A, Montani JP. Cardiovascular responses to the ingestion of sugary
305 drinks using a randomised cross-over study design: Does glucose attenuate the blood pressure-
306 elevating effect of fructose? *Br J Nutr.* 2014;112(2):183-92.
- 307 26. West SG. Effect of diet on vascular reactivity: an emerging marker for vascular risk.
308 *Curr Atheroscler Rep.* 2001;3(6):446-55.
- 309 27. Paine NJ, Ring C, Bosch JA, McIntyre D, Veldhuijzen van Zanten JJCS. The effect of
310 acute mental stress on limb vasodilation is unrelated to total peripheral resistance.
311 *Psychophysiology.* 2013;50(7):680-90.

Effects of sweet drinks on stress responses

- 312 28. Tsai P-S, Yucha CB, Nichols WW, Yarandi H. Hemodynamics and Arterial Properties
313 in Response to Mental Stress in Individuals with Mild Hypertension. *Psychosomatic Medicine*.
314 2003;65(4):613-9.
- 315 29. Spence JD, Manuck SB, Munoz C, Cheung H, Huff M, Dennis B, et al. Hemodynamic
316 and endocrine effects of mental stress in untreated borderline hypertension. *Am J Hypertens*.
317 1990;3(11):859-62.
- 318 30. Battilana P, Seematter G, Schneiter P, Jequier E, Tappy L. Effects of free fatty acids on
319 insulin sensitivity and hemodynamics during mental stress. *J Clin Endocrinol Metab*.
320 2001;86(1):124-8.
- 321 31. West SG, Krick AL, Klein LC, Zhao G, Wojtowicz TF, McGuinness M, et al. Effects of
322 diets high in walnuts and flax oil on hemodynamic responses to stress and vascular endothelial
323 function. *J Am Coll Nutr*. 2010;29(6):595-603.
- 324 32. Dietz NM, Rivera JM, Eggener SE, Fix RT, Warner DO, Joyner MJ. Nitric oxide
325 contributes to the rise in forearm blood flow during mental stress in humans. *J Physiol*.
326 1994;480 (Pt 2):361-8.
- 327 33. Sauder KA, Johnston ER, Skulas-Ray AC, Campbell TS, West SG. Effect of meal
328 content on heart rate variability and cardiovascular reactivity to mental stress.
329 *Psychophysiology*. 2012;49(4):470-7.
- 330 34. Blass EM, Watt LB. Suckling- and sucrose-induced analgesia in human newborns. *Pain*.
331 1999;83(3):611-23.
- 332 35. Haouari N, Wood C, Griffiths G, Levene M. The analgesic effect of sucrose in full term
333 infants: a randomised controlled trial. *BMJ*. 1995;310(6993):1498-500.
- 334 36. Ramenghi LA, Evans DJ, Levene MI. "Sucrose analgesia": absorptive mechanism or
335 taste perception? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999;80(2):F146-7.

Effects of sweet drinks on stress responses

- 336 37. Barr RG, Pantel MS, Young SN, Wright JH, Hendricks LA, Gravel R. The response of
337 crying newborns to sucrose: is it a "sweetness" effect? *Physiol Behav.* 1999;66(3):409-17.
- 338 38. Segovia C, Hutchinson I, Laing DG, Jinks AL. A quantitative study of fungiform
339 papillae and taste pore density in adults and children. *Brain Res Dev Brain Res.*
340 2002;138(2):135-46.
- 341 39. Jacobson A, Green E, Murphy C. Age-related functional changes in gustatory and
342 reward processing regions: An fMRI study. *NeuroImage.* 2010;53(2):602-10.
- 343 40. Jern S. Effects of acute carbohydrate administration on central and peripheral
344 hemodynamic responses to mental stress. *Hypertension.* 1991;18(6):790-7.

