



HAL
open science

L'adolescence, une période de vulnérabilité aux effets de régimes obésogènes sur la mémoire : études des fonctions hippocampiques et amygdaliennes

Chloé Boitard

► To cite this version:

Chloé Boitard. L'adolescence, une période de vulnérabilité aux effets de régimes obésogènes sur la mémoire : études des fonctions hippocampiques et amygdaliennes. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bordeaux Ségalen (Bordeaux 2), 2013. Français. NNT : . tel-02811363

HAL Id: tel-02811363

<https://hal.inrae.fr/tel-02811363>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2013



Thèse n°2078

THÈSE

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX 2

École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé
Mention : Sciences, Technologie, Santé

Spécialité
NEUROSCIENCES

Soutenue publiquement le 13 décembre 2013
par

Chloé BOITARD

Née le 21/01/1988 à Lille (59)

L'adolescence, une période de vulnérabilité aux effets de régimes obésogènes sur la mémoire :

Étude des fonctions hippocampiques et amygdaliennes

Membres de la commission d'examen :

Pr Robert JAFFARD, Professeur Emérite, Université de Bordeaux I Président
Dr Serge LAROCHE, DRI CNRS, Université Paris-sud Rapporteur
Dr Anne-Marie MOULY, CRI CNRS, Université de Lyon I Rapporteur
Dr Giovanni MARSICANO, CRI INSERM, Université de Bordeaux 2 Membre invité
Dr Guillaume FERREIRA, CRI INRA, Université de Bordeaux 2 Directeur de thèse

À Mr Terrier, professeur de SVT,
À Denis Poinot, Maître de Conférences,
À Marie-Annick Richard, Professeur des Universités,

Vous êtes pleinement responsables de cette thèse,
De mon choix pour l'enseignement,
Et bien plus encore...

Nous ne sommes savants que de la science présente
Michel de Montaigne

Remerciements

Mes remerciements de thèse vont tout simplement s'orienter vers vous, lecteur.

Vous lisez cette thèse car vous avez accepté d'être un des membres de mon jury. Cela me fait honneur, et je vous remercie. **Pr Jaffard**, merci de présider ce jury.

Anne-Marie Mouly et **Serge Laroche**, vous avez déjà entendu parler de ces travaux lors de nos rencontres à divers congrès et je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, me témoignant ainsi de l'intérêt que vous y portez.

Giovani Marsicanno, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury en temps qu'examineur invité.

Vous lisez cette thèse car vous avez encadré ce travail, et je vous remercie du temps et de l'investissement que vous y avez accordé.

Merci à toi, **Guillaume Ferreira**, d'avoir encadré ces travaux. Tu étais à la recherche de « quelqu'un du comportement » et moi à la recherche « d'un peu de neurosciences ». Cela a donné un joyeux Master 2, et j'ai été ravie que tu m'aies donnée l'opportunité de poursuivre l'aventure en thèse. J'ai toujours été impressionnée par ton esprit d'analyse, ton intérêt et tes connaissances dans tous les domaines des neurosciences. La légende : *quelque soit le sujet de la conférence, Guigui posera une question pertinente* est avérée. Je te remercie pour nos échanges, et ta constante disponibilité pendant ces presque 4 ans. L'éthologue en herbe n'a pas été déçue du voyage, et je te remercie de m'avoir donné l'opportunité de continuer à parler de systèmes de mémoire, mais aussi de rencontrer les neurones et les cascades moléculaires, et de m'avoir maintenue la tête hors de l'eau dans les domaines où je perds facilement pied (la faute au high fat?).

Merci **Sophie Layé**, lorsque je suis arrivée, tu ne dirigeais pas encore NutriNeurO, et j'ai souvenir d'avoir rencontré un chercheur disponible et à l'écoute. Les choses ont changé, mais ton emploi du temps de ministre ne t'a pas empêché de continuer à être présente. En espérant que ton « mais, quelle est ta question!?! » qui clôture chacune de nos présentations d'étudiants par une magnifique déstabilisation, continuera à résonner encore longtemps dans les couloirs du labo.

Vous lisez cette thèse car nous avons eu l'opportunité de collaborer, ce qui a considérablement enrichi ce travail, et je vous en remercie.

Merci à **Etienne Coutureau**, **Fabien Naneix** et **Alain Marchand** pour nos interactions sur le conditionnement de peur, et pour l'ouverture vers un nouvel horizon sur lesquels des thésards se penchent maintenant (n'est ce pas Fredou?).

Merci à **Rose-Marie Vouimba** et **Mouna Maroun** de m'avoir ouvert la porte de l'électrophysiologie, même si cela restera toujours un peu obscur pour la comportementaliste que je suis. Vous avez permis de rajouter cette approche à ces travaux, les rendant ainsi beaucoup plus complets, et j'en suis réellement ravie.

Merci **Sophie Tronel** d'avoir partagé ton expertise sur la neurogenèse, et merci **Aline Marighetto**, notre étude sur la mémoire relationnelle ont permis la publication de mon premier papier.

Vous lisez cette thèse (ou juste cette partie) car vous faite partie du laboratoire NutriNeurO, et que nous nous sommes côtoyés au quotidien pendant un moment, que nous soyons devenus proches au fil du temps, ou restés de bons collègues de travail, je souhaite vous remercier.

Plus particulièrement, je souhaite remercier **Aline Foury**, **Amandine Minni**, **Marie-Pierre Manain**, **Véro De Smedt**, **Sylvie Vancassel** et **Nath Arvy** pour nos discussions du midi, nos critiques cinématographiques et nos échanges de livres. J'en profite pour remercier *Franck Thilliez* et *Maxime Chattam*, qui ont pris le relai de *Bernard Werber* et m'ont accompagné tout au long de ces 3 ans, me permettant de relativiser et de m'évader (pour les amateurs de thrillers policiers, je conseille d'ailleurs 'fractures', 'la mémoire fantôme' et 'vertiges' du 1^{er} ainsi que 'conjuración primitive' du 2^{ème}, et pour les autres, la série 'autre monde' de Chattam). Merci **Aline** pour nos échanges sur le cheval. Tu es à l'origine de la découverte du monde des DP, et je t'en remercie. Nos discussions m'ont permis de partager nos avis sur l'équitation naturelle, et de découvrir plein de choses dans ce domaine (de l'intérêt du pied-nu aux selles sans arçon, en passant par le training au clicker). Merci aussi à *Rêve*, *Tonnerre* et *Macho* pour la confiance que vous m'avez accordée. La remise en question que demande ce type de pratique a été récompensée par la complicité que nous avons pu partager. Enfin, merci encore **Aline** et **Marie** pour votre soutien dans les heures les plus sombres de ces 4 années.

Je souhaite aussi remercier les membres des 2 bureaux que j'ai occupé pendant ces 'presque 4 ans'. Merci aux membres du 'bureau des étudiants' de l'époque où on rentrait tous dans le même bureau. Merci **Jean Baptiste Barreau**, alias JBB, pour ton humour décapant, et ton humeur au beau fixe. Tu étais l'un des rares à comprendre mes élans de biostatisticienne (merci *Denis Poinot*, je suis contaminée à vie) et ça m'a fait du bien de me sentir moins seule. Merci aussi pour ta macro, tu m'as permis d'économiser des heures d'extraction de données, et je continue à répandre cette macro ainsi que ta légende auprès des nouveaux étudiants qui génèrent d'énormes fichiers avec Smart. Merci aux autres membres de ce bureau tel qu'il était lorsque je l'ai occupé. Merci **Jean-Christophe Delpech**, alias JCD, l'encyclopédie, que dis-je le google du labo ! Merci pour tous tes conseils, ton aide et ta poisse légendaire qui a engendré bien des fou-rires. Je te souhaite néanmoins d'avoir une vie un peu plus reposante ☺ et tout le bonheur du monde aux states avec **Charlotte Madore**, alias Chacha, dont le rire manque cruellement aux couloirs du labo. Merci aussi à **Julie Lasselin** et **Thomas Larrieu**, en plus de **JBB** et **JCD**, pour nos discussions 'interprétations de résultats' communément appelés 'pot-au-feu du bureau'. Merci **Thomas** pour nos échanges concernant l'avenir professionnel des jeunes docteurs, en espérant que nous trouverons tout les deux notre voie.

Merci aussi aux membres du 'nouveau bureau des étudiants' dans lequel j'ai ensuite emménagé. Merci à la team des motards/barbus représentée par **Damien Bonhomme** (vrai motard, vrai barbu), **Fabrice Casenave** (faux motard, vrai barbu) et **Julien Bensalem** (vrai motard, faux barbu). Merci pour l'ambiance que vous avez mise dans ce bureau de mecs (peu nombreux au labo, il faut bien l'admettre), avec vos discussions, mais aussi l'émission de décibels plus ou moins saugrenus (des discussions scientifiques à l'imitation très réussie des cris de *Juan-Carlos Ferrero* en pleine partie de 'Ruler-ball'). Merci **Fabrice** pour nos discussions perso, je te souhaite de la réussite avec SciLight et du bon temps avec ta petite famille. Une spéciale dédicace pour **Anne Létondor**, ni motard, ni barbue, mais occupante du bureau, qui a su, comme moi, résister à l'envahisseur et nous ménager des temps de SILENCE... faut bien bosser un peu quand même. De la productivité débordante de ce bureau, nous retiendrons, en plus des articles que vous trouverez sur Pubmed, « il y en a qu'ont quedal, toi t'amygdale », mais aussi - « further, ça veut bien dire ce que ça veut dire ? » - « oui, ça doit vouloir dire ça » - « bin, c'est le père de brother, non ? » ... sans oublier des L, E apostrophe, ni le correcteur orthographique **Julien** (« ça dépend si c'est devant ou derrière le COD », nous, ça nous parle vaguement, lui, il est incollable).

Merci aussi aux autres 'étudiants' du labo : **Helen Beyer, Alexia Mathou et Frédéric Tantot** d'avoir fait partie d'une petite bande bien sympathique. Merci pour nos discussions, votre soutien, votre humeur certainement bien plus stable que la mienne (oui, je suis verseau... M'enfin, surtout en rédaction quoi...), nos délires, et nos sorties. Même si apparemment, on pue trop le fromage (entre tartiflette chez **Anne** et Poutine au P'tit Quebec, fallait s'y attendre), ces moments parmi vous resteront gravés dans ma mémoire, comme cette odeur dans nos fringues. Merci aussi à **Julie Carrez** et **Julie Sauvant** pour vos oreilles attentives et attentionnées, et nos échanges. Merci pour le réconfort que vous avez pu m'apporter, tout simplement en étant là, ou grâce aux schokobons ☺.

Enfin, comme le dit si bien *Ribery*, « la routourne va tourner » et une tripoté d'étudiants vont et viennent dans ce labo. J'ai ainsi eu l'opportunité d'encadrer et de former certains d'entre vous, et je vous remercie de cet échange. Merci **Anaïs Gaillard**, 'ma 1^{ère} étudiante' et **Chloé Lacabanne**, mais aussi un super gros merci à **Fredou** et **Amandine Cavaroc**. Merci du fond du cœur à tout les deux de m'avoir supporté (moi et mon caractère), assisté dans les manips et fait confiance pour la correction de vos rapports et les conseils pour vos oraux. Apparemment, je ne vous ai pas traumatisé puisque vous avez décidé poursuivre votre aventure en thèse, que ce soit au labo ou en Allemagne. Courage à vous deux !!! Courage aussi **Amandine Lepinay, Julien Bensalem, Yootana Janthakhin, Celia Fourier, Charlotte Rey** et **Gabriela De Medeiros** pour cette belle aventure ! Un merci tout spécial pour **Laure Servant**, en stage puis en CDD dans notre petit bureau, pour ta relecture de cette thèse. J'en profite pour remercier les post-docs, et particulièrement **Anne-Laure Diné** et **Aurore Thomazeau**... Et oui, la vie continue après la thèse !

Enfin, tout ce travail n'aurait pas pu être conduit sans l'aide des animaliers **Philippe Birac** et **Mathieu Cadet**, ni sans le dévouement de **mes ratoux** (et de quelques souris). RIP mes petites bêtes, je vous ai traité avec tout le respect et la douceur possible et je vous remercie de votre affection malgré les piqûres de LiCl et la nage en piscine de Morris.

Merci aussi au personnel technique du laboratoire, et particulièrement à **Julie Sauvant, Agnès Aubert** et **Véro De Smedt**, qui m'ont patiemment fait découvrir des facettes du travail en labo qui m'étaient inconnues, comme le monde des immunos, des qPCR et des Western-blots (un éthologue ne se refait pas). Merci aussi à **Marie** pour ta disponibilité et ta réactivité et à **Stéphanie Déchéry** du secrétariat.

Je remercie aussi l'ensemble du laboratoire pour les discussions que nous avons pu avoir entre 2 portes, et qui ont apporté des réponses (ou d'autres questions) à mes questions, mais aussi pour nos discussions diverses sur le sens de la vie, la date de réparation d'une centri, mon avenir professionnel, un proto de comportement, ou le lieu idéal où passer son WE. Je pense ici plus particulièrement à **Muriel Darnaudéry, Lucile Capuron, Nath Castanon, Corinne Joffre, Agnès Nadjar, Marie-Pierre Moisan, Jean-Cristophe Helbling** et **Julie Brossaud**.

Tu lis les remerciements de ma thèse car tu es quelqu'un qui m'est proche, et je souhaite profiter de l'occasion qui m'est donnée de te remercier de la place que tu occupes dans ma vie. Je ne vais pas m'étaler ici sur le pourquoi du comment j'en viens à te remercier, car je pense que tu le sais autant que moi.

Cette épopée a commencé sur les bancs de la fac de Rennes. Merci aux Rennais, et particulièrement, merci **Gaël Quesseveur** d'avoir été, et d'être toujours là pour moi. Tu resteras quelqu'un de spécial, et je te souhaite de t'éclater au pays des caribous avec ta ptite chérie, d'acheter quatoooooorze Willy Waller 2006 et de bien vite nous les ramener. Merci à mes super potes, **Carolle-Ann Piron**, **Guillaume Kerboeuf**, **Hélène Thielges** et **Janlou Chaput**. Vous comptez énormément pour moi, comme en témoignent nos heures au téléphone, et nos entrevues dans toutes les villes de France... on va finir par réussir à se le faire ce road-trip !!! **Caro**, je t'adore, tu es une super amie et les nombreux km entre nous n'ont pas réussi à nous séparer. **Gwigwi**, merci pour tes films et tes messages sur mon répondeur... je suis morte de rire à chaque fois, tu illumines ma vie ! **Hélène**, depuis ton départ en Guyane, se joindre devient complexe et nos conversations me manquent... du coup, je compte bien venir t'emmerder là-bas ! **Janlou**, essaie de te ménager un peu de temps entre journalisme scientifique et vie politique, tu le mérites. Encore une fois, merci pour ton soutien et nos heures de tel. Merci encore à **Gaël** et **Hélène** nos échanges sur nos vies et nos misères de thésards m'ont permis de tenir le cap à certains moments particulièrement stressants.

Je souhaite aussi remercier **Amandine Macoin** et **Julie Tuailon**, ainsi que les nombreux danseurs que j'ai fréquenté en rock, danse de salon et danses latines. Vous m'avez permis d'évacuer et de planer le temps d'une danse. **Vinz** merci de m'avoir fait découvrir la kiz et de m'avoir présenté **Jess et Zio d'Alliance Kizomba**, des personnes magnifiques, qui partagent leur passion, bref des super profs. Merci **Johann**, we'll keep in touch for sure, tu me dois une salsa et un CD sur ta vision de la vie. Thanks **Jinita**, I'm so glad we still manage to chat with each other, maybe ♪ we'll meet again, don't know where (Australia or France?) don't know when, but I hope we'll share again some sunny days ♪ Enfin, par pudeur, certaines personnes ne sont pas citées ici. Elles savent qu'elles comptent ou ont compté pour moi, de part leur simple présence dans ma vie. Je les remercie juste d'exister et d'avoir croisé ma vie... Toi, si tu n'existais pas, il faudrait t'inventer ☺

Je conclue ces remerciements par un mot pour ma famille. Merci à mes parents de m'avoir soutenue pendant mes études et pendant cette thèse, même en étant à 600km de moi. Merci **Papa** pour le raisonnement scientifique, merci **Maman** pour ton humanité. Merci aussi aux 2 brozers, **Tristan** et **Corentin** de supporter la sista'. Je vous souhaite le meilleur du monde dans votre vie.

Et toi ! J'allais t'oublier ! Toi, tu lis cette partie de ma thèse pour te motiver à lire des chapitres entiers (soyons fous) de ce qui suit. Oui, toi, étudiant en passe de devenir toi aussi un Docteur ne te décourage pas. Jeune Padawan, la lumière est au bout du tunnel ! Bonne continuation...

Résumé

L'adolescence, une période de vulnérabilité aux effets de régimes obésogènes sur la mémoire : études des fonctions hippocampiques et amygdaliennes

L'obésité, considérée comme pandémie, est associée à l'apparition de troubles cognitifs et émotionnels chez l'Homme comme chez l'animal. La prévalence de l'obésité augmente de manière drastique chez les enfants et les adolescents. Or l'adolescence est une période primordiale pour la maturation des structures cérébrales (notamment l'hippocampe et l'amygdale) qui vont sous-tendre les processus cognitifs pour le restant de la vie de l'individu. Cependant, aucune étude n'avait investigué la potentielle vulnérabilité de cette période développementale aux effets de l'obésité sur la mémoire, comparativement à l'âge adulte. Nous avons donc effectué cette comparaison chez le rongeur, en modélisant l'obésité par une exposition à un régime hyper-lipidique (HL) pendant une période incluant l'adolescence *versus* à l'âge adulte uniquement (i.e. excluant l'adolescence). **Nous mettons en évidence que l'obésité induite à l'adolescence provoque des altérations mnésiques, qui ne sont pas retrouvés lorsque l'obésité est induite à l'âge adulte.**

La majorité des études sur les effets de l'obésité ayant mis en évidence une altération des mémoires dépendantes de l'hippocampe, nous nous sommes tout d'abord focalisés sur les fonctions hippocampiques. Nous avons ensuite exploré le système amygdalien, impliqué dans les mémoires émotionnelles et peu étudié dans le cadre de l'obésité. Ces deux systèmes fonctionnels ont été appréhendés au travers d'approches comportementales visant à évaluer les performances mnésiques, mais également d'approches d'imagerie cellulaire et d'électrophysiologie afin d'évaluer la plasticité cellulaire au sein de ces structures. Nous mettons en évidence que **l'obésité induite à l'adolescence impacte la mémoire et la plasticité de ces systèmes de manière bidirectionnelle en dégradant les fonctions hippocampiques et en exacerbant les fonctions amygdaliennes.**

Concernant les mécanismes impliqués dans ces effets nous mettons en évidence l'existence d'une **exacerbation de la réponse inflammatoire spécifiquement au niveau de l'hippocampe** chez les animaux exposés au régime HL à l'adolescence, ce qui pourrait expliquer les déficits des fonctions hippocampiques. Enfin, nous montrons que la **dérégulation de l'axe corticotrope** chez ces animaux est responsable des effets comportementaux et cellulaires observés au niveau des fonctions amygdaliennes.

L'ensemble de ces résultats montre l'urgence de développer les études sur l'obésité juvénile, dont les effets importants sur les fonctions cognitives et émotionnelles pourraient engendrer une altération importante de la qualité de vie et une prise en charge accrue de ces sujets tout au long de leur vie.

Mots clefs : adolescence, vulnérabilité, obésité, systèmes de mémoire, plasticité.

Abstract

Adolescence, a vulnerable period to the effects of obesogenic diets on memory:
Special emphasis on hippocampal and amygdala systems

The obesity pandemic is linked to cognitive and emotional disorders in humans. Obesity prevalence in adolescence is increasing at an alarming rate. Adolescence is a crucial period for maturation of brain structures, like hippocampus and amygdala, particularly important for neurocognitive shaping required for whole life duration. However, no study investigated a potential higher vulnerability of this specific developmental period to the effects of obesity on memory. For this purpose we compared, in rodent models, the effects of high-fat diet (HFD)-induced obesity during adolescence (from weaning to adulthood) or at adulthood. We were able to demonstrate that **adolescence is more vulnerable than adulthood to the effects of obesity on memory.**

Most of the studies interested in the effects of obesity on memory found deficits in hippocampal dependent memories. We therefore first focused on hippocampal functioning. We also extended this investigation to another memory system depending on amygdala, since little was known about the effects of obesity on this structure. Using behavioral approaches to evaluate memory performances, but also cellular imaging and electrophysiology to assess cellular plasticity, we evidenced that **juvenile obesity affects both memory and plasticity in a bidirectional way, impairing hippocampal function and enhancing amygdala function.**

Looking for mechanisms to explain these effects, we found a **potentiated inflammatory response specifically in the hippocampus** that could explain decreased hippocampal function. We also demonstrated that **deregulation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis** is responsible for increased amygdala plasticity and memory.