345 **Figure legend**

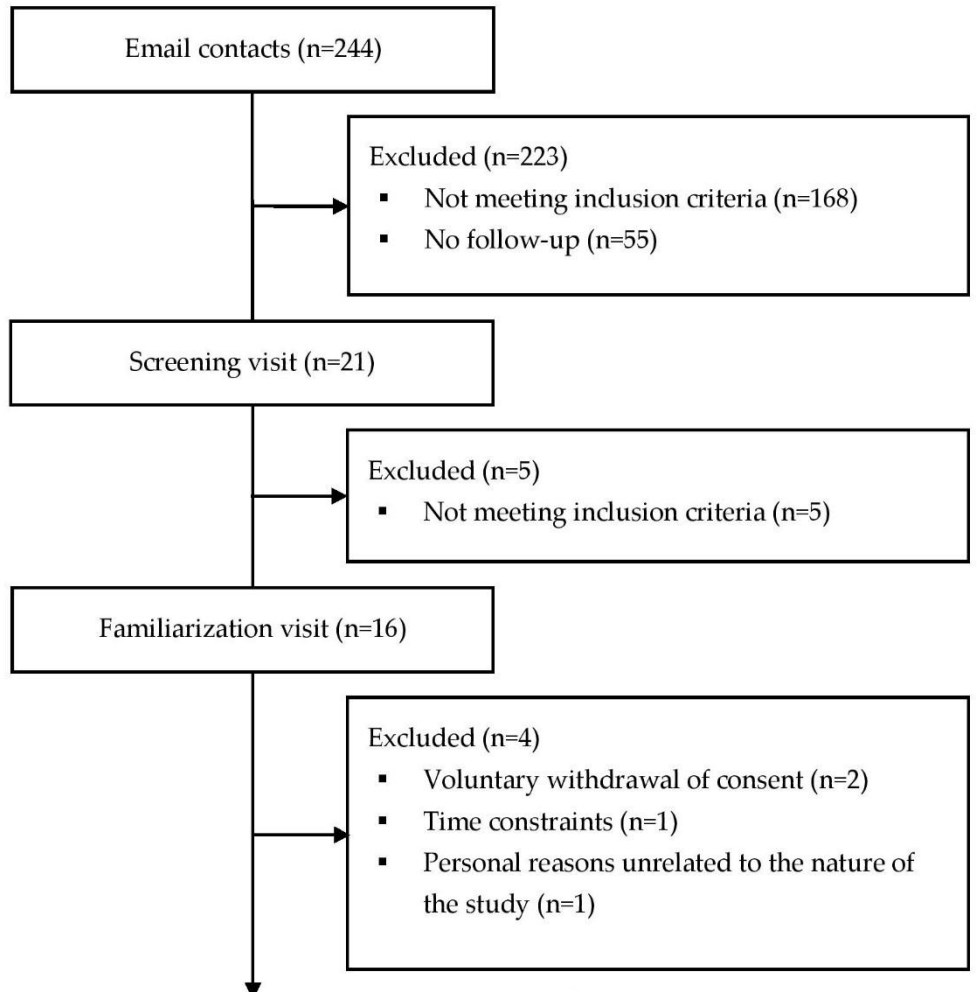
346 **Figure 1: Eligibility, allocation, follow-up and analysis of study participants.**

347 **Figure 2: Illustration of the functional evaluation.**

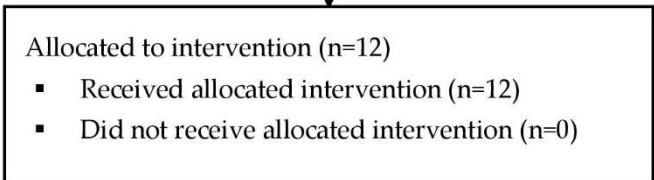
348 After a 2-day prescribed, weight-maintenance diet, 12 participants were studied on 3 occasions,
349 according to a randomized, crossover design. Briefly, after an overnight fast, the functional evaluation
350 started with a 90-min baseline period. It was followed by a 30-min mental stress (consisting of 5-min
351 periods of Stroop's color word conflict test alternated with 5-min periods of complex mental arithmetic
352 operations), a 30-min recovery period and a 3-min CPT. From time 60, and every 15 min until the end
353 of the test, participants ingested 25-mL test drinks containing either pure water, 106 g.L⁻¹ sucrose or a
354 mix of NNS (392 mg.L⁻¹ sodium cyclamate, 181 mg.L⁻¹ acesulfame K and 116 mg.L⁻¹ aspartame) after a
355 10-s mouth rinse. The effects of test drinks on hemodynamic stress responses were investigated by the
356 repeated measurement of blood pressure, as well as the continuous monitoring of cardiac output by
357 thoracic electrical bioimpedance measurement. Each functional evaluation was separated by 1 – 3-week
358 washout periods. CPT, cold pressure test.