Altogether these results suggest that obesity during adolescence predisposes to later maladaptive cognitive and emotional functions. This is a major concern as it could induce a significant impairment in quality of life of these individuals and contribute considerably to their social and occupational dysfunction.

Key-words: juvenile, vulnerability, obesity, memory systems, plasticity

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	17
I. OBESITE, REGIMES HYPER-LIPIDIQUES ET METABOLISME	17
A. L'OBESITE CHEZ L'HOMME	17
1. Définition et caractérisation	17
2. Prévalences et causes	18
3. Rappels sur la régulation de la prise alimentaire	20
4. Co-morbidités associées à l'obésité	22
B. MODELES DE L'OBESITE CHEZ LE RONGEUR	24
1. Les modèles génétiques et leurs limites	24
2. Les modèles induits par l'alimentation	26
II. OBESITE, INFLAMMATION ET AXE CORTICOTROPE	31
A. L'OBESITE, UN ETAT D'INFLAMMATION A BAS BRUIT	31
1. L'inflammation en conditions physiologiques	31
2. L'inflammation en conditions d'obésité	35
B. OBESITE ET DEREGULATION DE L'AXE CORTICOTROPE	38
1. L'axe corticotrope en conditions physiologiques	38
2. L'axe corticotrope en conditions d'obésité	42
C. INTERACTIONS ENTRE INFLAMMATION ET AXE CORTICOTROPE	45
1. Régulation en conditions physiologiques	45
2. Dérégulation en conditions de stimulation chronique et obésité	46
III. OBESITE, COGNITION ET EMOTIONS	49
A. LA MEMOIRE EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES	49
1. Les différents systèmes de mémoire	49
a. Généralités	49
b. Proposition de classification, le modèle de Squire	50
2. Le système hippocampique	52
a. Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions	52
b. La neurogenèse dans l'hippocampe	53
c. Hippocampe et mémoire	56
3. Le système amygdalien	60
a. Cytoarchitecture de l'amygdale et connexions	60
b. Amygdale et cognition	61
4. Notions d'interactions entre les systèmes de mémoire	63

B. CYTOKINES, MEMOIRE ET EMOTIONS	64
1. Cytokines et modulation de la mémoire	66
2. Cytokines et troubles de l'humeur	67
C. GLUCOCORTICOÏDES, MEMOIRE ET EMOTIONS	68
1. Stress chronique et modifications des structures cérébrales	68
2. Stress chronique et modifications mnésiques	70
3. Axe corticotrope et troubles de l'humeur	71
D. OBESITE, TROUBLES DE LA MEMOIRE ET DES EMOTIONS	72
1. Altérations mnésiques	72
2. Altérations émotionnelles	80
<u>IV. L'ADOLESCENCE, UNE PERIODE PARTICULIERE</u>	<u>85</u>
A. DEFINITION ET CARACTERISATION DE L'ADOLESCENCE	85
1. Chez l'Homme	85
2. Chez l'animal	86
B. L'ADOLESCENCE, UNE PERIODE DE MATURATION	87
1. Maturation des aspects neuro-comportementaux	87
a. Maturation globale du cerveau	87
b. Cortex préfrontal et contrôle cognitif	88
c. Hippocampe et mémoire épisodique	89
d. Amygdale et gestion des émotions	90
2. Maturation de l'axe corticotrope	92
3. Perturbations de la réponse inflammatoire	95
C. L'ADOLESCENCE, UNE PERIODE DE VULNERABILITE	97
<u>OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE</u>	<u>101</u>
<u>CHAPITRE 1</u>	<u>105</u>
<u>CONSEQUENCES DE LA CONSOMMATION D'UN REGIME HYPER-LIPIDIQUE A L'ADOLESCENCE SUR LES FONCTIONS HIPPOCAMPIQUES</u>	
Article 1: Juvenile, but Not Adult Exposure to High-Fat Diet Impairs Relational Memory and Hippocampal Neurogenesis in Mice.	107
Article 2: Impairment of Hippocampal-dependent Memory Induced by Juvenile High-Fat Diet Intake is Associated with Enhanced Hippocampal Inflammation in Rats.	115

CHAPITRE 2	133
<hr/>	
CONSEQUENCES DE LA CONSOMMATION D'UN REGIME HYPER-LIPIDIQUE A L'ADOLESCENCE SUR LES FONCTIONS AMYGDALIENNES	
<hr/>	
Article 3: Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids	135
<hr/>	
DISCUSSION GENERALE	159
<hr/>	
Vulnérabilité de la période adolescente	161
Altérations hippocampiques et mécanismes impliqués	164
Facteurs influençant les effets du régime HL sur la mémoire	164
Effets du régime HL sur les altérations cellulaires et la plasticité	166
L'inflammation, un mécanisme potentiel des effets du régime HL	168
Altérations amygdaliennes et mécanismes impliqués	172
Effets du régime HL sur les mémoires aversives	172
Consolidation et glucocorticoïdes	173
Médiateurs des effets des GC au niveau cellulaire	174
Vers un schéma général des effets du régime HL	176
Effet bidirectionnel du régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale	176
Effets sur les interactions entre les deux systèmes	177
Effets temporel sur régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale	178
Schéma général	180
<hr/>	
CONCLUSION ET RESUME DES PRINCIPALES PERSPECTIVES	181
<hr/>	
LABORATOIRE D'ACCUEIL ET COLLABORATIONS	183
LISTE DES PUBLICATIONS	185
LISTE DES ABREVIATIONS	187
LISTE DES FIGURES ET TABLES	189
<hr/>	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	191
<hr/>	

Introduction générale

I. Obésité, régimes hyper-lipidiques et métabolisme

A. L'obésité chez l'Homme

I. Définition et caractérisation

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le surpoids et l'obésité comme étant 'une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé'. L'utilisation de l'indice de masse corporelle (IMC) est un moyen simple et standardisé permettant d'estimer cette accumulation de graisse chez l'individu. Il est calculé en divisant le poids de la personne par le carré de sa taille (kg/m^2). Lorsque l'indice obtenu est compris entre 18.5 et 25kg/m^2 , la personne est considérée comme ayant une corpulence normale. En revanche, lorsque cet indice est compris entre 25 et 30kg/m^2 , on considère que la personne est en surpoids. Un IMC supérieur à 30kg/m^2 est l'indicateur d'une obésité, pouvant être modérée (IMC compris entre 30 et 35kg/m^2), sévère (35 à 40kg/m^2) ou morbide (IMC supérieur à 40kg/m^2 , OMS, 2013).

Bien que préconisé par l'OMS, car utile pour mesurer le surpoids et l'obésité dans une population (la valeur obtenue étant comparable entre les individus), l'IMC reste un outil de mesure du rapport poids/taille ne reflétant pas précisément le degré d'adiposité (ou l'accumulation de graisse) de l'individu. En effet, alors qu'un poids excessif donnera un IMC élevé classant l'individu comme obèse, il n'y a pas de stricte équivalence entre poids et obésité, puisque le poids d'un individu englobe, outre sa masse grasse, le poids de ses tissus osseux, musculaires, ainsi que de l'eau présente dans son organisme.

D'autres indicateurs de surpoids présentent l'avantage de tenir compte plus spécifiquement de l'accumulation de graisse au lieu du poids total des individus. C'est le cas du rapport entre le tour de taille et le tour de hanches (RTH : ratio taille/hanches). Ce rapport prend en compte le profil de répartition de la masse grasseuse, qui diffère selon le sexe de l'individu. En effet, les femmes en surpoids présentent un profil dit gynoïde, avec une accumulation de graisse au niveau des hanches, des fesses et des cuisses (forme de poire) tandis que les hommes ont un profil dit androïde, avec accumulation de graisse au niveau de l'abdomen et de la poitrine (forme de pomme). La disposition androïde de masse grasse, et en particulier l'accumulation de tissu adipeux viscéral, est un important facteur de risque pour les co-morbidités associées à

l'obésité (décrites dans le chapitre I.A.4). En revanche l'obésité gynoïde, et l'accumulation de tissu adipeux sous-cutané est moins délétère (Blouin *et al.*, 2008; Shi & Clegg, 2009).

2. Prévalences et causes

Premièrement considérée comme un problème restreint aux pays à revenus élevés, l'obésité est actuellement pandémique (voir Figure 1). En effet, sa prévalence ne cesse d'augmenter, notamment dans les zones urbaines des pays à revenus faibles et moyens. Ainsi, le nombre de cas d'obésité a doublé depuis 1980 à l'échelle mondiale, et les dernières estimations de l'OMS, en 2008, font état de plus de 1.4 milliard d'adultes (plus de 20 ans) en surpoids, dont 500 million d'obèses. En France, le nombre d'obèses a été multiplié par plus de 1.6 en 10 ans (passant d'environ 4000 000 obèses en 2000 à environ 7000 000 en 2012), et on recense actuellement plus de 30% de personnes en surpoids auxquels s'ajoutent 15% d'obèses dans la population française adulte.

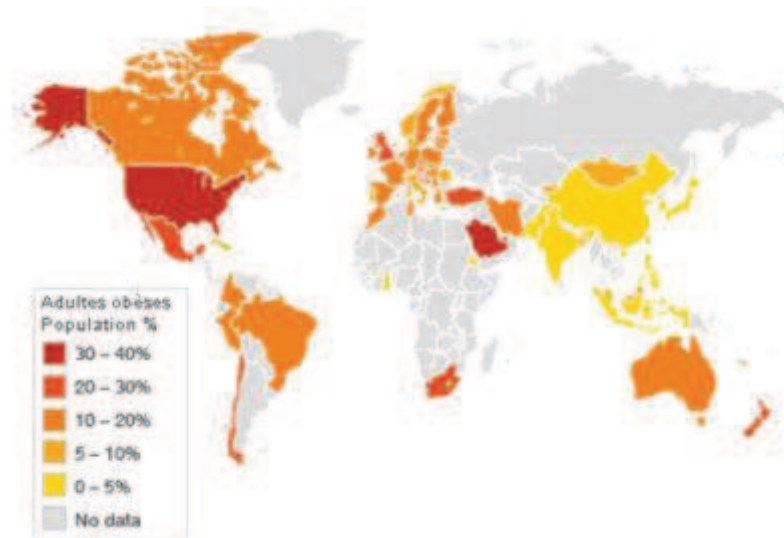


Figure 1 : Représentation mondiale du nombre d'adultes obèses en pourcentage de la population adulte (OMS, 2013).

Chez l'enfant, la prévalence du surpoids s'accroît à un rythme encore plus alarmant au niveau mondial. Le nombre d'enfants de moins de 5 ans en surpoids a été multiplié par 2 en seulement 5 ans (passant de 20 millions en 2005 à 40 millions en 2011). Or les enfants et adolescents obèses risquent fortement de le rester à l'âge adulte (dans 80% des cas) et sont plus susceptibles de manifester des co-morbidités liées à l'obésité à un âge précoce (Shield & Summerbell, 2008). Le surpoids étant en grande partie évitable, la prévention de l'obésité chez les enfants et les adolescents apparaît comme l'un des plus grands défis actuels pour la santé publique (OMS).

Les causes de l'obésité sont nombreuses et multifactorielles. Si la régulation de certains gènes, comme ceux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire (tels les gènes codant pour la leptine, l'insuline, ou le neuropeptide Y, voir chapitre I.A.3) peuvent expliquer des différences de corpulence, la prévalence actuelle de l'obésité ne peut être imputée à ces seuls facteurs génétiques (Yang *et al.*, 2007).

La cause fondamentale avancée pour expliquer l'augmentation drastique du surpoids au niveau mondial est un déséquilibre énergétique entre les calories consommées et celles dépensées. En effet, suite aux changements sociaux, économiques et culturels vécus par les populations à travers le monde, les habitudes alimentaires ont évolué vers une plus grande consommation d'aliments hyper-calorifiques (riches en lipides et en sucres simples). Le mode de vie actuel favorise notamment la prise de repas de type 'cafétéria', 'fast-food' et 'à emporter', surtout chez les adolescents, ainsi que la déstructuration des repas, avec consommation d'aliments à forte valeur énergétique en dehors des repas (Jaworowska *et al.*, 2013).

Cependant, il est important de noter que cette surconsommation énergétique n'est pas, à elle seule, la cause de l'augmentation du surpoids. En effet, on constate actuellement une réduction des apports énergétiques journaliers, et la prise alimentaire n'est pas toujours directement corrélée avec le surpoids (la fréquence des prises alimentaires chez les enfants étant plutôt associée à un faible poids, Kaisari *et al.*, 2013). En revanche, on note une diminution drastique de l'activité physique due à la sédentarisation et l'urbanisation des populations, entraînant une diminution des dépenses énergétiques (Oppert & Charreire, 2012). C'est donc la conjugaison de ces deux facteurs, les apports énergétiques restant supérieurs aux dépenses, qui est responsable de l'augmentation du surpoids, en se traduisant par une balance énergétique déséquilibrée (Poulain, 2004; Hill *et al.*, 2012).

Par ailleurs, avec une même alimentation et une même pratique physique (soit un même environnement), la prise de poids varie selon les individus et dépend notamment de leur métabolisme (flore microbienne, perturbateurs endocriniens...). La vulnérabilité au développement de l'obésité repose donc clairement sur l'interaction entre plusieurs facteurs, tels les gènes et l'environnement (Speakman & O'Rahilly, 2012).

De plus, le rythme de vie dans les sociétés actuelles se traduit par une augmentation du stress ressenti. Nous détaillerons dans le chapitre II.B.2 comment le stress peut favoriser la prise de poids, de part les actions sur le métabolisme des hormones sécrétées, ainsi qu'en engendrant une réorientation alimentaire vers des aliments gras et sucrés (théorie de la *comfort food*).

Enfin, les personnes obèses présentent un phénotype alimentaire différent des non-obèses, en ce sens qu'ils ont un comportement impulsif envers la nourriture, une tendance à ressentir la faim, un désir de manger et un plaisir à manger plus important, et ce dès le plus jeune âge. Cela va entraîner un gain de poids continu chez ces personnes (Schag *et al.*, 2013; Thomas *et al.*, 2013). Or le comportement alimentaire et le choix des aliments sont influencés par l'environnement social, incluant notamment le comportement des parents (French *et al.*, 2012). De plus, le surpoids maternel engendre, au niveau périnatal, des modifications épigénétiques du métabolisme des enfants, induisant une plus forte prise de poids (Heitmann *et al.*, 2012). Ainsi, l'obésité pourrait se transmettre au travers des générations, en ce sens que le surpoids parental et les habitudes alimentaires favoriseraient le surpoids des enfants.

3. Rappels sur la régulation de la prise alimentaire

L'adaptation de la prise alimentaire en fonction des dépenses énergétiques permet de conserver un poids corporel stable au cours du temps, et de maintenir l'individu dans un état d'homéostasie énergétique. Le comportement alimentaire comprend une phase pré-prandiale, caractérisée par la sensation de faim, qui aboutit à la recherche et à la sélection de nourriture. S'en suit la phase prandiale, correspondant à l'ingestion des aliments et au processus progressif de rassasiement. Enfin la phase post-prandiale, lors de laquelle a lieu la digestion, est caractérisée par l'état de satiété dont la durée détermine l'intervalle entre chaque prise alimentaire. La régulation du comportement alimentaire se fait par l'intégration de nombreuses informations dans le cerveau, tels les contraintes internes (stocks et dépenses énergétiques) et externes (accès aux ressources alimentaires), afin de permettre le maintien de l'homéostasie énergétique.

Dans le cas de l'obésité, une dérégulation de la balance énergétique a lieu, engendrant une prise alimentaire non-adaptée aux dépenses énergétiques, et résultant en une prise de poids. Nous ne détaillerons pas la complexité des mécanismes impliqués dans la régulation ou la dérégulation de la prise alimentaire dans cette thèse. En revanche nous évoquerons rapidement 3 médiateurs clefs de ces comportements (l'insuline, la leptine et la ghréline).

Au niveau cérébral, le contrôle de la prise alimentaire a notamment lieu au niveau du tronc cérébral et de l'hypothalamus. Le noyau du tractus solitaire (NTS) du tronc cérébral reçoit des afférences sensorielles gustatives et viscérales, et le noyau arqué de l'hypothalamus abrite des circuits neuronaux orexigènes (qui stimulent l'appétit) ou anorexigènes (qui inhibent

l'appétit). Ces réseaux sont activés par la ghréline, l'insuline et la leptine, et induisent respectivement un état d'appétit ou de satiété, permettant ainsi de moduler la prise alimentaire (Coll *et al.*, 2008; Stanley *et al.*, 2005; voir Figure 2).

L'insuline est sécrétée par le pancréas en réponse à la hausse de glycémie induite par la prise alimentaire. Elle agit sur ses récepteurs en périphérie (présents notamment dans le foie, le tissu adipeux et le muscle) et au niveau cérébral, notamment au niveau de son récepteur situé sur les neurones à proiomélanocortine (POMC) du noyau arqué. Elle est anorexigène, diminuant la prise alimentaire de manière dose dépendante.

La leptine est produite par le tissu adipeux de façon proportionnelle à la quantité de réserves énergétiques stockées. Si dans le cas d'une privation alimentaire, les taux circulants de leptine sont abolis, ils augmentent suite à la prise alimentaire et sont impliqués dans la sensation de satiété. La leptine agit sur son récepteur notamment au niveau des neurones anorexigènes POMC qu'elle active et sur les neurones orexigènes à neuropeptide Y (NPY) qu'elle inhibe. La leptine engendre donc une diminution de la prise alimentaire.

La ghréline, sécrétée par l'estomac et les intestins, active la prise alimentaire via son action sur les neurones NPY. Sa sécrétion diminue après l'ingestion de graisses ou de glucides.

On notera que l'ensemble de ces hormones peuvent moduler les neurones POMC et NPY en jouant sur leurs récepteurs. Dans le cas de l'obésité, ou du syndrome métabolique, l'augmentation des taux circulants d'insuline et de leptine engendre une désensibilisation de leurs récepteurs et une résistance aux effets de ces hormones. Cela se traduit par une dérégulation de l'homéostasie alimentaire, et entraîne une augmentation de la prise alimentaire (Baskin *et al.*, 1999; Elmquist *et al.*, 1999; Yoshihara *et al.*, 2002).

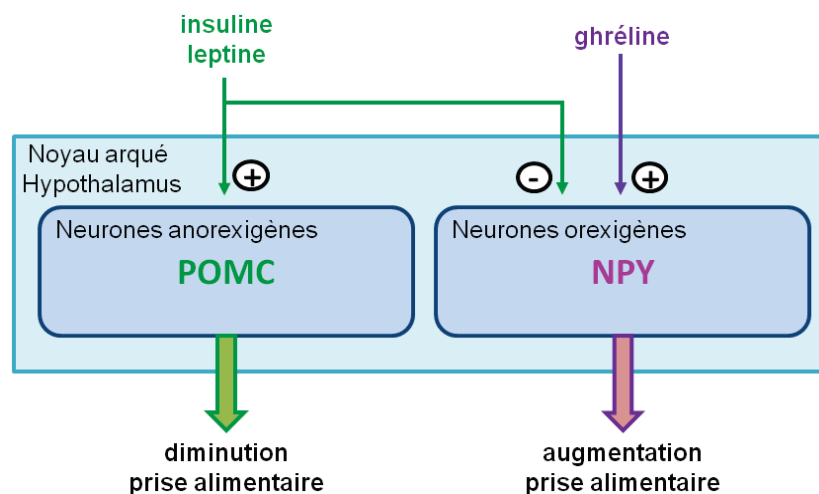


Figure 2 : Schéma simplifié de l'implication des 3 médiateurs clés de la régulation de la prise alimentaire. Les actions de l'insuline, de la leptine et de la ghréline, ainsi que leur rôle sur le comportement de prise alimentaire sont représentées.

En plus de cette régulation de la prise alimentaire, coordonnée par l'action des hormones que nous venons de lister au niveau de l'hypothalamus, il apparaît que les individus sont capables d'un apprentissage concernant les signaux alimentaires internes perçus, les indices externes de la présence de nourriture, et les conséquences de l'ingestion de nourriture sur ces signaux. Ces informations apprises guideraient, coordonneraient et exerceraient alors un contrôle sur la régulation du comportement alimentaire, pouvant même dépasser la régulation physiologique de la prise alimentaire. Ce contrôle alimentaire appris repose majoritairement sur l'hippocampe, structure permettant la détection et l'intégration des différents signaux alimentaires. En effet, des lésions hippocampiques, chez l'Homme (patients amnésiques) ou chez l'animal, résultent en l'incapacité pour l'individu d'inhiber sa prise alimentaire en réponse à son exposition à des indices alimentaires, même en l'absence de signaux internes induisant la prise alimentaire. Par exemple, les patients présentant des lésions hippocampiques à qui l'on présente des repas successifs peuvent les ingérer de manière consécutive, ne gardant pas le souvenir de l'ingestion du précédent repas (Higgs, 2005). De la même manière, chez l'animal, des lésions ou des inactivations de l'hippocampe engendrent une augmentation de la prise alimentaire et une diminution de l'intervalle entre les repas (Davidson *et al.*, 2009; Henderson *et al.*, 2013). Il apparaît donc que le souvenir d'avoir récemment mangé, mémoire sous-tendue par la région hippocampique, participe à la décision de ne pas consommer un nouveau repas.

Or, comme nous l'évoquerons plus tard dans cette introduction (chapitre III.D), la consommation de régimes hyper-lipidiques (HL) induit des déficits de la fonction hippocampique. Ces perturbations de la fonction hippocampique résulteraient alors en une dérégulation du contrôle de la prise alimentaire, conduisant au surpoids (Benoit *et al.*, 2010).

4. Co-morbidités associées à l'obésité

a. Conséquences métaboliques et co-morbidités associées

Le surpoids et l'obésité sont le cinquième facteur de risque de décès au niveau mondial, responsables de 2.8 millions de décès par an (OMS). De plus, ils représentent un facteur de risque pour le développement de nombreuses co-morbidités. Ainsi, il apparaît que 23% des maladies cardiovasculaires sont attribuables à l'obésité. Or ces maladies (regroupant les cardiopathies, l'hypertension artérielle et les accidents vasculaires) sont actuellement la 1ère cause mondiale de décès. L'hyper-cholestérolémie, l'hyper-glycémie (notamment

l'augmentation du taux de triglycérides sanguins) et l'hyper-insulinémie sont des facteurs de risque pouvant conduire au développement du diabète de type 2, dont 44% des cas sont imputables à l'obésité. Lorsqu'au minimum 3 de ces 5 symptômes sont présents chez le même individu (surpoids, hypertension, hyper-cholestérolémie, hyper-glycémie et hyper-insulinémie), on parle de syndrome métabolique. Le surpoids est aussi responsable d'une augmentation du risque de certains cancers, tels ceux de l'endomètre, du sein et du colon dont 10 à 40% des cas sont imputables à l'obésité. Enfin l'obésité engendre d'autres complications médicales, comme des troubles musculo-squelettiques, tel l'arthrose, fortement invalidante.

L'indice le plus prédictif du risque de manifester ces co-morbidités associées au surpoids n'est pas l'IMC, mais le RTH (Yusuf *et al.*, 2005; Dagenais *et al.*, 2005). En effet la probabilité de développer des complications secondaires à l'obésité est corrélée avec la distribution androïde de masse grasse et l'accumulation de tissu adipeux viscéral (par opposition au tissu adipeux sous-cutané, Matsuzawa *et al.*, 1995).

L'obésité chez les enfants et les adolescents est doublement délétère, en ce sens que l'âge d'apparition de l'obésité ainsi que sa durée sont deux facteurs de risque de manifester ces co-morbidités. En effet, 80% des enfants et adolescents obèses le resteront à l'âge adulte (Shield & Summerbell, 2008) et à contracter des complications associées à l'obésité dès un âge précoce, engendrant un risque accru d'incapacité et de décès prématuré.

b. Autres conséquences

Outre ces conséquences sur le métabolisme, l'obésité est aussi considérée comme un état inflammatoire chronique à bas bruit, et est associée à des dérégulations de l'axe corticotrope (voir chapitre II.A. et B.). De plus, il apparaît que les personnes en état d'obésité sont sujettes à manifester des troubles émotionnels et cognitifs (détails dans le chapitre III.D.).

B. Modèles de l'obésité chez le rongeur

Il existe de nombreux modèles de l'obésité chez le rongeur. Ces modèles peuvent être génétiques (obtenus par des modifications de gènes impliqués dans la régulation de la prise alimentaire) ou obtenus par l'alimentation. Nous présentons ici les plus couramment utilisés (Nilsson *et al.*, 2012).

I. Les modèles génétiques et leurs limites

a. La souris KK- A^y

La souche de souris KK est un modèle de résistance à l'insuline, qui se traduit par une obésité modérée et l'apparition de diabète. Les origines de ces troubles chez la souris KK sont polygénétiques. L'introduction de la mutation A^y (Agouti) affecte la régulation de la prise alimentaire et se traduit par une prédisposition pour l'obésité et le diabète. A l'âge adulte, 33% du poids de ces souris provient de leur masse grasse. Comme l'obésité de ces souris provient en partie d'une hyperphagie, la restriction alimentaire permet de rétablir un poids normal. Cependant, les souris KK- A^y présentent un phénotype incluant une hyperglycémie, une hyper-insulinémie et une intolérance au glucose, ce qui en fait plutôt un modèle du diabète de type 2 (Moroki *et al.*, 2013).

b. La souris *ob/ob*

Cette souche est apparue par mutation spontanée chez la souris C57/Bl6 dans les années 1950. Elle a permis la découverte de la leptine et de son rôle dans la satiété (Ingalls *et al.*, 1950). Ces souris n'expriment pas la leptine, ce qui résulte en une absence de satiété, donc une augmentation de la prise alimentaire. L'obésité observée chez ces souris est due à une augmentation de la lipogenèse, suivie du développement d'une hyperinsulinémie, puis d'une résistance à l'insuline, ce qui en fait un bon modèle d'étude de l'état pré-diabétique et du diabète. Le traitement de ces souris avec de la leptine permet de renverser leur phénotype (Lindstrom, 2010). Cependant, la majorité des cas d'obésité chez l'Homme se traduisent plutôt par une hyper-sécrétion de leptine et/ou une résistance à la leptine, et non par une absence de leptine.

c. La souris *db/db*

Dans les années 1960, une autre mutation spontanée apparaît chez la souris C57/Bl6. Il s'agit d'une mutation des récepteurs de la leptine (Hummel *et al.*, 1966). Les conséquences phénotypiques sont les mêmes que pour les souris *ob/ob*, avec une augmentation de la prise alimentaire, sous-tendant l'apparition d'une obésité plus importante. Les co-morbidités associées sont une hyperglycémie sévère, une insulino-résistance et un diabète de type 2 ainsi que des troubles cardio-vasculaires. De part la mutation de leurs récepteurs à la leptine, ces souris sont résistantes aux traitements par la leptine, et sont donc un modèle plus proche de l'obésité chez l'Homme.

d. Le rat Zucker

Le rat Zucker est couramment utilisé comme modèle d'obésité. La mutation du gène *fa* (fatty-gene), résulte en une obésité chez les homozygotes *fa/fa*, induite par une désensibilisation des récepteurs à la leptine (Phillips *et al.*, 1996). Ces rats deviennent alors hyperphagiques, et 40% de leur poids provient de la masse grasse. Ils développent certains aspects du syndrome métabolique, comme une résistance à l'insuline, mais pas d'hyperglycémie, ni de diabète. Ce modèle permet ainsi de séparer les effets du diabète de ceux de l'obésité.

e. Limites de ces modèles

Ces divers modèles génétiques sont utiles pour la compréhension des mécanismes de la mise en place de l'obésité et de ses co-morbidités. Cependant, l'obésité génétique est une pathologie rare chez l'homme (causant moins de 1% des cas d'obésité), et la pandémie actuelle d'obésité réside plus en une interaction entre patrimoine génétique et environnement (Nilsson *et al.*, 2012). Ces modèles génétiques ne permettent donc pas de modéliser l'obésité induite par la consommation de régimes hyper-caloriques.

De plus, dans la majorité de ces modèles, l'obésité est accompagné du syndrome métabolique, pouvant aller jusqu'à l'apparition du diabète de type 2. Ainsi, il devient impossible de dissocier les effets de l'obésité *per se* de celui de ces co-morbidités, en particulier du diabète dont on connaît notamment les effets sur la cognition et les troubles émotionnels.

2. Les modèles induits par l'alimentation

Le surpoids induit par la consommation d'un régime alimentaire hypercalorique représente un bon modèle de l'obésité humaine, de part sa similarité causale. En effet, chez l'Homme le surpoids est majoritairement la conséquence d'une dérégulation de la balance énergétique, induite notamment par la surconsommation d'aliments hypercaloriques. Ainsi, les modèles d'obésité induits par le régime alimentaire (DIO pour *diet-induced obesity*) sont largement utilisés. Nous détaillons ici les différents types de régimes et approches les plus répandues.

a. Les différents régimes hypercaloriques

Si tous les modèles de DIO reposent sur un excès de calories apportées par l'alimentation, les régimes utilisés sont variés en ce qui concerne la provenance et la quantité de ces calories. En général, les calories excédentaires de ces régimes proviennent d'un apport en lipides, ou en lipides et en glucides. Cependant les sources de ces apports restent variées, et pour un régime HL dont 42% des calories (Kcal) proviennent des lipides, l'effet obésogène sera plus important si les lipides proviennent du le lard ou de l'huile d'olive (apportant majoritairement des acides gras saturés et mono-insaturés, respectivement), que de l'huile de noix de coco ou de poisson (acides gras saturés et poly-insaturés, Buettner *et al.*, 2006). D'une manière générale, la présence d'acides gras saturés à longue chaîne d'origine animale semble être le facteur prédisposant le plus à l'accumulation de tissu adipeux viscéral (Milanski *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2002). Or c'est l'accumulation de ce tissu adipeux viscéral qui apparaît comme prépondérante dans l'apparition des co-morbidités associées à l'obésité (notamment en induisant une inflammation chronique à bas bruit, cf. chapitre II.A.2). On notera que les régimes les plus couramment utilisés pour induire le surpoids apportent des lipides sous la forme d'acides gras saturés d'origine animale (en général provenant du lard). Le pourcentage de Kcal en provenance des lipides va aussi varier entre les régimes. Ainsi, les deux régimes HL les plus couramment utilisés sont les régimes D12451 et D12492, de chez *Research Diets*, dont respectivement 45% et 60% des Kcal viennent des lipides. Concernant les glucides, on remarque dans la littérature l'utilisation de régimes riches en fructose et en sucrose. Les régimes combinant un apport calorique provenant des acides gras saturés et des glucides sont assez similaires au type d'alimentation hypercalorique chez l'Homme, et induisent un surpoids semblable aux effets d'un régime HL seul. Cependant, l'apport glycémique de ces régimes se traduit par l'apparition rapide du syndrome métabolique, et notamment de la résistance à l'insuline pouvant aboutir au diabète de type 2 (Couturier *et al.*, 2010). Le diabète

induisant *per se* l'apparition de co-morbidités similaires à celles obtenues dans le cadre de l'obésité, nous n'utiliserons pas ces régimes pour modéliser le surpoids *sensu stricto* et étudier ses conséquences chez l'animal.

Enfin, un autre type de régime utilisé pour induire le surpoids chez le rongeur est le régime dit '*cafeteria*', qui consiste à exposer l'animal à un mélange d'aliments palatables (chocolat, bacon, fromage, biscuits...). Ce régime présente l'avantage d'être appétissant pour l'animal et d'induire une augmentation de la prise alimentaire, mimant ainsi la surconsommation de ce type d'aliments observée chez l'Homme. Cependant, ce régime est compliqué à standardiser en ce qui concerne les apports nutritionnels afin d'apporter les micronutriments nécessaires et fournis par l'aliment de base des rongeurs (vitamines et minéraux).

On notera donc que le type de régime n'est pas crucial pour induire le surpoids. De plus, pour tous ces modèles de DIO, le traitement du surpoids par des agents pharmacologiques anti-obésogènes utilisés chez l'Homme est efficace, ce qui n'est pas le cas pour les modèles génétiques. Enfin, le choix du régime, et notamment le pourcentage de Kcal apporté par les lipides se traduit par l'induction plus ou moins forte et rapide des différents aspects du syndrome métabolique et notamment sur la tolérance au glucose et les niveaux d'insuline (Rosini *et al.*, 2012). Ainsi, chez le rat, l'exposition à un régime dont 50% des Kcal proviennent de lipides engendre une augmentation des taux circulants de triglycérides et de leptine (Martin *et al.*, 2007). Une exposition à un régime plus riche en lipides (60% de lipides) engendre une hyperglycémie, une hyper-cholestérolémie et une hyper-insulinémie, premiers symptômes de la résistance à l'insuline, pouvant conduire jusqu'au diabète de type 2 (Pathan *et al.*, 2008). Nous verrons, au cours de cette introduction, que l'obésité a des conséquences sur l'axe du stress, sur l'inflammation et sur la cognition. De manière intéressante, ces modèles d'obésité induite par le régime engendrent les mêmes conséquences.

b. Fonds génétiques couramment utilisés

Lors de l'exposition à ces divers régimes, il apparaît, chez le rongeur, deux phénotypes de prise de poids. Alors que certains individus prennent du poids suite à la consommation du régime, d'autres se maintiennent à un poids normal, présentant donc une résistance à l'induction de l'obésité par le régime proposé. Cette variation phénotypique se retrouve au niveau des souches et permet la catégorisation de souches vulnérables ou résistantes au DIO.

Chez la souris par exemple, la souche C57Bl6/J est considérée comme une souche vulnérable, tandis que la souris SJL/J exhibe un phénotype résistant au DIO (West *et al.*, 1992). Chez le rat, le Wistar et le Long-Evans sont vulnérables au surpoids induit par la consommation de régimes hypercaloriques tandis que le rat Lou/C y est résistant. Ainsi, par exemple, après environ 3 mois d'exposition à un régime hypercalorique, les rats Wistar pèsent approximativement 1.4 fois plus que les Wistar sous régime contrôle, ce qui témoigne de leur vulnérabilité à développer la prise de poids (Da Silva *et al.*, 2010).

Il apparait donc que le fond génétique puisse jouer un rôle dans la réponse de prise de poids suite à la consommation de régimes hypercaloriques. Cependant, si certaines souches présentent une majorité de phénotypes résistants, on note au sein même des souches dites 'vulnérables' ou 'résistantes' une variabilité inter-individuelle de prise de poids. Ainsi, contrairement aux modèles génétiques, l'utilisation d'un même régime engendre une prise de poids variable selon les individus, dans les modèles de DIO. Cette variabilité inter-individuelle modélise celle décrite chez l'Homme, la même alimentation engendrant différents degrés de surpoids selon les individus.

c. Choix d'un régime

Lors de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés aux effets d'un surpoids induit par la consommation d'un régime hyper-calorique, modélisant ainsi la dérégulation de la balance énergétique en augmentant le ratio apport/dépense, principale cause du surpoids actuellement observé dans nos sociétés.

Nous avons privilégié l'utilisation de régimes hypercaloriques uniquement hyper-lipidiques et standardisés, afin d'éviter d'induire une hyper-glycémie et *a fortiori* le diabète de type 2 chez nos animaux. De plus, ces régimes induisent une obésité modérée nous permettant d'être représentatifs d'une plus grande partie de la population actuelle. Néanmoins ce type de régime conduit déjà à l'apparition des troubles de l'axe du stress, de l'inflammation chronique à bas bruit et des troubles cognitifs liés à l'obésité et qui font l'objet de cette thèse.

Ainsi, nous avons privilégié une approche alimentaire induisant un surpoids par un apport hyper-lipidique modéré. Pour ce faire, nous avons décidé d'utiliser un régime standardisé et couramment utilisé dans la littérature, modélisant la consommation actuelle hyper-calorique chez l'Homme. Les deux régimes qui correspondent à cette description sont les régimes *D12451* et *D12492* de *Research Diets* (voir Table 1). Nous avons privilégié le régime le

moins drastique, c'est-à-dire le moins riche en calories totales, soit le régime *D12451*, qui a l'avantage d'apporter des calories venant des lipides, mais aussi de glucides simples et complexes (dans une moindre proportion), ce qui modélise plus fidèlement les apports caloriques actuels chez l'Homme, sans pour autant induire le diabète de type 2.

	<i>Regime C</i>	<i>D12451</i>	<i>D12492</i>
Composition	Kcal	Kcal	Kcal
Lipides	10%	45 %	60 %
Huile de soja	-	5 %	5 %
Lard	-	40 %	55 %
Glucides	68%	35 %	20 %
Amidon (maïs)	-	7 %	0 %
Matodextrine	-	11 %	12 %
Sucrose	-	17 %	8 %
Protéines	22%	20 %	20 %
Caséine	-	20 %	20 %
L-Cystine	-	> 0,5 %	> 0,5 %
Total Kcal/g	2,90	4,73	5,24

Tableau I : Composition en protéines, glucides et lipides des régimes contrôle A04 de chez SAFE, et des régimes *D12451* et *D12492* de chez Research Diets, tirés des tableaux des fournisseurs. Concernant le régime contrôle, les apports en Kcal par composants ne sont pas disponibles. Les apports en vitamines, minéraux et fibres sont les mêmes dans ces régimes et correspondent aux besoins des rongeurs.

Résumé

La pandémie actuelle d'obésité, principalement due à un dérèglement de la balance énergétique, est devenue un véritable enjeu de santé publique de part ses co-morbidités multiples.

L'obésité peut-être modélisée chez l'animal, notamment par l'exposition à un régime alimentaire hyper-calorique, qui engendre un surpoids, ainsi que des répercussions sur le métabolisme similaires à celles décrites dans le cadre de l'obésité chez l'Homme.

II. Obésité, inflammation et axe corticotrope

A. L'obésité, un état d'inflammation à bas bruit

I. L'inflammation en conditions physiologiques

a. L'immunité innée et adaptative

Le système immunitaire est un système complexe assurant la protection contre les pathogènes et permettant le maintien de l'intégrité de l'individu. Il discrimine les molécules du 'soi' et du 'non-soi', ou antigènes. Ainsi, s'il reconnaît et tolère les cellules du 'soi', une réaction de défense sera activée en présence d'antigènes, visant à leur élimination de l'organisme. L'immunité innée, première ligne de défense, est activée à chaque infiltration de pathogènes dans le corps, et suffit à résoudre la majorité des infections, grâce aux cellules phagocytaires (monocytes, macrophages et neutrophiles), qui neutralisent les antigènes par phagocytose.

Si le système de l'immunité innée ne suffit pas à combattre l'infection, une réponse immunitaire adaptative se met en place. Les lymphocytes sont alors activés. Les lymphocytes B produisent des anticorps spécifiques de l'antigène, permettant la mise en place d'une mémoire immunitaire durable. Le complexe anticorps-antigène est ensuite reconnu et phagocyté par les macrophages. En parallèle, les lymphocytes T cytotoxiques vont permettre la suppression des cellules infectées, et les lymphocytes T auxiliaires sécrètent des protéines permettant le recrutement et l'activation des autres cellules immunitaires.

b. La réaction de phase aigue

L'activation de l'immunité innée se traduit par un ensemble de mécanismes de défense appelés réaction de phase aigue. Ces modifications physiologiques adaptatives permettent de limiter la progression de l'infection, en isolant et neutralisant les agents pathogènes, en minimisant les dommages tissulaires, et en activant les processus de réparation, afin de rétablir l'état initial sain de l'organisme.

La réaction de phase aigue comprend une composante locale, une composante systémique et une composante centrale, et fait appel à des médiateurs protéiques solubles, les cytokines (Baumann & Gauldie, 1994). Brièvement, les cytokines vont être synthétisées et libérées localement au niveau du site d'inflammation (composante locale). Puis elles vont diffuser dans l'organisme par l'intermédiaire de la circulation sanguine (composante systémique) et

permettre la mise en place d'un système de défense périphérique dès les premières heures qui suivent l'infection, dont le rôle est d'éviter la propagation de l'agent pathogène dans l'organisme. Les cytokines agissent aussi au niveau central (composante centrale). Nous détaillerons uniquement cette dernière composante.

c. Les cytokines

Les cellules de l'immunité innée (notamment les macrophages) reconnaissent les motifs moléculaires présents à la surface des agents pathogènes. Leur liaison aux récepteurs spécifiques des macrophages active les voies de signalisation intracellulaires contrôlant la transcription de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire et la synthèse de cytokines (Janeway & Medzhitov, 2002).