Figure 1

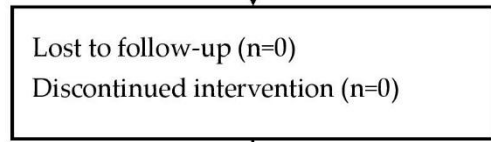
Eligibility



Allocation



Follow-Up



Analysis

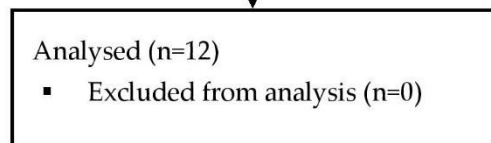


Figure 2

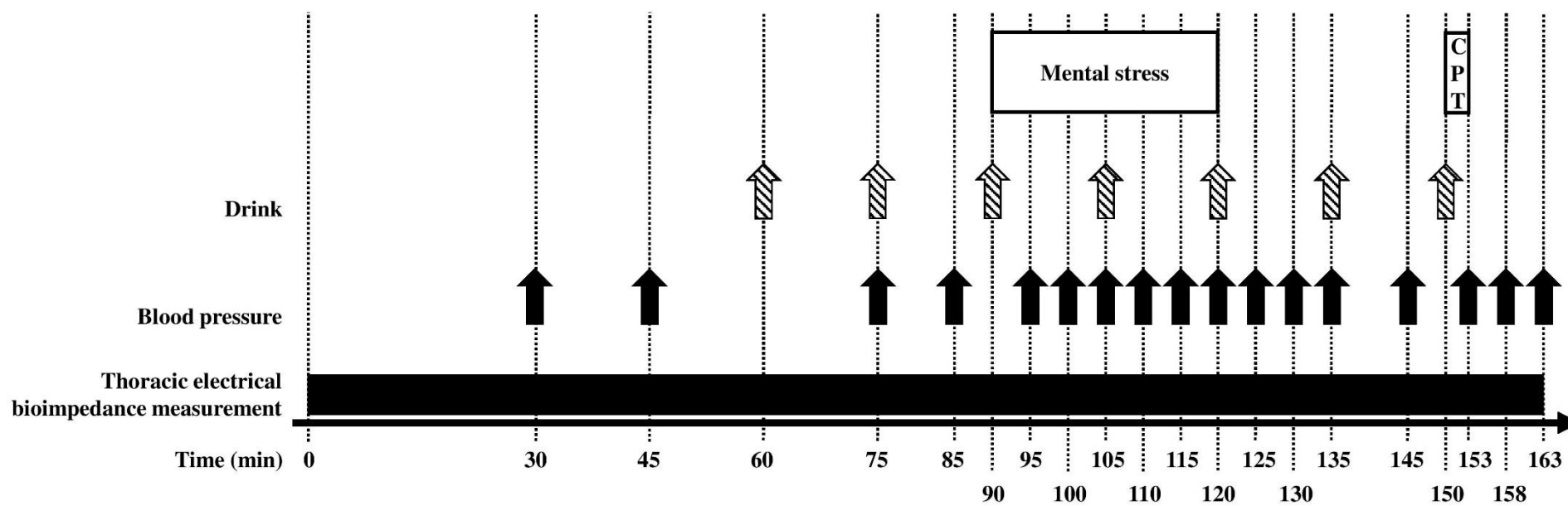


Table 1: Effects of water, sucrose and NNS on hemodynamic responses induced by a 30-min mental stress and a 3-min CPT.

		Water	Sucrose	NNS	<i>P</i> value	
					S	S × C
Systemic vascular resistance (U)	Baseline pre-mental stress	1133 ± 68	1062 ± 58	1117 ± 66	0.437	0.932
	Mental stress	1114 ± 84	1024 ± 57	1120 ± 88		
	Baseline pre-CPT	1135 ± 65	1050 ± 55	1193 ± 115	< 0.001	0.677
	CPT	1275 ± 84	1228 ± 87	1331 ± 137		
Mean arterial pressure (mmHg)	Baseline pre-mental stress	67 ± 2	66 ± 2	68 ± 2	< 0.001	0.809
	Mental stress	86 ± 2	86 ± 3	87 ± 3		
	Baseline pre-CPT	77 ± 2	76 ± 2	77 ± 2	< 0.001	0.955
	CPT	100 ± 3	100 ± 4	101 ± 3		
Cardiac output (L.min⁻¹)	Baseline pre-mental stress	5.1 ± 0.3	5.3 ± 0.3	5.2 ± 0.3	< 0.001	0.849
	Mental stress	6.0 ± 0.5	6.2 ± 0.3	6.0 ± 0.4		
	Baseline pre-CPT	5.4 ± 0.4	5.8 ± 0.3	5.3 ± 0.4	0.252	0.774
	CPT	5.6 ± 0.3	5.8 ± 0.3	5.7 ± 0.4		
Heart rate (beats.min⁻¹)	Baseline pre-mental stress	69 ± 3	70 ± 3	70 ± 3	< 0.001	0.624
	Mental stress	87 ± 4	90 ± 4	88 ± 4		
	Baseline pre-CPT	73 ± 3	75 ± 3	73 ± 3	< 0.001	0.928
	CPT	87 ± 3	88 ± 3	86 ± 3		

Values are expressed as mean ± SEM during baseline pre-mental stress (time 60 – 85 min), mental stress (time 90 – 120 min), baseline pre-CPT (time 125 – 145 min) and CPT (time 150 – 153 min) periods. The normality and homoscedasticity of data distribution were inspected by Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. For statistical analyses, the Box-Cox algorithm was applied to systemic vascular resistance. Baseline pre-mental stress and baseline pre-CPT were compared between conditions using Student's paired *t*-tests with Bonferroni corrections for multiple testing, and *P* > 0.05 for all comparisons. Effects of stress (S) and its interaction with drink condition (S × C interaction) were investigated using mixed-model analyses. All data are based on n = 12 participants. *P* < 0.05 was considered as statistically significant. CPT, cold pressure test; NNS, non-nutritive sweetener; U, arbitrary unit.