Les cytokines sont des protéines qui coordonnent la réaction de phase aiguë. Ce sont des polypeptides de masse moléculaire comprise entre 6 et 70 kDa en général. On y trouve principalement les interleukines (IL-) les facteurs de nécrose tumorale (TNF), les interférons (IFN) et les chimiokines (cytokines chimio-attractantes). Les principales cytokines inflammatoires impliquées dans la réaction de phase aiguë sont l'IL-1 β , l'IL-6, et le TNF α , qui exercent leurs effets de façon synergique et souvent redondante. Ainsi l'IL-1 β , l'IL-6, et le TNF α modulent l'action des lymphocytes en favorisant leur production, leur maturation, leur différenciation et leur activation ; l'IL-1 β et l'IL-6 sont impliquées dans la production des protéines de phase aiguë comme la CRP (Protéine C-réactive ou *C-reactive protein*) et l'IL-1 β et le TNF α stimulent leur propre synthèse par les macrophages, ainsi que la production d'IL-6 et de la chimiokine MCP-1 (protéine chimio-attractante des monocytes, ou *monocyte chemoattractant protein-1*, Brouckaert *et al.*, 1993; Dinarello *et al.*, 1987; Eklund, 2009; Libert *et al.*, 1990).

La réaction inflammatoire est ensuite régulée par l'activité de cytokines anti-inflammatoires, telles l'IL-4 et l'IL-10, qui inhibent la production des cytokines pro-inflammatoires par les monocytes et les macrophages. L'IL-6 peut aussi être considérée comme anti-inflammatoire par son activité de réduction de la production de TNF α en réponse à certains antigènes. L'activité des cytokines pro-inflammatoires est aussi atténuée par la production d'antagonistes par l'organisme, comme l'IL-1ra (antagoniste du récepteur à l'IL-1 β) ou de récepteurs leurres (forme soluble inactive du récepteur du TNF α).

Enfin, les cytokines sont également à l'origine d'une boucle de rétro-inhibition mettant en jeu l'axe corticotrope, induisant la libération de glucocorticoïdes qui sont de puissants

inhibiteurs de la production de cytokines (Silverman & Sternberg, 2012). Cette interaction entre cytokines et glucocorticoïdes sera détaillée dans le chapitre II.C.

Ainsi dans des conditions physiologiques, la sécrétion de cytokines est massive et transitoire, ne dépassant pas 24 à 48h.

d. Inflammation et cerveau

- Le système immunitaire central

Le cerveau à longtemps été considéré comme un organe isolé au point de vue immunologique, puisque la barrière hémato-encéphalique (BHE) empêche le passage des cellules immunitaires depuis la périphérie vers le cerveau.

Le cerveau possède donc son propre système immunitaire, activé en cas d'infection périphérique ou centrale. On retrouve notamment des récepteurs aux agents pathogènes (récepteurs de type toll, TLR) au niveau des cellules endothéliales et dans les structures cérébrales proches des ventricules (où la BHE est plus perméable). Leur liaison avec un antigène va engendrer la réaction inflammatoire au niveau central, ou neuro-inflammation. Cela se traduit par le recrutement des cellules microgliales, macrophages résidents du cerveau, et des astrocytes. Ces deux types cellulaires vont sécréter des facteurs inflammatoires, et notamment les cytokines, qui vont induire leur prolifération et de leur recrutement au niveau du site d'infection (Ladeby *et al.*, 2005).

Enfin, l'infiltration de cellules immunitaires périphériques est rendue possible au niveau du site d'infection, par la perturbation de l'intégrité de la BHE, ainsi que par la sécrétion de facteurs chimio-attractants par la microglie.

- Composante centrale de la réaction de phase aigue

Les cellules immunitaires du cerveau sont donc capables de percevoir la présence d'antigènes, et d'activer une réaction inflammatoire en réponse à leur détection. De plus, le signal immunitaire périphérique permet l'activation de la réponse immunitaire au niveau central (Konsman *et al.*, 2002; Quan & Banks, 2007).

En effet, les cytokines périphériques peuvent agir de manière directe sur le système nerveux central. Si la BHE permet d'isoler le cerveau, et bloque le passage de certains composés depuis la circulation sanguine vers le cerveau, il a été démontré que les cytokines, notamment l'IL-1 β , l'IL-6 et TNF α , peuvent entrer dans le cerveau par un transport actif saturable spécifique au niveau des cellules endothéliales de la BHE (Banks *et al.*, 1995). Une

fois dans le cerveau, ces cytokines vont pouvoir se lier à leurs récepteurs, présents sur les neurones et les cellules gliales (Parnet *et al.*, 2002; Rothwell *et al.*, 1996). La microglie va alors s'activer, devenir phagocytaire, et sécréter des cytokines (Kettenmann *et al.*, 2011; Nakamura, 2002). Ainsi, la composante centrale de la réaction de phase aigue consiste en l'induction de la synthèse de cytokines cérébrales par les cytokines périphériques.

En plus du système de transport actif des cytokines, il existe des zones où la BHE est plus perméable. C'est notamment le cas au niveau des ventricules cérébraux, où de larges espaces périvasculaires permettent la diffusion de molécules (Gross, 1992). Ainsi, les cytokines périphériques peuvent passer de la circulation sanguine aux zones cérébrales environnantes (les organes circum-ventriculaires, comme l'hippocampe) et diffuser à proximité de la BHE. Elles vont ainsi atteindre et activer les cellules microgliales et les macrophages périvasculaires (Konsman *et al.*, 2002). Cela va se traduire par la synthèse de cytokines et de facteurs chimio-attractants (MCP-1) contribuant au recrutement local de la microglie et des macrophages, ainsi qu'à l'infiltration de monocytes dans le cerveau (D'Mello *et al.*, 2009).

Enfin, la transmission du signal de l'inflammation périphérique vers le cerveau peut aussi se faire par l'intermédiaire du nerf vague. En effet, l'IL-1 β produite par les macrophages présents dans le tissu conjonctif entourant le nerf vague pourrait stimuler les récepteurs des neurones sensoriels de ce nerf (Goehler *et al.*, 1999). Les afférences vagues projetant vers le noyau du tractus solitaire permettraient alors d'activer de nombreuses structures cérébrales en réponse à l'inflammation (notamment le noyau para-ventriculaire de l'hypothalamus, Elmquist & Saper, 1996).

- Cytokines et comportement

L'action des cytokines au niveau cérébral est responsable de l'apparition de comportements adaptés, regroupés sous le terme de comportement de maladie (Dantzer *et al.*, 2008). Ces comportements sont nécessaires au retour à l'homéostasie et au rétablissement de l'organisme. Les cytokines peuvent aussi moduler la cognition, ce qui fera l'objet du chapitre III.B.

2. *L'inflammation en conditions d'obésité*

a. *L'obésité, un cas d'inflammation chronique à bas bruit*

Alors que dans le cas d'une infection, l'inflammation est aiguë, transitoire et permet le retour à l'homéostasie, il existe des cas où l'état inflammatoire s'installe et persiste. La sécrétion de cytokines est moins élevée que dans le cas d'une infection, mais elle est constante, et résulte en une inflammation chronique dite à bas bruit.

L'obésité est un de ces cas, et est qualifiée d'état inflammatoire chronique à bas-bruit. En effet, on observe une plus forte concentration sanguine de facteurs inflammatoires chez les obèses que chez les individus de poids normal (CRP, les cytokines pro-inflammatoires TNF α et Il-6 Hansen *et al.*, 2010; Olszanecka-Glinianowicz *et al.*, 2004; Visser *et al.*, 1999).

De manière intéressante, une perte de poids engendre une diminution de la sécrétion de ces facteurs, qu'elle soit induite par un régime alimentaire ou par une intervention chirurgicale bariatrique, visant à limiter l'absorption de nutriments (Belza *et al.*, 2009; Clement *et al.*, 2004; Cottam *et al.*, 2004; Illan Gomez, 2012). L'inflammation observée chez les obèses est donc directement liée à leur surpoids. Cependant, l'IMC n'apparaît pas être un bon indicateur de l'état inflammatoire. En revanche, le RTH et les mesures tenant compte de l'obésité viscérale sont prédictifs de l'état inflammatoire du sujet (Brooks *et al.*, 2010; Thewissen *et al.*, 2011). L'accumulation de tissu adipeux viscéral serait donc liée à l'état inflammatoire du sujet.

En effet, le tissu adipeux blanc est à l'origine de la sécrétion de marqueurs inflammatoires. Les adipocytes, principaux constituants cellulaires de ce tissu, régulent le mécanisme énergétique en permettant de stocker l'énergie sous forme de triglycérides, ou de la libérer sous forme d'acides gras. Pour ce faire, ils sécrètent différents composés, les adipokines, notamment la leptine, le TNF α et l'Il-6 (Tilg & Moschen, 2006). La leptine, dont le premier rôle est anorexigène (voir chapitre I.A.3.), fait partie de la famille de l'Il-6, et peut induire la sécrétion d'autres cytokines par le système immunitaire (monocytes et macrophages, Kwon & Pessin, 2013). Or l'obésité induit des modifications de la morphologie et de la fonction sécrétrice des adipocytes, de part l'hypertrophie et l'hyperplasie adipocytaire (Batchelor 1976 *et al.*, voir Figure 3). L'augmentation de la sécrétion d'adipokines (MCP-1 et leptine) par les adipocytes engendre le recrutement de macrophages ainsi que l'activation des macrophages déjà présents au niveau du tissu adipeux (Oh *et al.*, 2012). Ces macrophages sécrètent à leur tour des facteurs inflammatoires (MCP-1, TNF α et Il-6), ce qui engendre l'intensification du

recrutement de nouveaux macrophages. Ainsi, la production de facteurs inflammatoires, le recrutement de macrophages et l'altération de la fonction adipocytaire sont entretenus, conduisant au maintien d'une inflammation chronique à bas bruit (Patel *et al.*, 2013; Wellen & Hotamisligil, 2003).

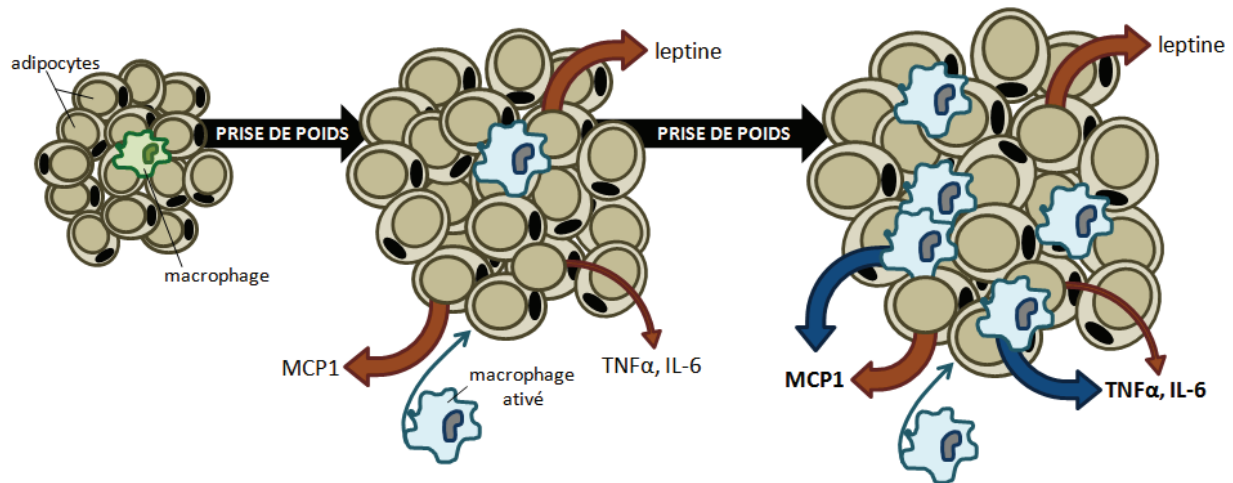


Figure 3 : Sécrétion d'adipokines et recrutement des macrophages par le tissu adipeux en condition d'obésité. La grosseur des flèches indique l'importance de la sécrétion des différentes molécules par les types cellulaires respectifs. Inspiré de Wellen et Hotamisligil, 2003

Cependant, l'état inflammatoire observé chez les obèses peut aussi avoir une autre origine que le tissu adipeux. En effet, la composition du microbiote intestinal peut participer au contexte inflammatoire de l'obésité. On sait que la composition de la flore intestinale pourrait prédisposer à l'obésité (Backhed *et al.*, 2004; Backhed *et al.*, 2007; Ley *et al.*, 2006) et que la consommation de régimes riches en lipides est capable de moduler la composition de cette flore, et notamment de favoriser le développement de bactéries Gram- (Cani & Delzenne, 2007). Or le LPS, constituant de la paroi de ces bactéries, est un agent inflammatoire reconnu par les cellules de l'immunité innée (Neal *et al.*, 2006). Ces endotoxines pourraient donc entretenir l'état d'inflammation chronique à bas bruit lié à l'obésité. Par ailleurs, ces endotoxines pourraient aussi entretenir l'obésité, l'induction expérimentale d'une endotoxémie au LPS induisant une prise de poids (Cani *et al.*, 2007).

b. Lien entre inflammation du tissu adipeux et inflammation circulante et centrale

L'augmentation de la sécrétion de cytokines par le tissu adipeux (Il-6, TNF α et leptine) a pu être reliée à une augmentation de la CRP et de la leptine dans la circulation (Fontana *et al.*, 2007; Maachi *et al.*, 2004). De plus, les concentrations de MCP-1 dans le tissu adipeux et dans la circulation sont corrélées (Christiansen *et al.*, 2005). Cependant, l'inflammation systémique chez les obèses pourrait aussi provenir de la diffusion du LPS en provenance du microbiote intestinal dans la circulation sanguine (Cani *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2012), et n'aurait alors pas de lien direct avec l'inflammation du tissu adipeux viscéral.

Chez l'animal, la consommation de régimes HL engendre, en plus de l'obésité, une inflammation chronique à bas bruit, caractérisée par des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires (TNF α) et de protéines associées à l'inflammation (comme le TLR4) dans le tissu adipeux (Cunha *et al.*, 2013) ainsi qu'une augmentation des cytokines (TNF α , Il-1 β et Il-6) au niveau cérébral, notamment dans l'hypothalamus (De Souza *et al.*, 2005; Velloso *et al.*, 2008).

Il apparait donc que l'inflammation chronique à bas bruit observée dans le cadre du surpoids se retrouve dans le tissus adipeux, mais aussi dans la circulation et au niveau central.

c. Conséquences de l'inflammation chronique à bas bruit due à l'obésité

L'obésité, associée a une augmentation de la sécrétion de cytokines, à aussi été corrélée à une perturbation de la réponse immunitaire. La sensibilité à certains pathogènes serait exacerbée, via une modulation de l'activation des lymphocytes T inflammatoires (Goossens *et al.*, 2012; Lord *et al.*, 1998). L'inflammation dans le cadre de l'obésité induit aussi la plupart des co-morbidités associées à l'obésité que nous avons décrites précédemment. Ainsi le risque d'apparition de maladies cardiovasculaires (Mattu & Randeve, 2013; Tchernof & Despres, 2013), du diabète de type 2 (Shu *et al.*, 2012), du syndrome métabolique (Goran & Alderete, 2012) ainsi que de certains cancers (Gilbert & Slingerland, 2013; Gu *et al.*, 2013) sont liés à l'état inflammatoire des individus. Cependant, les rôles respectifs du surpoids et de l'inflammation dans l'induction de ces co-morbidités ne sont pas clairement élucidés (Johnson *et al.*, 2012). Enfin, comme nous le détaillerons dans le chapitre III.B., les cytokines peuvent aussi moduler la cognition, et apparaitre comme un mécanisme potentiel pouvant expliquer le lien entre obésité et troubles cognitifs (voir chapitre III. D)

B. Obésité et dérégulation de l'axe corticotrope

I. L'axe corticotrope en conditions physiologiques

a. Activation de l'axe corticotrope

L'axe corticotrope (axe HPA pour *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*) est un système neuroendocrinien. Il est composé de 3 structures principales, l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales (Lupien *et al.*, 2009 ; voir Figure 4). L'hypothalamus, et plus précisément le noyau para-ventriculaire (PVN) de l'hypothalamus est le point de départ de l'activation de l'axe HPA. Il est le centre intégrateur de l'axe et reçoit des afférences provenant des centres supérieurs, et notamment du cortex préfrontal, de l'hippocampe et de l'amygdale (Herman *et al.*, 2003). Au niveau physiologique, cet axe s'active de manière autonome en suivant un rythme circadien, mais aussi suite à certaines stimulations engendrant une modification de l'homéostasie (sommeil, prise alimentaire...). De plus, un stress qu'il soit systémique (ou homéostatique, c'est-à-dire provenant de stimuli physiques, comme par exemple, le froid, l'hypoxie, une hémorragie ou un malaise gastrique) ou bien psychogénique (ou psychologique, c'est-à-dire nécessitant une intégration et une interprétation des stimuli sensoriels, ex : stress de contrainte, stress social, peur) va engendrer une forte activation de l'axe HPA.

Lors de l'activation de l'axe HPA, les neurones du PVN vont sécréter l'arginine vasopressine (AVP), responsable de la libération de la corticolibérine (CRH, pour *Corticotropin Releasing Hormone*). La CRH va rejoindre les capillaires sanguins irriguant l'antéhypophyse et va agir sur ses récepteurs spécifiques. Cela va activer la sécrétion d'hormone adrénocorticotrope (ACTH) par l'antéhypophyse. L'ACTH est libérée dans la circulation sanguine et va agir au niveau des cellules du cortex des glandes surrénales pour activer la synthèse de glucocorticoïdes (GC, majoritairement le cortisol chez l'Homme et la corticostérone chez le rongeur), d'adrénaline et de noradrénaline. Ces hormones vont induire la réponse adaptative de l'organisme au stress, en augmentant la vigilance et l'attention, ainsi qu'en favorisant l'oxygénation du cerveau, du cœur et des muscles. Elles permettent également une prise de décision concernant la stratégie à adopter face au stress, de type 'combattre ou fuir' (fight or flight, Cannon, 1935).

Il faut noter que l'activation du PVN, qui est le centre intégrateur de l'axe, par un stress est modulée par le CPFm, l'amygdale et l'hippocampe (Herman *et al.*, 2003). En particulier, la région ventrale (infralimbique) du CPFm, le noyau médian (MeA) et le noyau basolatéral (BLA) de l'amygdale activent le PVN en réponse à un stress psychogénique. Le noyau central

de l'amygdale (CeA) active le PVN en réponse à un stress systémique (Ulrich-Lai & Herman, 2009). L'hippocampe inhibe de façon « tonique » le PVN. Lors d'un stress, la levée de cette inhibition se traduit donc par l'activation de l'axe HPA. A l'inverse la région dorsale du CPFm (comprenant le cortex prélimbique) inhibe la réponse de l'axe HPA lors de la perception d'un stress psychogénique (Ulrich-Lai & Herman, 2009). L'impact de ces structures sur le PVN se ferait par l'intermédiaire de relais, comme le noyau du lit de la strie terminale (BNST), les connexions directes entre ces structures étant peu nombreuses (Ulrich-Lai & Herman, 2009). En intégrant les informations provenant de l'amygdale et de l'hippocampe, le CPFm aurait un rôle hiérarchique clef dans l'initiation de la réponse au stress par l'axe HPA.

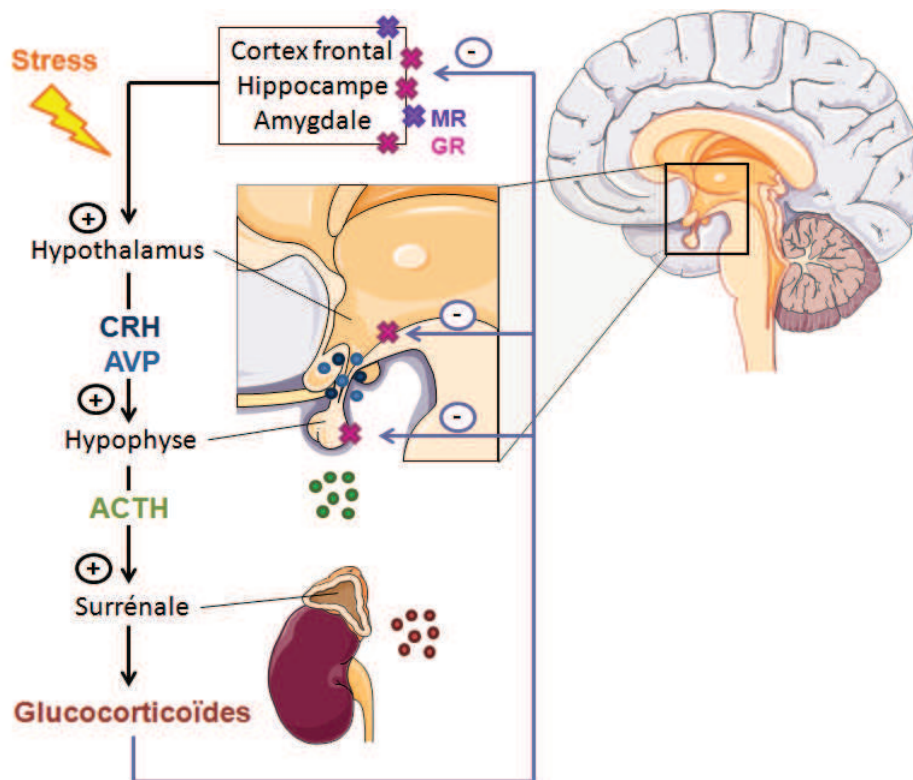


Figure 4 : Fonctionnement simplifié de l'axe corticotrope. L'activation (+) de la sécrétion de GC suite à un stress est représentée à gauche de l'axe, et le rétrocontrôle par les GC (-) sur les différentes structures de l'axe est représenté à droite de l'axe. Inspiré de Lupien *et al.*, 2009.

b. Circulation et action des glucocorticoïdes

Une fois libérés dans la circulation sanguine, les GC se lient pour 80-90% à la transcortine (ou CBG, *Corticosteroid Binding Globulin*) qui présente une forte affinité mais une faible capacité de rétention des GC. L'albumine, qui présente une faible spécificité mais une grande

capacité de rétention des GC en fixe environ 15%. Cette forme liée des GC est inactive, et constitue une réserve plasmatique bio-disponible de l'hormone. Les 5-10% restants des GC circulants restent libres, et représentent la forme active de l'hormone (Breuner & Orchinik, 2002; Mendel, 1989).

Ce sont ces GC libres qui vont agir sur leurs récepteurs. Les récepteurs des GC sont les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) et les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR, de Kloet *et al.*, 2008; Reul & de Kloet, 1985). Les MR lient les GC avec une faible spécificité mais une forte affinité tandis que les GR lient spécifiquement les GC mais d'une manière 10 fois moins affine que les MR. Ainsi, les GC sont préférentiellement liés aux MR, qui sont pratiquement saturés pour de faibles taux circulants d'hormones (comme en conditions basales). En revanche, dans le cas d'une hypersécrétion de GC (par exemple, suite à un stress), les GR sont progressivement occupés. Les actions découlant de l'activation de l'axe corticotrope suite à un stress impliquent donc les GR, tandis que les MR sont impliqués dans les conséquences de l'activation basale de l'axe HPA (de Kloet *et al.*, 2005).

Les récepteurs MR et GR, une fois activés par leur ligand, agissent comme des facteurs de transcription en se liant sur des séquences spécifiques du génome. Cela va induire la stimulation ou l'inhibition des différents gènes cibles de l'action des GC, tels certains gènes impliqués dans le développement, le métabolisme ou le système immunitaire (de Kloet *et al.*, 2005; Lu & Cidlowski, 2006). Les rôles des GC sur le métabolisme ainsi que sur le système immunitaire et l'inflammation seront respectivement abordés dans les chapitres II.B.2. et II.C.

c. Régulation par le rétrocontrôle négatif

Comme la majorité des systèmes neuroendocriniens, l'axe HPA possède une boucle de rétrocontrôle négative permettant la régulation de l'activation de l'axe. Ce rétrocontrôle a pour but de limiter la production d'hormones par cet axe, réduisant ainsi la durée d'exposition des tissus cibles aux GC, et permettant un retour à l'homéostasie. En effet, une exposition continue aux GC, comme dans le cadre d'un stress prolongé, ou stress chronique, est délétère pour l'organisme.

Ce rétrocontrôle négatif est activé par les hormones synthétisées suite à l'activation de l'axe. Un premier niveau de rétrocontrôle se fait par l'ACTH, qui régule la sécrétion d'AVP, et donc sa propre libération. Un deuxième niveau de rétrocontrôle se fait par l'action de la forme active des GC sur les GR présents au niveau de l'hypophyse et de l'hypothalamus ainsi que sur les structures du télencéphale (amygdale, hippocampe et cortex préfrontal, voir Figure

4). Au niveau de l'hypophyse et de l'hypothalamus, l'action des GC sur les GR inhibe la transcription des gènes conduisant à la synthèse de CRH et d'ACTH, ce qui permet de diminuer la stimulation des corticosurrénales, et donc de diminuer la libération de GC dans la circulation.

Les GC libérées vont aussi agir sur le CPFm et l'hippocampe et engendrer la mise en place du rétrocontrôle négatif. En effet, la stimulation du CPFm par la dexaméthasone induit une diminution de la sécrétion de GC (Mizoguchi *et al.*, 2003). De façon similaire, l'hippocampe, qui comporte une des plus fortes quantités de GR du cerveau, est fortement impliqué dans la mise en place du rétrocontrôle négatif de cet axe. L'infusion de dexaméthasone (GC de synthèse) dans l'hippocampe se traduit par une diminution de la sécrétion de GC. Ainsi, la stimulation du CPFm et de l'hippocampe par les GC engendre une diminution de la libération de GC par l'axe HPA (Mizoguchi *et al.*, 2003). A l'inverse, des lésions hippocampiques, et plus précisément du subiculum ventral, engendrent une augmentation de la libération de GC suite à un stress (Ulrich-Lai & Herman, 2009). Les effets inhibiteurs de l'hippocampe sur le PVN (donc sur l'axe HPA) seraient indirects et transmis par les neurones glutamatergiques en provenance du subiculum ventral de l'hippocampe, qui projettent sur des neurones GABAergiques dans des relais innervant le PVN. L'un de ces relais est le cortex préfrontal médian (CPFm, Herman & Mueller, 2006).

Par ailleurs, les GC vont agir sur les GR de l'amygdale et engendrer une sécrétion de CRH, qui se traduira par un maintien de l'activation de l'axe HPA et de la libération de GC. En effet, le blocage des GR de l'amygdale par l'injection de mifepristone (antagoniste des GR) diminue la libération de GC (Herman *et al.*, 2012). L'amygdale permet donc l'entretien de la sécrétion de GC lorsque l'axe est activé, en parallèle du rétrocontrôle négatif exercé *via* l'hypophyse, l'hypothalamus, le CPFm et l'hippocampe. L'ensemble de ces mécanismes induit par les GC permet donc de réguler l'activation de l'axe HPA.

d. Glucocorticoïdes et comportement

L'action des GC au niveau des différentes structures cérébrales sera détaillée dans le chapitre III.C.1. Nous notons cependant que les GC vont ainsi permettre la régulation de différents comportements, tels le sommeil, la prise alimentaire, l'humeur ainsi que l'apprentissage et la mémoire, ces derniers faisant l'objet du chapitre III.C.2.

2. L'axe corticotrope en conditions d'obésité

a. Rôle des glucocorticoïdes dans la prise de poids

Dans nos sociétés modernes, l'augmentation de la quantité de stress perçu par les individus au cours de leur vie quotidienne est importante. Il en résulte un état de stress chronique, caractérisé par une sécrétion répétée et prolongée de GC.

Or ces hormones ont de nombreux effets sur le métabolisme, leur action majeure étant la constitution de réserves de glucose (en favorisant la néoglucogenèse, Yabaluri & Bashyam, 2010). De plus, en présence d'insuline, les GC ont une action lipogénique, au travers d'une diminution de l'hydrolyse des triglycérides (via la diminution de l'activité de l'enzyme lipase-hormono-sensible) et d'une augmentation de la différenciation des adipocytes (Samra *et al.*, 1998). Leur effet global est donc d'accroître le stockage des ressources énergétiques. Dans le cas du stress chronique, l'action prolongée des GC engendre une perturbation de l'homéostasie énergétique, favorisant le développement du syndrome métabolique et engendrant une accumulation de masse grasse, résultant en un surpoids (Bose *et al.*, 2009; Patterson & Abizaid, 2013). Par exemple, l'administration chronique de GC (dans le cas de l'asthme) conduit au développement de l'obésité (Covar *et al.*, 2000), et une période de fort stress chronique (parents apprenant le diagnostic d'un cancer chez leur enfant) engendre une prise de poids rapide, sans lien direct avec l'apport calorique (Smith *et al.*, 2005). Ainsi de nombreuses études associent l'hyperactivité de l'axe HPA à l'obésité et au syndrome métabolique (Dallman *et al.*, 2006; Pasquali *et al.*, 2006; Kyrou & Tsigos, 2009).

De plus, il apparaît que les personnes ressentant un stress vont réorienter leurs choix alimentaires, 40% des individus vont augmenter leur consommation d'aliments hyper-énergétiques, notamment gras et sucrés, sans forcément augmenter leur prise alimentaire ou leur apport calorique total (Gibson, 2006; Groesz *et al.*, 2012; Torres & Nowson, 2007). C'est la théorie de la *comfort food* (nourriture réconfortante), selon laquelle l'action combinée des glucocorticoïdes et de l'insuline conduit à une surconsommation d'aliments gras et sucrés. La consommation de ces aliments aurait un effet anxiolytique en engendrant une diminution de l'activité de l'axe HPA, au travers de la réduction de la sécrétion de CRH et d'ACTH. Ces aliments sont ensuite activement recherchés par l'individu (Dallman, 2010; la Fleur *et al.*, 2005), et peuvent engendrer une prise de poids.

b. Le surpoids engendre des dérégulations de l'axe corticotrope

Si le stress peut engendrer une prise de poids, il apparait aussi que les individus obèses présentent une dérégulation du fonctionnement de l'axe HPA. Si au niveau basal les indices de l'activation de l'axe HPA ne permettent pas de dissocier les individus selon leur poids, la réponse de l'axe HPA à un challenge est perturbée dans le cas d'une obésité androïde (abdominale). En effet, les femmes présentant ce profil d'obésité ont une augmentation de la réponse de l'axe HPA lors de sa stimulation et de son inhibition (suite à l'injection d'ACTH ou de dexaméthasone, GC de synthèse, respectivement). Cela pourrait sous-tendre une libération de GC altérée dans le cadre du stress, et notamment du stress chronique chez les individus obèses (Duclos *et al.*, 2001).

Chez l'animal, de nombreuses études sur la fonctionnalité de l'axe HPA dans des modèles de surpoids ont été réalisées. Récemment, une étude a montré que l'exposition de jeunes rats à un régime HL (60% des Kcal provenant des lipides) durant la période périnatale se traduit par une augmentation des GR dans l'amygdale, un taux basal de corticostérone circulante diminuée, un retour à l'homéostasie plus long suite à un événement stressant, et une augmentation des comportements de type anxieux. Ces données suggèrent que l'environnement alimentaire précoce peut jouer un rôle de programmation de la voie de signalisation des glucocorticoïdes et réguler le fonctionnement de l'axe HPA (Sasaki *et al.*, 2013). Les effets de la consommation d'un régime moins drastique (40% des Kcal provenant des lipides), du sevrage (21^{ème} jour post natal, ou P21) à la puberté (P40), sur le fonctionnement de l'axe, ont aussi été évalués. Les femelles apparaissent plus sensibles aux conséquences de cette exposition, et présentent de plus grosses glandes surrénales, une augmentation des taux plasmatiques de GC et une diminution du nombre de GR dans l'hypothalamus, ainsi qu'une augmentation des comportements de type anxieux et dépressifs. Aucun de ces effets n'est retrouvé chez les mâles (Boukouvalas *et al.*, 2008). L'allongement de la durée de ce régime, du sevrage à l'âge adulte (P21 à P90), se traduit toujours par l'augmentation de la corticostérone plasmatique au niveau basal chez la femelle. Cependant, des femelles nourries avec ce régime jusqu'à la puberté (P21 à P40), puis passées sous un régime contrôle ensuite (P40 à P90) montrent un retour à la normale de leur taux plasmatique basal de corticostérone (Boukouvalas *et al.*, 2008). La particularité des périodes précoces de la vie, en termes de maturation de l'axe corticotrope et des conséquences de l'environnement sur le fonctionnement de cet axe sera décrite dans le chapitre IV.B.2.

Chez le rat adulte, la consommation d'un régime HL similaire (40% des Kcal provenant des lipides) entraîne une très forte augmentation des niveaux de base de corticostérone plasmatique après une semaine de régime, et qui se maintient après 3 semaines. L'exposition à ces régimes (pendant 1, 9 et 12 semaines) entraîne une augmentation des taux d'ACTH et de corticostérone suite à un stress aigu (stress de contention, Tannenbaum *et al.*, 1997). Un régime plus court (4 jours) suffit à augmenter la libération de corticostérone suite à un stress modéré (injection de saline) comparativement aux animaux contrôles mais ne suffit pas à entraîner une différence de réponse endocrine si le stress est aigu (de contention, Legendre & Harris, 2006). Enfin, l'exposition à un régime similaire pendant 12 semaines chez la souris adulte engendre une perturbation du rythme circadien de sécrétion de corticostérone, avec une diminution des taux de corticostérone plasmatique et des taux de CRH dans le PVN lors des pics circadiens, comparativement aux souris contrôles (Auvinen *et al.*, 2012).

Ainsi, les régimes hypercaloriques perturbent le fonctionnement de l'axe HPA, que ce soit à l'état basal ou en réponse au stress, même si les effets obtenus peuvent varier entre les études selon le modèle expérimental (l'espèce, le sexe, le type de régime, sa durée et la période d'exposition).

Cependant, comme nous l'avons évoqué précédemment, la théorie de la *comfort food* indique que la surconsommation d'aliments palatables gras et sucrés aurait un effet anxiolytique (Dallman, 2010). De plus, le fait d'avoir la possibilité de consommer ces aliments (proposés en plus du régime contrôle) induit une inhibition de la sécrétion d'ACTH et de GC suite à un stress comparativement aux animaux soumis au régime contrôle et aux animaux dont la consommation de régimes HL est imposée (n'ayant pas d'autre nourriture disponible, la Fleur *et al.*, 2005).

c. Conséquence des dérégulations de l'axe corticotrope dues à l'obésité

Les GC modulent l'expression de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme, mais aussi dans la cognition. Ainsi des dérégulations de l'axe corticotrope se traduisent par l'apparition de troubles cognitifs et de troubles de l'humeur, qui feront l'objet du chapitre III.C. Or, comme nous le verrons dans le chapitre III.D., des perturbations cognitives apparaissent dans le cadre de l'obésité. Les perturbations du fonctionnement de l'axe corticotrope en lien avec l'obésité pourraient être un mécanisme potentiel sous-tendant l'apparition de ces troubles cognitifs.

C. Interactions entre inflammation et axe corticotrope

I. Régulation en conditions physiologiques

Suite à une inflammation induite par un agent pathogène, l'axe corticotrope est activé. En effet, les cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6 et TNF α) alors libérées activent l'axe HPA au niveau périphérique et au niveau central en augmentant la sécrétion de CRH et d'ACTH (Rook, 1999). De plus, l'inflammation va stimuler le nerf vague, qui va engendrer l'activation du PVN. Les GC sécrétés suite à l'activation de l'axe HPA agissent en retour via leur effet anti-inflammatoire et immuno-suppresseur. Ainsi, les GC diminuent le nombre de cellules immunitaires circulantes (leucocytes, lymphocytes T), perturbent leur migration vers le site d'infection et inhibent leur fonction phagocytaire. Ces effets des GC se font notamment au travers du blocage de l'action du NF- κ B (facteur de transcription nucléaire κ B), ce qui a pour effet d'inhiber la sécrétion de cytokines (IL-1 β , IL-6 et TNF α , De Bosscher *et al.*, 2003; Rhen & Cidlowski, 2005). Ainsi les glucocorticoïdes régulent l'inflammation, ce qui permet un retour à l'homéostasie (Silverman & Sternberg, 2012, Figure 5).

Dans le cadre d'un stress aigu, la fonction immunitaire est stimulée au début de la réponse au stress. Puis la sécrétion de GC induite par le stress va avoir un effet anti-inflammatoire global et diminuer la réaction immunitaire (Munck *et al.*, 1984). Cependant, les GC induisent localement une augmentation de la sécrétion de cytokines (et notamment de l'IL-1 β) au niveau du tissu adipeux sous-cutané (Speaker & Fleshner, 2012), qui va induire la lipolyse (Doerrler *et al.*, 1994). Cela se traduit par une libération d'énergie, nécessaire pour la réponse au stress (Speaker & Fleshner, 2012).

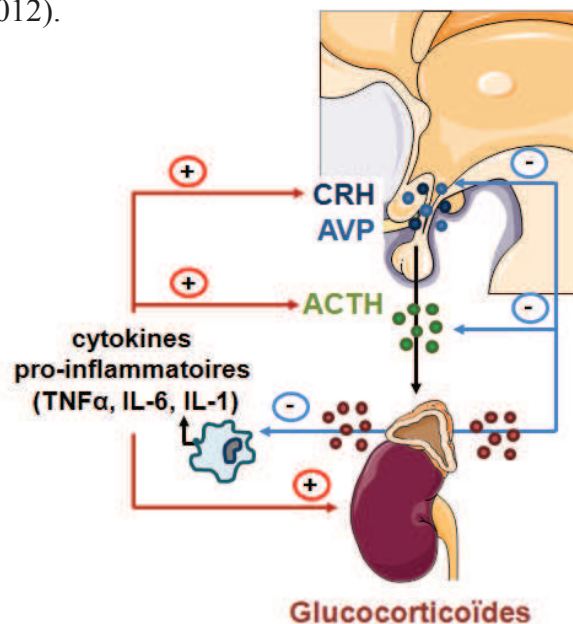


Figure 5 : Représentation des interactions entre système inflammatoire et axe HPA. La stimulation de la synthèse des GC par les cytokines pro-inflammatoires libérées dans la circulation sont représentées par les flèches rouges. La régulation de l'axe HPA (par le rétrocontrôle négatif) et de la synthèse de cytokines par les glucocorticoïdes sont représentées par les flèches bleues. Adapté de Silverman & Sternberg, 2012.

2. Dérégulation en conditions de stimulation chronique et obésité

Si lors d'un stress aigu, l'activation immunitaire est transitoire et régulée grâce aux effets anti-inflammatoires des GC, ce n'est pas le cas lors d'un stress chronique. En effet, la perturbation de l'axe HPA induite par le stress chronique se traduit par l'incapacité des GC à éteindre l'activation immunitaire, engendrant une libération forte et prolongée de cytokines pro-inflammatoires (Sorrells *et al.*, 2009).

Enfin, le stress chronique peut engendrer une prise de poids. En effet, si un stress aigu entraîne la lipolyse du tissu adipeux sous-cutané (via l'action locale de l' $\text{IL-1}\beta$), le stress chronique va rediriger le stockage d'énergie au niveau du tissu adipeux viscéral. Ainsi on peut voir apparaître un surpoids chez les animaux soumis au stress chronique, du à l'augmentation du stockage dans le tissu adipeux viscéral (Speaker & Fleshner, 2012).

L'obésité s'accompagne d'une inflammation chronique à bas bruit. La présence permanente de cytokines dans la circulation va se traduire par une augmentation de la sécrétion des GC de façon prolongée. Cela va notamment engendrer une désensibilisation des GR (Makhija & Karunakaran, 2013; Silverman & Sternberg, 2008), induisant une dérégulation de l'axe HPA. Les GC ne seront alors plus capables d'effectuer leur rôle anti-inflammatoire (Sorrells *et al.*, 2009).

Le lien entre activation de l'axe HPA, inflammation et obésité est donc complexe (Kyro & Tsigos, 2009). Dans le cadre de l'obésité, nous retiendrons que l'état inflammatoire chronique à bas bruit (induit par les adipocytes et le microbiote) conduit à une dérégulation de l'axe HPA, engendrant une sécrétion prolongée de GC, lesquels ne permettent plus un retour à l'homéostasie inflammatoire. Nous verrons aussi que les GC et les cytokines peuvent agir sur la cognition (chapitres III.B et C.). Dans le cadre de l'obésité, le rôle différentiel des dérégulations de l'axe HPA et de l'inflammation chronique à bas bruit sur l'apparition des troubles cognitifs que nous détaillerons dans le chapitre III.D. reste donc difficile à démontrer.

Résumé

La réactivité aux antigènes (inflammation) et la réactivité au stress (par l'axe corticotrope) sont deux mécanismes résultant en la libération de substances (les cytokines et les GC) dont le rôle premier va être de rétablir l'homéostasie de l'organisme. En situations physiologiques, ce rôle est transitoire et n'engendre pas de répercussions globales négatives pour l'individu.

En revanche, l'obésité est une situation d'inflammation chronique et de dérégulation de la réponse de l'axe corticotrope face au stress. Cela se traduit par la circulation prolongée de cytokines et de GC, dont l'action va alors être délétère pour l'organisme.

III. Obésité, cognition et émotions

A. La mémoire en conditions physiologiques

I. Les différents systèmes de mémoire

a. Généralités

La mémoire est un ensemble de processus permettant d'acquérir, de stocker, et de rappeler des informations, afin de permettre l'adaptation du comportement futur de l'individu en vue de son expérience passée. Après perception sensorielle des stimuli, certains éléments vont être filtrés pour être retenus, tandis que d'autres seront oubliés. Si des éléments peuvent être retenus à très court terme (quelques minutes) dans ce qu'on appelle la mémoire de travail, les informations à retenir plus longtemps vont être stockées dans la mémoire à long terme suite à un passage transitoire en mémoire à court terme.

La mémoire de travail permet le stockage de manière très transitoire et labile, ainsi que la manipulation de 7 ± 2 informations (empan mnésique). Si le cortex préfrontal joue un rôle important dans la mémoire de travail, la mémorisation des informations à long terme met en jeu le système limbique. La mémorisation à long terme peut-être schématisée en la succession de 3 étapes qui sont l'encodage, le stockage et la restitution des informations. L'encodage permet l'acquisition et l'organisation des données. Puis le stockage de ces données se fait lors de la consolidation. Cette phase permet le passage de l'information d'une forme labile à une forme durable. Enfin, la restitution, ou rappel est la phase de récupération de l'information qui repasse alors à l'état labile et peut être manipulée en mémoire de travail. L'individu peut donc se servir de l'information stockée, afin par exemple de résoudre un problème.

Le stockage des informations de manière durable fait donc appel au phénomène de consolidation. Deux types de consolidation existent. La première est dite synaptique, et permet une stabilisation progressive de la mémoire, impliquant des modifications neuronales basées sur la synthèse de nouvelles protéines, qui vont renforcer la communication entre synapses. Cette synthèse protéique a lieu dans les heures qui suivent l'apprentissage (Dudai, 2004). Avant l'achèvement de cette consolidation synaptique, les éléments sont donc stockés de manière provisoire (quelques heures) et labile, dans ce qu'on appelle la mémoire à court terme. On considère que les informations commencent à se stabiliser en mémoire à long terme au-delà de 6 à 8h après l'apprentissage. La mémoire à court terme, indépendante de cette synthèse protéique, sous-tendrait donc l'expression de la mémoire dans les quelques heures

qui suivent l'apprentissage. En effet, il est démontré que l'injection d'un inhibiteur de synthèse protéique induit des déficits de mémoire à long terme sans perturber la mémoire à court terme (Dudai, 2004 Davis & Squire 1984). Ainsi, ces deux mémoires reposent bien sur des mécanismes différents (Izquierdo *et al.*, 1999).

D'une manière intéressante, on note que la consolidation mnésique synaptique se fait dans les mêmes structures que celles qui ont encodé l'information. Le deuxième type de consolidation est la consolidation systémique, qui correspond en une réorganisation des structures cérébrales impliquées dans le stockage et/ou le rappel de la mémoire (Frankland & Bontempi, 2005). Cette consolidation nécessite plusieurs semaines, voire plusieurs années, et sous-tend une mémoire à très long terme, à laquelle nous ne nous sommes pas intéressés dans le cadre de ces travaux de thèse.

b. Proposition de classification, le modèle de Henke

Les premières études de neuropsychologie ont permis de proposer que les lésions ou ablations de certaines zones cérébrales, chez des patients, entraînaient des troubles comportementaux spécifiques. Ainsi, les travaux pionniers de Milner et Scoville sur le patient H.M. démontrèrent le rôle des lobes temporaux médians dans la mémorisation. En effet, ce patient présentait des crises d'épilepsie majeures. L'ablation bilatérale du foyer épileptique (lobes temporaux médians, incluant une hippocampo-ectomie totale) révéla, à la suite de l'opération une amnésie antérograde, soit l'incapacité à former de nouveaux souvenirs autobiographiques. Ses autres capacités mnésiques (apprentissage de règles, de nouveaux gestes, habitudes) étaient intactes, néanmoins le patient ne gardait aucun souvenir de la réalisation de ces apprentissages (Eichenbaum, 2013; Scoville & Milner, 1957).

Suite à cette démonstration, de nombreuses études chez le singe et le rongeur, ont permis de mettre en évidence un lien entre l'intégrité de certaines structures et l'encodage ou le rappel de certaines informations. En effet, il apparaît qu'il existe différents systèmes de mémoire, en fonction du type d'information à mémoriser. Or ces différents systèmes de mémoires sont intimement liés à la fonctionnalité de certaines structures. Ces liens ont permis de proposer différentes classifications mettant en relation le type d'informations mémorisées et les structures nécessaires à leur mémorisation.

Pour les travaux de cette thèse, nous nous sommes basés sur le modèle de classification des mémoires à long terme chez l'Homme, repris récemment par Henke, avec des modifications par rapport au modèle de Squire (Figure 6, Henke, 2010; Squire, 2004).

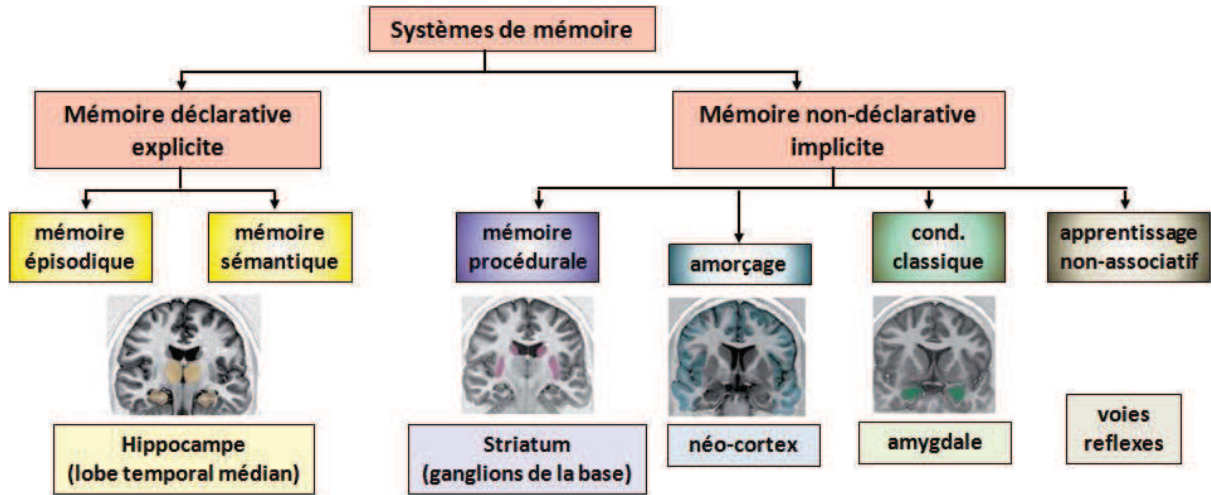


Figure 6 : Classification des systèmes de mémoire selon Henke, inspiré de Henke, 2010.

Ce modèle propose une dichotomie entre la mémoire déclarative, ou explicite, dans laquelle le rappel d'une information se fait de manière consciente et verbalisable, à l'inverse des mémoires non-déclaratives, ou implicites, regroupant les apprentissages et processus cognitifs dont le rappel se fait de manière non-consciente. Dans les mémoires explicites, on trouve la mémoire épisodique (ou autobiographique) où sont stockés les souvenirs contextualisés vécus par l'individu (ce que j'ai fait, où et quand je l'ai fait), et la mémoire sémantique, contenant des connaissances générales (le sens d'un mot, l'utilité d'un objet, une date historique). Chez l'Homme, ces deux mémoires reposent sur l'intégrité du lobe temporal médian et notamment de l'hippocampe.

A l'opposé, les mémoires implicites ont comme point commun d'être conservées chez les patients atteints d'amnésie déclarative, suite à des lésions du lobe temporal médian (Henke, 2010). On y regroupe différents processus mnésiques, tel la mémoire procédurale, majoritairement sous tendue par les ganglions de la base (dont le striatum), et qui comprend l'apprentissage de nouvelles aptitudes (comme dessiner en miroir) et la mémoire des habilités motrices (jouer du piano). Un autre processus implicite est le phénomène d'amorçage, lors duquel un indice (première lettre d'un mot) va permettre de rappeler l'information correspondante. Ce processus dépend du néocortex. Le conditionnement classique, grâce auquel l'appariement entre un stimulus neutre et un renforcement positif ou négatif va se traduire par l'attribution d'une valeur prédictive au stimulus, fait aussi partie de ces mémoires

implicites. Il dépend en particulier de l'amygdale pour sa composante émotionnelle. Enfin, les apprentissages non-associatifs (habituation et sensibilisation) sous-tendus par les voies réflexes sont aussi considérés comme des processus implicites.

Si la classification proposée par le modèle de Squire est relativement bien admise dans le domaine des neurosciences, la principale critique que l'on peut émettre à son sujet réside dans le fait de présenter les différentes mémoires comme indépendantes, et de ne pas tenir compte de potentielles interactions entre ces différents systèmes. Dans les travaux de cette thèse, nous nous focalisons sur les mémoires impliquant l'hippocampe et l'amygdale. Nous allons donc détailler chacun de ces systèmes ainsi que leur rôle dans les mémoires que nous avons choisies d'explorer. Enfin, nous évoquerons les notions d'interactions entre les différents systèmes de mémoire.

2. Le système hippocampique

a. Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions

L'hippocampe est une structure faisant partie du lobe temporal médian (Van Hoesen, 1995). Cette structure sous corticale du système limbique a une position tridimensionnelle complexe (Figure 7). L'hippocampe est composé du gyrus denté (DG *dentate gyrus*) et de la corne d'Ammon (constitué de sous-unités CA1, CA2 et CA3). La formation hippocampique comprend aussi les structures para-hippocampiques permettant l'entrée (cortex entorhinal) et la sortie (subiculum) des informations (Amaral & Witter 1995). S'il est admis que l'hippocampe peut-être différencié en hippocampe dorsal et ventral le long d'un axe longitudinal, avec une anatomie et des fonctions distinctes (Moser & Moser, 1998; Pitkanen *et al.*, 2000), nous ne rentrerons pas dans le détail des différences entre ces sous-parties.

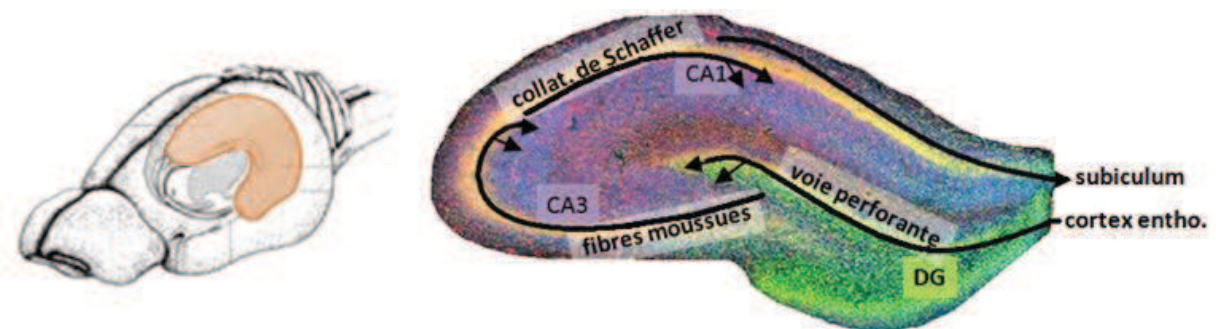


Figure 7 : Position de l'hippocampe dans le cerveau du rongeur (à gauche) et représentation schématique du circuit tri-synaptique sur une coupe frontale de l'hippocampe (à droite). Inspiré de Amaral & Witter, 1995.

L'hippocampe présente un profil de connexion intrinsèque particulier. Décrit par Ramon Y Cajal, ce circuit tri-synaptique possède uniquement des connexions unilatérales (Ramon Y Cajal, 1911, Figure 7). La voie perforante en provenance du cortex entorhinal projette sur les cellules granulaires du DG. Les axones de ces cellules granulaires forment les fibres moussues, qui innervent les cellules pyramidales du CA3, lesquelles émettent des projections, ou collatérales de Schaffer, à destination du CA1. Enfin, les cellules du CA1 projettent vers le subiculum. En plus de ce circuit, il existe des connexions locales, et notamment un important réseau de fibres, les collatérales récurrentes, formé d'axones du CA3 qui projettent vers d'autres neurones de cette aire. L'hippocampe reçoit également des afférences en provenance du cortex entorhinal, qui relaie aussi les informations provenant des aires sensorielles et associatives, ainsi que des informations en provenance du tronc cérébral et de régions sous-corticales, tel le septum, l'hypothalamus, le thalamus et l'amygdale (Pitkanen *et al.*, 2000). Les projections en provenance de l'hippocampe se font via le subiculum sur un grand nombre d'aires associatives corticales, notamment sur le cortex préfrontal et sur des aires sous-corticales, dont notamment le noyau accumbens et l'amygdale.

b. La neurogenèse dans l'hippocampe

● Définition

La neurogenèse, ou formation de nouveaux neurones dans le cerveau, a lieu de façon importante lors du développement de l'individu (neurogenèse primaire). On sait actuellement, et depuis les années 1960, que dans certaines zones cérébrales, cette neurogenèse perdure pendant toute la vie de l'individu (neurogenèse secondaire, Altman, 1962). C'est de cette neurogenèse chez l'adulte dont nous allons traiter ici. Elle a principalement lieu dans deux zones cérébrales distinctes (Gross, 2000). La 1^{ère} est la zone sous ventriculaire (ZSV), où sont produites de nouvelles cellules qui vont aller s'intégrer dans le réseau fonctionnel au niveau des bulbes olfactifs. La 2^{ème} région dans laquelle la neurogenèse a lieu est le gyrus denté (DG) de l'hippocampe. Cette formation de néo-neurones dans le DG a été retrouvée dans le cerveau de nombreux mammifères, dont l'Homme (Abrous *et al.*, 2005). Brièvement, les 3 étapes de la neurogenèse sont les suivantes. Les cellules précurseurs vont proliférer dans la zone sous granulaire du DG. Ces cellules immatures vont ensuite migrer dans la zone granulaire où elles vont entamer leur différenciation en neurones ou en cellules gliales (astrocytes et microglie). Ces cellules vont ensuite s'intégrer au réseau préexistant (60% de ces cellules vont engager le processus de différenciation mais mourir avant son terme). Par jour, cela représente moins de

1% du nombre total de cellules granulaires dans cette zone. Ces cellules expriment de nombreux marqueurs de façon transitoire lors des différentes étapes de la neurogenèse (prolifération, migration et différenciation). Un de ces marqueurs, la doublecortine (DCX) est exprimé de façon transitoire chez les neurones immatures, et permet donc de quantifier les cellules en train de se différencier en neurones et de s'intégrer au réseau (Abrous *et al.*, 2005; Brown *et al.*, 2003; Francis *et al.*, 1999). Ces cellules intégrées sont stables et survivent dans le réseau de manière permanente (plus de 6 mois). En revanche, les cellules non-intégrées au réseau vont mourir en moins d'un mois (Dayer *et al.*, 2003).

La neurogenèse hippocampique adulte permettrait notamment de maintenir un nombre de neurones constants en compensant la perte due à la mort neuronale (Cushman *et al.*, 2012). Si le rôle exact des néo-neurones hippocampiques n'est pas totalement élucidé, il est suggéré qu'ils permettraient de sous-tendre les apprentissages et la mémoire dépendante de l'hippocampe (Deng *et al.*, 2010; Goodman *et al.*, 2010; Koehl & Abrous, 2011; Snyder *et al.*, 2005). Or le niveau de cette neurogenèse est régulé par de nombreux facteurs intrinsèques et environnementaux pouvant moduler la prolifération, la migration et la différenciation des précurseurs (Abrous *et al.*, 2005). Nous allons détailler certains de ces facteurs et leurs conséquences sur la neurogenèse.

- Facteurs pouvant influencer la neurogenèse

Il est admis que l'hébergement en environnement enrichi (présence dans la cage d'objets de formes et couleurs variées et de congénères) ainsi que l'exercice physique (accès à une roue) sont deux conditions qui favorisent la neurogenèse hippocampique adulte comparativement aux conditions d'hébergement standard (Li *et al.*, 2013; van Praag *et al.*, 1999). De la même manière, on sait que la réalisation d'apprentissages hippocampo-dépendants va pouvoir induire une augmentation de la neurogenèse (Gould *et al.*, 1999; Tronel *et al.*, 2010). Plus précisément, l'acquisition de ces apprentissages induit une augmentation de la survie des néo-neurones générés environ deux semaines avant le début de l'apprentissage, et donc ayant atteint un niveau de maturation intermédiaire. A l'inverse, les néo-neurones trop immatures (âgés de quelques jours) ou trop matures (âgés de 6 semaines lors de l'apprentissage) vont être soumis à la mort cellulaire. Enfin, cette apoptose induite par l'apprentissage est suivie d'une augmentation de la prolifération des précurseurs cellulaires (Dupret *et al.*, 2007; Epp *et al.*, 2013).

Le stress, et plus précisément les taux de glucocorticoïdes peuvent aussi moduler la neurogenèse. Si des taux physiologiques de GC sont nécessaires au bon déroulement de la neurogenèse, une absence ou une surexpression de ces hormones entraîne une perturbation de celle-ci. En effet, de faibles taux de GC se traduisent par l'augmentation drastique de la prolifération et de l'apoptose des précurseurs cellulaires, tandis qu'une exposition prolongée à de forts taux de glucocorticoïdes, comme dans le cas d'un stress chronique, diminue la prolifération cellulaire dans le DG. Ces deux situations se traduisant ainsi par une diminution de la neurogenèse (Joels, 2007).

La neuro-inflammation, via l'activation microgliale, diminue le taux de survie des néo-neurones hippocampiques. Cependant, il apparaît que le rôle de la neuro-inflammation est plus complexe. En effet dans le cadre de lésions cérébrales, de récentes études indiquent que l'activation de la microglie induite par ces lésions favorise les différentes étapes de la neurogenèse (prolifération, survie, migration et différenciation). Cette augmentation du nombre de néo-neurones permettrait notamment d'aider à recoloniser la zone lésée. Il apparaît que l'activation microgliale *per se* ne permettrait pas de prédire ces effets sur la neurogenèse, lesquels dépendraient plutôt de la balance entre la sécrétion de facteurs pro et anti-inflammatoires (Ekdahl *et al.*, 2009). En revanche, il est démontré que lors d'un challenge immun (induit par injection de LPS), l'inflammation périphérique et l'activation microgliale subséquentes engendrent des effets délétères sur la neurogenèse hippocampique (Graciarena *et al.*, 2013).

Enfin, la consommation de régimes obésogènes affecte la neurogenèse hippocampique. Si des études démontrent que la consommation de régimes HL induit une diminution de neurogenèse (Lindqvist *et al.*, 2006, Hwang *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2010), certaines études ne retrouvent aucun effet de ces régimes sur la neurogenèse hippocampique (Rivera *et al.*, 2011). Les différences entre ces études peuvent s'expliquer par le fait que les premières exposent les animaux au régime dès environ 6 semaines d'âge, tandis que la dernière débute l'exposition au régime à 12 semaines d'âge. Or nous verrons que la neurogenèse, mais aussi l'impact de l'environnement, notamment alimentaire, sont plus importants lors des périodes précoces de la vie (chapitre IV.B.1. et IV.C)

Si l'augmentation des taux de GC et de cytokines pro-inflammatoires dans le cadre de l'obésité peuvent être des mécanismes potentiels expliquant la diminution de neurogenèse suite à la consommation de régimes HL, le rôle d'autres dérégulations engendrées par l'obésité a été investigué. La consommation de régimes HF engendre une augmentation des taux d'endocannabinoïdes dans l'hippocampe et du nombre de récepteurs CB1 (Massa *et al.*,

2010) ainsi qu'une sur-activation de ces récepteurs (Rojo *et al.*, 2013). D'une manière intéressante, l'utilisation d'un agoniste inverse des CB1 induit une diminution de la prise alimentaire chez le rat obèse, et augmente la neurogenèse (Rivera *et al.*, 2011).

Cependant, il est possible que l'utilisation de l'agoniste inverse CB1 module la neuro-inflammation, laquelle pourrait être responsable de la diminution de neurogenèse. De la même manière, le traitement peut induire une fluctuation des taux de GC eux-mêmes responsables d'une modification des taux de neurogenèse (Cota & Marsicano, 2011).

c. Hippocampe et mémoire

- Mémoire déclarative chez l'Homme

De part ses connexions directes ou indirectes, l'hippocampe est en lien avec de nombreuses autres structures cérébrales. Il reçoit des informations en provenance des aires corticales sensorielles et des structures impliquées dans la mémoire et la gestion des émotions (tels le cortex préfrontal et l'amygdale). Ceci suggère que l'hippocampe contribue au traitement des représentations complexes en intégrant divers stimuli.

Le rôle primordial de l'hippocampe dans la mémoire déclarative épisodique a été mis en évidence grâce à l'étude du patient H.M., qui, suite à une ablation des lobes temporaux médians, était incapable de former de nouveaux souvenirs autobiographiques (Scoville & Milner, 1957). Si l'hippocampe est crucial dans la mémoire épisodique, la mémoire sémantique reposerait aussi sur cette structure, une lésion du lobe temporal médian induisant aussi des déficits de mémoire sémantique. Cependant, contrairement à la mémoire épisodique, suite à ces lésions, une récupération progressive et partielle de la mémoire sémantique serait possible (patient K.C., Tulving *et al.*, 1988). Ainsi, l'importance de l'hippocampe dans la mémoire déclarative, et particulièrement dans la formation et le rappel de la mémoire épisodique est actuellement admise par la communauté scientifique. Cette forme de mémoire suppose une représentation élaborée d'un événement passé, nécessitant la formation et l'intégration des relations complexes entre les informations de différentes natures (temporelles, contextuelles et émotionnelles) par l'hippocampe.

- Mémoire dite de type épisodique chez l'animal

La mémoire épisodique à longterm a été considérée comme le propre de l'Homme, capable de verbaliser les expériences vécues par le passé, et notamment de détailler 'ce que j'ai fait,

où et quand je l'ai fait' (*what, where, when*). Chez l'animal, la non-verbalisation ainsi que les débats sur la conscience de soi ne permettent pas d'investiguer ce type de mémoire. Néanmoins, l'existence d'une mémoire dite 'de type épisodique' (*episodic-like memory*) a été démontrée chez le geai. L'expérience consistait à laisser le geai avoir accès à des caches potentielles pour y enfuir des vers morts (denrée très périssable), des vers frais (moins périssables) ou des cacahuètes (non périssables). Après un certain laps de temps, l'accès à ses caches était à nouveau permis au geai. Selon le délai écoulé, les geais allaient chercher la nourriture dans les caches ou elles n'avaient pas pourri, démontrant un comportement nécessitant une représentation contextualisée de l'action effectuée précédemment, en y intégrant une composante spatiale et temporelle (l'oiseau se souvenant de ce qu'il a caché, où et quand il l'a caché Clayton & Dickinson, 1998).

Depuis, d'autres études ont démontré l'existence de cette mémoire de type épisodique chez les rongeurs. Par exemple, dans un paradigme de labyrinthe radiaire (8 bras en étoile partant d'une plateforme centrale), différentes récompenses alimentaires sont placées au bout de chaque bras. Ces récompenses sont du raisin, des framboises ou des croquettes alimentaires standard. Alors que les bras appâtés avec les fruits sont ré-appâtés après un certain laps de temps, les bras avec les croquettes ne le sont jamais. Une fois que le rat est familiarisé à ce labyrinthe, l'un des fruits est dévalué (par différents protocoles assurant un désintérêt pour cet aliment). Par la suite, le rat est replacé dans le labyrinthe, et va diminuer son nombre de visites dans les bras contenant cet aliment, mais pas dans ceux contenant l'autre fruit. Cette étude met ainsi en avant la capacité du rat à savoir quel aliment se trouve dans quel bras et à quel moment il peut y retourner, en fonction de son action précédente, intégrant donc des composantes épisodiques (Babb & Crystal, 2006). Ce type de mémoire, et particulièrement l'intégration du contexte dans lequel une information (un objet) est rencontrée, est clairement dépendante de l'intégrité de l'hippocampe (Eacott & Norman, 2004).

- Mémoire relationnelle chez l'Homme et l'animal

Chez l'Homme, la 2^{ème} composante de la mémoire déclarative est la mémoire sémantique. De la même façon que la mémoire épisodique, cette mémoire de 'savoir universel' est difficile à mettre en évidence et à étudier chez l'animal. Si la mémoire déclarative est classiquement scindée en mémoire épisodique et sémantique, une théorie propose que les éléments de la mémoire épisodique pourraient être décontextualisés et devenir des éléments constitutifs de la mémoire sémantique (Moscovitch *et al.*, 2006). Cette théorie, stipule que les différents

épisodes rencontrés vont être intégrés dans un réseau relationnel, et comparés entre eux. Les similitudes entre deux événements seraient alors repérées, et la répétition d'événements similaires finirait par représenter un événement continuellement vrai dans le temps, qui serait alors sémantisé (Eichenbaum, 2004). Cette théorie relationnelle permet de prendre en compte la mise en relation de différents éléments et la flexibilité de leur utilisation. D'une manière très intéressante, la mise en relation d'éléments acquis de manière disparate, ou mémoire relationnelle, est facilement transposable à l'animal.

Si la mémoire relationnelle consiste en la mise en relation d'informations acquises précédemment, cette mémoire peut être évaluée chez l'animal. Différents paradigmes ont été proposés, et notamment en utilisant le labyrinthe radiaire (labyrinthe à 8 bras) dans lequel certains bras sont appâtés, et d'autres non. Une façon d'évaluer la mémoire relationnelle est la suivante : différents appariements sont proposés successivement à l'animal. Chaque paire de bras est constituée d'un bras appâté et d'un bras non-appâté. Puis l'animal est confronté à la présentation d'un nouvel appariement, proposant l'accès à un bras appâté et un bras non appâté provenant de 2 paires distinctes proposées précédemment. La résolution de cette nouvelle tâche va nécessiter la mise en relation d'éléments acquis précédemment, ainsi que la flexibilité de la représentation qui en découle (Marighetto *et al.*, 1999 ; voir Figure 8).

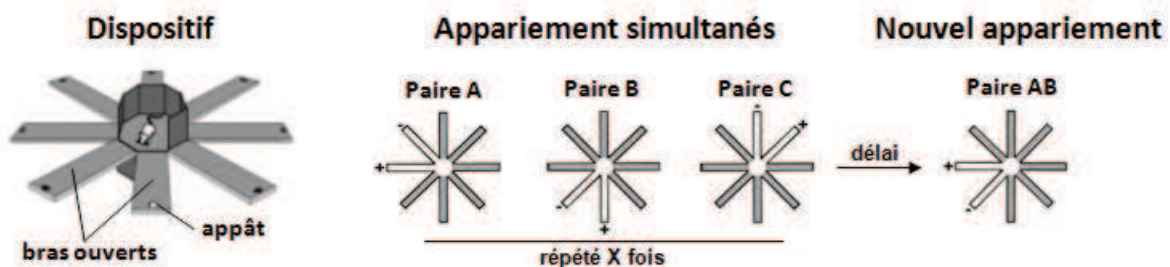


Figure 8 : Dispositif du labyrinthe radiaire (à gauche) et paradigme comportemental en 2 étapes permettant d'investiguer la mémoire relationnelle chez le rongeur (à droite). Après l'acquisition des paires A, B et C, la nouvelle paire AB (formée du bras appâté de la paire A et du bras non-appâté de la paire B) est proposée. Inspiré de Marighetto *et al.*, 1999.

D'une manière intéressante, la capacité des animaux à effectuer l'apprentissage et à faire preuve de flexibilité est dépendante de l'intégrité de l'hippocampe (Etchamendy *et al.*, 2003; Etchamendy *et al.*, 2011; Mingaud *et al.*, 2007; Touzani *et al.*, 2003). Ce paradigme permet donc d'investiguer la fonctionnalité de cette structure dans une tâche s'apparentant à la mémoire épisodique humaine, telle que définie par la théorie de la mémoire relationnelle.

Lors des travaux de cette thèse, nous avons repris ce paradigme permettant de s'approcher de l'étude des mémoires de type '*episodic-like*' chez l'animal, afin d'évaluer la mémoire relationnelle ainsi que la fonctionnalité de l'hippocampe chez nos animaux.

- Mémoire spatiale chez l'animal

Une autre manière d'appréhender l'étude des mémoires épisodiques et sémantiques dans des modèles animaux consiste à étudier la fonctionnalité de la structure sous-tendant ce type de mémoire. La découverte de cellules de lieu chez le rat a permis de formuler l'hypothèse selon laquelle l'hippocampe sous-tendrait l'élaboration d'une représentation spatiale de l'environnement (sous la forme d'une carte spatiale, O'Keefe & Conway, 1978). L'élaboration de cette carte spatiale serait primordiale dans l'acquisition d'un apprentissage et d'une mémoire spatiale. D'une manière intéressante, l'apprentissage spatial peut aussi être considéré comme la composante spatiale d'une mémoire épisodique, associant un élément à un contexte (*what* et *where*).

Le dispositif le plus utilisé pour évaluer la mémoire spatiale est la piscine de Morris (D'Hooge & De Deyn, 2001; Morris *et al.*, 1982). Ce dispositif est formé d'une arène circulaire aquatique, dans laquelle se trouve une plateforme. Le principe de l'apprentissage en piscine de Morris (MWM pour *Morris water maze*) réside sur la motivation de l'animal à s'échapper de l'eau en rejoignant cette plateforme. Dans la version spatiale de la MWM, cette plateforme est non visible pour l'animal. Pour apprendre la localisation de la plateforme, l'animal va devoir former une représentation spatiale de l'environnement, grâce aux repères placés autour de la piscine (voir Figure 9). Dans la version non-spatiale de la MWM, la plateforme est indiquée, ce qui la rend directement localisable, et ne nécessite donc pas la construction d'une carte spatiale. Des études montrent que des lésions de l'hippocampe engendrent un déficit d'apprentissage spatial, sans induire de déficits dans des épreuves non-spatiales (Jarrard, 1993; Morris *et al.*, 1982).

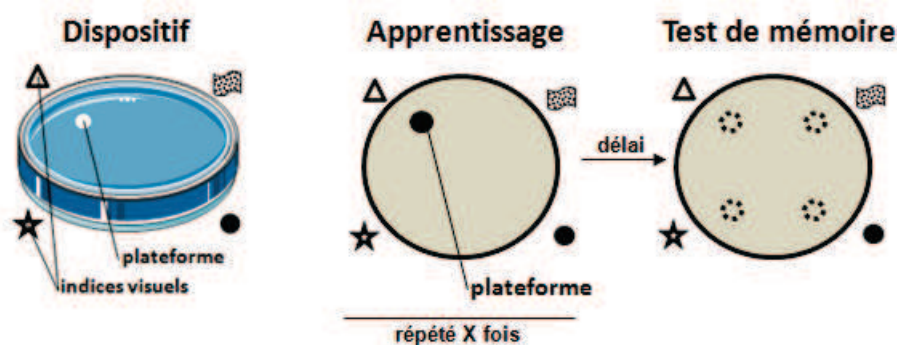


Figure 9 : Dispositif de la piscine de Morris (à gauche) et paradigme comportemental en 2 étapes permettant d'investiguer l'apprentissage puis la mémoire spatiale chez le rongeur (à droite). Après apprentissage de la localisation de la plateforme (non-visible), le test de mémoire à lieu sans plateforme.

Si la MWM permet d'investiguer les performances d'apprentissage spatial, il est ensuite possible de tester la rétention de cet apprentissage après un intervalle donné (permettant l'étude d'une mémoire à court ou long terme). Pour ce faire, la plateforme est retirée de la piscine, et la stratégie de recherche des animaux est alors évaluée afin de mesurer la pertinence de la mémoire spatiale de l'animal. Si ces 2 processus mnésiques reposent sur l'intégrité de l'hippocampe, seule la mémoire à long terme nécessite la consolidation synaptique et la synthèse protéique. En effet l'inhibition de la synthèse protéique dans l'hippocampe est sans effet sur la mémoire à court terme, mais induit des déficits de la mémoire à long terme (Artinian *et al.*, 2008; Florian *et al.*, 2006).

Ainsi, au cours des travaux de cette thèse, nous avons étudié la mémoire spatiale en piscine de Morris, un bon modèle permettant d'investiguer la fonctionnalité de l'hippocampe et les différentes étapes de la mémoire spatiale (apprentissage, mémoire à court et à long terme) chez l'animal.

3. Le système amygdalien

a. Cytoarchitecture de l'amygdale et connexions

Comme l'hippocampe, l'amygdale fait partie du lobe temporal médian. Elle se situe dans l'extrémité temporale de la corne des ventricules latéraux (Isaacson, 1974), juste en avant de l'hippocampe (Figure 10). L'amygdale est une structure composée de plusieurs noyaux formant des groupes fonctionnels. Ces noyaux sont organisés de manière hiérarchique. Le noyau latéral (LA) projette sur le noyau basolatéral (BLA), et ces deux noyaux projettent sur l'amygdale centrale (CeA). Ainsi, le noyau latéral est considéré comme la voie d'entrée de l'amygdale, et reçoit des afférences en provenance des différents cortex sensoriels primaires (lobe temporal, insulaire et pariétal), ainsi que du thalamus, de l'hippocampe et du CPFm. Ces informations sont ensuite transmises à l'ensemble du réseau amygdalien. Le noyau basolatéral sert alors de relais permettant l'intégration des informations. Enfin, le noyau central, par ses connexions avec les structures du diencephale et du tronc cérébral, va générer la réponse comportementale et émotionnelle en réponse aux informations perçues et intégrées.

On note cependant que malgré cette organisation hiérarchique, le BLA va aussi recevoir des afférences et connecter des structures externes à l'amygdale (notamment les cortex associatifs, l'hippocampe, le cortex entorhinal et le CPFm). De la même manière, le CeA reçoit notamment des afférences en provenance du tronc cérébral relayant les informations viscérales nociceptives (LeDoux, 2007; Pitkanen *et al.*, 2000). Ainsi, les différents noyaux

amygdaliens reçoivent et traitent l'information de façon parallèle et convergente. En effet, une information va entrer dans différentes régions de l'amygdale, qui reçoivent chacune d'autres informations en provenance d'autres aires cérébrales. Ce recouvrement de projections permet certainement une mise en concordance et une intégration des informations traitées en parallèles dans les différents noyaux amygdaliens, afin de générer une réponse comportementale adaptée.

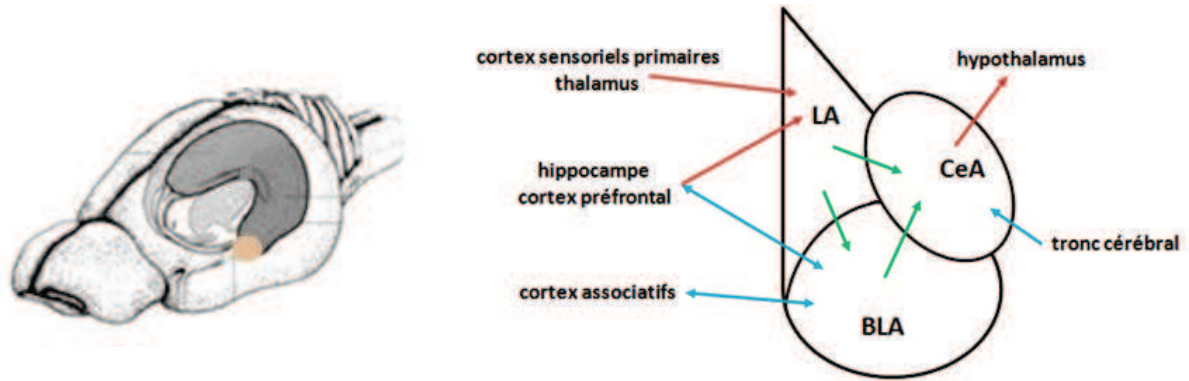


Figure 10 : Position de l'amygdale dans le cerveau du rongeur (à gauche) et représentation schématique des connexions amygdaliennes sur une coupe frontale (à droite). Les connexions sont représentées par des flèches, entre les différents noyaux amygdaliens (en vert), et avec les autres structures cérébrales (en rouge, afférences majeures entrant par la LA et efférences sortant par la CeA, en bleu les autres connexions majeures). Inspiré de LeDoux, 2007.

b. Amygdale et cognition

● Amygdale et émotion

L'amygdale est impliquée dans l'élaboration de réponses émotionnelles adaptées à l'environnement, et en particulier dans les réponses de peur. L'étude de la patiente S.M. a permis d'investiguer le rôle de l'amygdale. Atteinte de la maladie d'Urbach-Wiethe, cette patiente présentait des symptômes neurologiques. Le déficit le plus caractéristique étant son incapacité à détecter et à analyser les émotions. Ainsi S.M. était incapable de discriminer des visages en fonction de l'émotion exprimée, surtout lorsque les visages exprimaient des émotions négatives (peur, colère). Des études d'imagerie cérébrale ont révélé la présence de lésions bilatérales (calcifications) sélectives de la région amygdalienne (Tranel & Hyman, 1990). Par la suite, d'autres études ont confirmé le rôle de l'amygdale lors de situations émotionnellement connotées.

Chez le rongeur, en plus de son rôle dans la modulation du comportement social et émotionnel, cette structure fait partie du réseau permettant d'attribuer une signification émotionnelle à un stimulus et d'exprimer une réponse conditionnée à ce stimulus. En effet, de

part ses connexions, l'amygdale reçoit les informations sensorielles et les intègre afin d'orchestrer la mise en place d'une réponse émotionnelle adaptée. Ainsi, nous allons détailler ici le paradigme de la mémoire aversive, qui permet de mesurer la fonctionnalité de l'amygdale (LeDoux, 2007; Roozendaal *et al.*, 2009).

- Mémoire associative aversive chez l'animal

Le conditionnement classique (ou Pavlovien) est un apprentissage associatif décrit pour la 1^{ère} fois par Pavlov (Pavlov, 1927). Lors de cet apprentissage, l'animal va associer deux événements, l'un étant à l'origine neutre (par exemple un son), et n'induisant aucun comportement particulier, et l'autre étant émotionnellement 'chargé' (un choc électrique). Si le stimulus neutre n'engendre aucune réponse émotionnelle, le stimulus 'chargé' va induire de manière inconditionnelle une réponse comportementale de peur. On parle donc de stimulus inconditionnel (SI). Au cours de l'apprentissage associatif, la répétition de l'appariement de ces deux événements va se traduire par le fait que le stimulus initialement neutre va devenir prédictif de l'arrivée du SI. Ainsi, le stimulus neutre devient conditionnel (SC) et induit *per se* une réponse émotionnelle de peur, témoignant de l'apprentissage associatif (Figure 11). Dans le conditionnement de peur que nous venons de décrire, la réponse émotionnelle est induite par le SI, puis par le SC au fur et à mesure de l'apprentissage. Elle se manifeste notamment par l'augmentation du rythme cardiaque, la libération de glucocorticoïdes, et une réponse comportementale particulière aisément mesurable : l'immobilité totale de l'animal, à l'exception des seuls mouvements respiratoires (Fanselow, 1980).

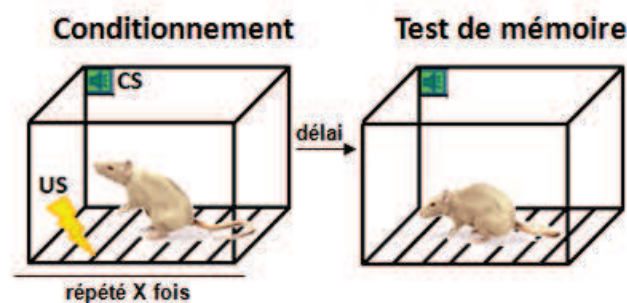


Figure 11 : Paradigme comportemental de conditionnement aversif au choc électrique. Le SI (choc) et le SC (son) sont appariés lors de l'apprentissage, puis la rétention est évaluée en présentant le SC en l'absence du SI.

Un deuxième type de conditionnement aversif classiquement utilisé sont les paradigmes d'aversion alimentaires conditionnées. Ces paradigmes reposent sur l'association de

l'ingestion d'un nouveau goût (aversion gustative conditionnée AGC) ou d'une nouvelle odeur (aversion olfactive conditionnée AOC) dilués dans l'eau de boisson (SC) avec un malaise gastrique, induit par une injection intra-péritonéale de chlorure de lithium (LiCl, SI). L'avantage de ces conditionnements est qu'ils sont acquis en une seule association goût-malaise ou odeur-malaise (Slotnick *et al.*, 1997, Figure 12). La rétention de ces aversions est mesurée en présentant le goût/l'odeur *de novo* à l'animal. Dans le cas d'une AOC, un animal ayant appris l'association diminuera sa consommation d'eau odorisée. L'importance de cette diminution témoigne de la force de la mémoire aversive chez l'animal.

L'apprentissage de ces conditionnements repose sur l'amygdale, et plus particulièrement sur l'intégrité du BLA (Sevelinges *et al.*, 2009). De plus, il a été démontré qu'une inhibition de la synthèse protéique dans le BLA juste avant l'acquisition de l'AOC (association odeur-malaise) perturbe la rétention à long terme de cette association, sans perturber la mémoire à court terme, indiquant que la consolidation synaptique de cet apprentissage nécessite la synthèse de protéines dans le BLA (Desgranges *et al.*, 2008).

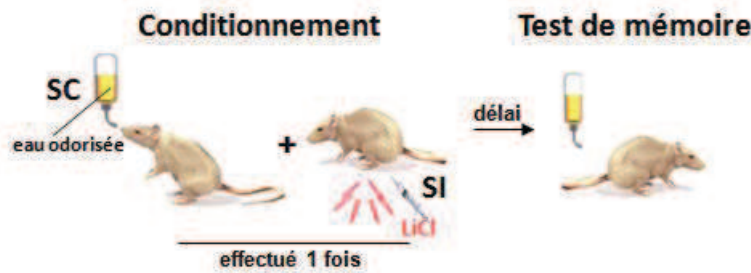


Figure 12 : Paradigme comportemental de conditionnement aversif à l'odeur, ou aversion olfactive conditionnée. Le SI (malaise gastrique) et le SC (odeur) sont appariés lors de l'apprentissage, puis la rétention est évaluée en présentant le SC en l'absence du SI.

Lors des travaux de cette thèse, nous avons utilisé le conditionnement de peur et l'AOC afin d'évaluer la fonctionnalité de l'amygdale et la mémoire aversive reposant sur différentes modalités sensorielles chez nos animaux.

4. Notions d'interactions entre les systèmes de mémoire

De nombreuses études montrent l'existence de phénomènes de coopération ou de compétition entre les différents systèmes de mémoire chez l'animal. L'interaction de ces systèmes permet ainsi d'induire un comportement adapté à la situation en utilisant les différentes ressources accessibles.

Lors d'un apprentissage spatial chez l'animal (labyrinthe en croix), un apprentissage court (8 jours) induit une stratégie mnésique spatiale (ou allocentrique : je me sers des indices spatiaux), sous-tendue par l'hippocampe. Suite à un apprentissage plus intense (16 jours) les animaux passent à une stratégie de type procédurale, ou 'habitude' (stratégie égocentrique : je tourne à gauche), reposant sur le striatum. Ainsi, au fur et à mesure de la répétition des sessions d'apprentissage, le système de mémoire impliqué dans le comportement de l'animal évolue. Cependant, une inactivation initiale de l'hippocampe va induire l'utilisation de la stratégie procédurale dès le début de l'apprentissage, tandis qu'une inactivation du striatum à la fin des sessions provoque un retour à la stratégie spatiale (Packard & McGaugh, 1996).

De la même manière, en piscine de Morris, une version non-spatiale de l'apprentissage permet de localiser le but via un indice (drapeau sur la plateforme). Suite à l'apprentissage, les animaux sont exposés au choix entre une plateforme non-visible se trouvant au même endroit que la plateforme préalablement indiquée, ou une plateforme indiquée localisée à un autre endroit de la piscine. Un entraînement court (4 essais), favorisera la stratégie 'indiquée' reposant sur le striatum (choix de la plateforme indiquée, spatialement incohérente). En revanche, le surentraînement (12 essais) se traduit par une stratégie spatiale, impliquant l'hippocampe, les animaux se dirigeant vers la plateforme se trouvant dans le lieu précédemment appris (Martel *et al.*, 2007). Ce changement de stratégie est retrouvé que le test soit effectué 1h ou 24h après l'apprentissage. D'une manière intéressante, des souris dont la fonctionnalité de l'hippocampe est détériorée sont capables de privilégier une stratégie 'indiquée' après un entraînement court et une stratégie spatiale après un surentraînement lorsque le test à lieu 1h après l'apprentissage. Cependant, si le test à lieu à 24h, elles expriment alors une stratégie 'indiquée', même suite au surentraînement (souris APP, modèles d'Alzheimer, Blanchard *et al.*, 2008).

Ces exemples illustrent les phénomènes de coopération entre systèmes de mémoire, qui seraient ainsi tous activés lors de l'encodage. La sélection du système utilisé ne serait effectuée qu'ensuite, par évaluation de la pertinence de la stratégie à utiliser. D'après White et McDonald, différentes associations seraient ainsi effectuées en parallèle : l'association entre stimulus et stimulus (reposant sur le système hippocampique), l'association entre stimulus et réponse (sous-tendu par le système striatal) et enfin, l'association entre stimulus et renforcement (reposant sur le système amygdalien, White & McDonald, 2002). Ensuite, le choix de l'association la plus adaptée impliquerait le cortex préfrontal. La lésion de ce cortex empêchant notamment les animaux de changer de stratégie (Ragozzino *et al.*, 1999).

Les systèmes de mémoire peuvent aussi entrer en compétition. Par exemple, des lésions hippocampiques facilitent l'acquisition de stratégies dépendantes du striatum ou de l'amygdale (McDonald & White, 1993). A l'inverse, il apparaît que sous certaines conditions, l'activation de certaines structures peut interférer avec le choix de la stratégie utilisée dans les apprentissages suivants. Par exemple, une tâche spatiale stimulant l'hippocampe interférera avec l'acquisition subséquente d'une association nécessitant l'amygdale (McDonald & White, 1995). Un autre exemple met en évidence la modulation du choix de la stratégie par le stress. Alors que des rats contrôles vont utiliser une stratégie spatiale lors d'un apprentissage spatial court, des animaux stressés au préalable vont majoritairement privilégier une stratégie procédurale. Cette réorientation du choix de stratégie serait due à l'activation de l'amygdale, puisqu'une lésion de cette structure restaure le choix d'une stratégie spatiale chez les animaux précédemment stressés (Kim *et al.*, 2001). De la même manière, l'injection d'une drogue anxiogène favorise la stratégie procédurale contre la stratégie spatiale (Packard & Wingard, 2004). Chez l'Homme, le stress engendre aussi une augmentation de l'utilisation d'une stratégie procédurale comparativement à la stratégie spatiale, privilégiée par les individus non-stressés, sans pour autant affecter les performances lors du test (Schwabe *et al.*, 2007). Ainsi, le stress et l'anxiété peuvent interférer dans le choix du système de mémoire utilisé pour un apprentissage donné, et favoriser la mise en place d'une habitude plutôt que l'utilisation d'une stratégie plus cognitive. Ceci est considéré par les auteurs comme une réponse adaptative, permettant de limiter l'implication de ces systèmes dans la réalisation de tâches simples.

Enfin, certaines tâches sollicitent plusieurs systèmes en parallèle et requièrent leur implication pour intégrer les différentes associations possibles. C'est notamment le cas du conditionnement de peur, où l'animal va être placé dans un contexte, et y entendre des sons, prédictifs de l'arrivée d'un choc électrique. Si l'hippocampe permet l'association entre le contexte et le choc, l'association entre le son et le choc repose sur l'amygdale (Phillips & LeDoux, 1992). Il est cependant possible de renforcer l'implication respective de ces deux systèmes de mémoire en favorisant l'une ou l'autre association (notamment en jouant sur la valeur prédictive du son, par exemple en modifiant l'intervalle de temps entre le son et le choc). Ainsi, si ces différents systèmes mnésiques peuvent encoder l'information en parallèle, leur implication respective dans la mémorisation va dépendre de la nature de l'information disponible, de l'état fonctionnel des systèmes (inactivation, lésion), de la tâche cognitive, de l'intervalle entre apprentissage et rétention et des facteurs environnementaux (stress).

B. Cytokines, mémoire et émotions

I. Cytokines et modulation de la mémoire

Il apparaît que les cytokines puissent avoir un rôle modulateur sur la cognition. Des taux physiologiques de cytokines sont nécessaires pour le bon fonctionnement des mémoires dépendantes de l'hippocampe, et auraient même des effets facilitateurs sur la consolidation mnésique (Rachal Pugh *et al.*, 2001). A l'inverse, des taux importants de cytokines sont corrélés avec une perturbation de la cognition. En effet, l'administration de cytokines, ou l'induction de leur synthèse induit des altérations mnésiques. Par exemple, on retrouve des perturbations de l'apprentissage et de la mémoire dépendants de l'hippocampe (notamment les apprentissages spatiaux) suite à l'injection d'Il-1 β ou de LPS (Goshen *et al.*, 2007; Rachal Pugh *et al.*, 2001; Rosi *et al.*, 2006). De plus, l'administration d'Il-1 β ou une surexpression d'Il-6 altère aussi la plasticité hippocampique (potentialisation à long terme PLT, Di Filippo *et al.*, 2013; Nelson *et al.*, 2012), et des modifications de l'activité neuronale apparaissent 6h après injection de LPS, avec une diminution de cette activation dans l'hippocampe, l'amygdale et l'hypothalamus (Frenois *et al.*, 2007). En revanche, les mémoires non-dépendantes de l'hippocampe ne semblent pas être affectées par les taux circulants de cytokines engendrés par l'inflammation.

Ainsi, l'action des cytokines sur les fonctions cognitives suivrait une courbe en U inversé, avec des effets facilitateurs sur la mémoire, la plasticité synaptique et la neurogenèse, lorsqu'elles se maintiennent à des taux physiologiques et des effets perturbateurs lorsqu'elles sont en déficit ou en excès (comme lors d'une inflammation, Goshen *et al.*, 2007; Yirmiya & Goshen, 2011).

Les mécanismes d'action des cytokines sur la cognition seraient dus à leur rôle sur l'excitabilité neuronale et sur la sécrétion de glucocorticoïdes (voir chapitre II.C.), pouvant influencer sur la libération de neurotrophines et autres molécules reliées à la plasticité cérébrale.

De plus, si les cytokines ont un rôle de modulation sur les performances mnésiques, il apparaît que la réalisation d'un apprentissage stimulant l'hippocampe se traduit par une augmentation de l'expression de cytokines (notamment d'Il-1 β) dans cette structure (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009). De la même façon, la potentialisation à long terme induit une synthèse d'Il-6 et d'Il-1 β (Del Rey *et al.*, 2013). Ainsi, il apparaît qu'une sollicitation ou une modification de la plasticité hippocampique puissent être responsables d'une augmentation de la synthèse de ces facteurs inflammatoires.

2. Cytokines et troubles de l'humeur

L'augmentation des taux circulants de cytokines serait liée au développement de troubles dépressifs. Ainsi, des patients dépressifs présentent des taux élevés de facteurs inflammatoires dans le sang et le liquide céphalo-rachidien (Maes, 1995), et l'activation chronique du système immunitaire peut sous-tendre l'apparition de symptômes neuropsychiatriques délétères pour l'individu, comme notamment la dépression (Capuron & Miller, 2004). Par exemple, l'administration chronique de cytokines et d'IFN γ en particulier (utilisée en immunothérapie) induit l'apparition d'un syndrome dépressif chez plus de 45% des patients traités (Capuron & Miller, 2011). Chez l'animal, l'administration de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , et de manière plus marginale IL-6 ou TNF α) ou de LPS se traduit par l'apparition de comportements dits de type dépressif, notamment une réduction de l'exploration sociale (Goshen *et al.*, 2008; Kent *et al.*, 1992). L'injection de cytokines anti-inflammatoires permet de restaurer un comportement normal (Kent *et al.*, 1992). Enfin, d'autres comportements de type dépressif peuvent être induits par l'injection de cytokines pro-inflammatoires ou de LPS, comme l'anhédonie (ou perte de plaisir, mesurée par la réduction de la consommation de sucrose, Merali *et al.*, 2003) et l'augmentation de la résignation (évaluée dans le test de la nage forcée et le test de suspension par la queue). Ces comportements peuvent perdurer plus de 24h après l'administration de LPS (Painsipp *et al.*, 2011).

Nous ne détaillerons pas plus le lien entre cytokines et troubles de l'humeur dans cette introduction, les troubles de l'humeur n'ayant pas été explorés dans ces travaux de thèse.

C. Glucocorticoïdes, mémoire et émotions

Les effets des GC sur la mémoire suivent une courbe en U inversé selon la quantité de GC circulants et le niveau d'occupation des GR (Salehi *et al.*, 2010). Ainsi, en conditions physiologiques, un stress aigu d'intensité modérée, engendrant une augmentation modérée de la sécrétion des GC (et donc une occupation modérée des GR hippocampiques) résulte en une augmentation de la performance des apprentissages et des mémoires dépendantes de l'hippocampe. À l'inverse un stress aigu intense, se traduisant par des taux élevés de GC (résultant en une saturation des GR) se traduit par une réduction de ces performances (Lupien *et al.*, 2009). L'action des GC module aussi les mémoires aversives, par exemple, si l'infusion d'un agoniste des GR dans la BLA augmente la rétention d'un conditionnement aversif, l'injection d'un antagoniste des GR induit, à l'inverse, des perturbations de la consolidation mnésique de cet événement (Roosendaal *et al.*, 2009).

Si l'action transitoire des GC peut donc avoir des conséquences bénéfiques sur la mémoire, l'exposition prolongée à ces hormones, comme c'est le cas lors d'un stress chronique va être délétère et participer à la mise en place de troubles et de pathologies (Lupien *et al.*, 2009). Le stress a donc de nombreux effets sur la mémoire, qui dépendent non seulement du système de mémoire investigué, mais aussi du type de stress, de sa durée, et de si le stress est inhérent à l'apprentissage ou externe à celui-ci (Sandi & Pinelo-Nava, 2007). Nous nous focaliserons ici sur les effets du stress chronique sur les structures cérébrales et sur la mémoire.

I. Stress chronique et modifications des structures cérébrales

Le stress chronique a des conséquences opposées sur l'hippocampe et le CPFm d'un côté et sur l'amygdale de l'autre. Les effets du stress chronique sur le cerveau sont synthétisés dans la figure 13.

D'une manière plus détaillée, au niveau hippocampique, l'exposition à un stress chronique ou un taux élevé prolongé de GC se traduit par une diminution du volume de cette structure chez l'Homme (Starkman *et al.*, 1992). Chez le rongeur, des protocoles induisant un stress chronique ou une exposition chronique aux GC vont engendrer une atrophie dendritique au niveau de l'hippocampe (neurones pyramidaux du CA3), une diminution de la neurogenèse dans le gyrus denté et une diminution des taux de BDNF (Lakshminarasimhan & Chattarji, 2012; Lupien *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2008; Malter Cohen *et al.*, 2013). Ces effets sont

restaurés en moins d'un mois après l'arrêt du stress ou de l'infusion de GC si la période d'exposition est relativement courte, mais perdurent après l'arrêt du stress si celui-ci a duré plusieurs mois. Au niveau du cortex préfrontal, on note que le stress chronique engendre une atrophie dendritique notamment au niveau du CPFm (Dias-Ferreira *et al.*, 2009; Sandi & Pinelo-Nava, 2007) ainsi qu'une diminution des taux de BDNF dans cette structure (Chiba *et al.*, 2012).

Enfin, le stress chronique engendre une désensibilisation des MR et des GR, ainsi que la diminution des GR dans l'hippocampe et le cortex préfrontal (Chiba *et al.*, 2012; McEwen, 2007; Lupien *et al.*, 2009;). Cela va engendrer une diminution de l'action régulatrice des GC sur ces structures, conduisant à une perturbation de la mise en place du rétrocontrôle négatif. Le stress chronique va donc engendrer la mise en place d'un cercle vicieux, résultant en un maintien d'un taux supra-physiologique de GC de manière prolongée, lesquels vont ainsi continuer à avoir une action délétère sur ces structures.

A l'inverse, il est décrit que le stress chronique ou l'administration prolongée de GC engendre une augmentation du volume de l'amygdale et de sa plasticité synaptique, avec notamment une augmentation de l'arborisation dendritique et une augmentation de taux de facteur neuro-trophique cérébral (BDNF pour *brain-derived neurotrophic factor*, Lakshminarasimhan & Chattarji, 2012). Si l'augmentation du nombre de dendrites, de leur longueur et du nombre d'épines par dendrite est bien décrite dans la BLA (Vyas *et al.*, 2002), il apparaît plutôt une diminution de l'arborisation dendritique dans la CeA. Ces effets seraient peu réversibles suite à l'arrêt du stress (Malter Cohen *et al.*, 2013).

Enfin, concernant la connectivité entre ces structures, les connexions entre amygdale et hippocampe (plus précisément de l'amygdale latérale vers le CA1) sont renforcées dans le cas du stress chronique, et que la stimulation par les GC de l'activité noradrénergique dans le BLA permettrait l'induction d'une potentialisation à long terme dans le gyrus denté de l'hippocampe (Lupien *et al.*, 2009 Ghosh *et al.*, 2013). Ces modifications des connexions entre hippocampe et amygdale perdurent suite à l'arrêt du stress chronique.

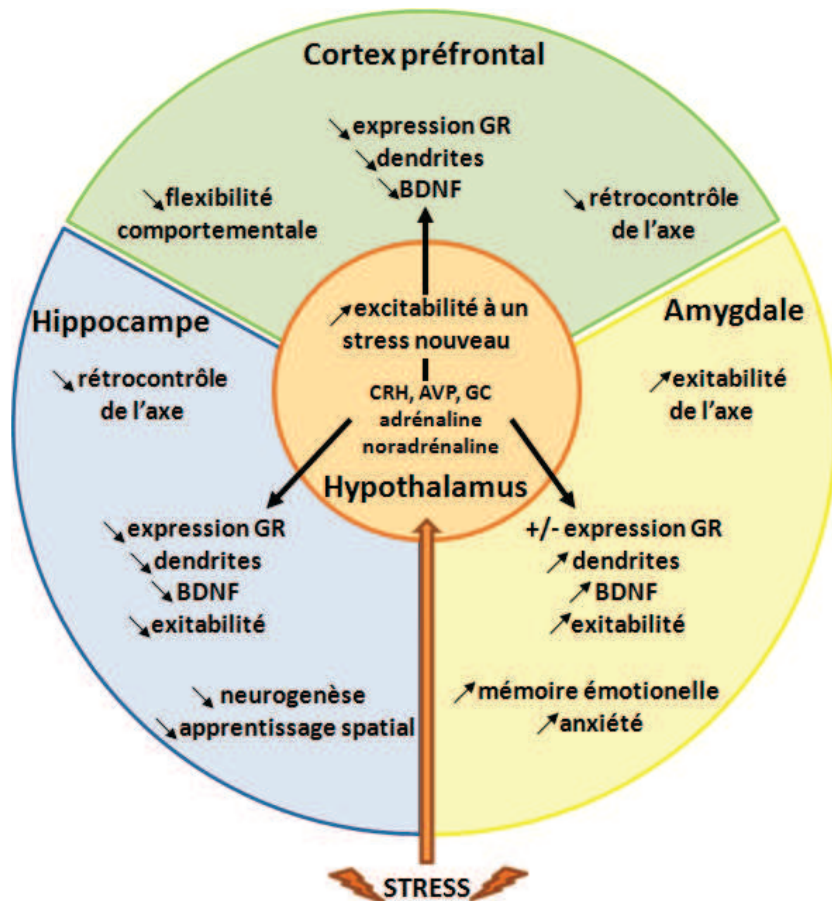


Figure 13 : Synthèse des effets d'une action prolongée des GC sur les trois structures modulant la réponse au stress. Inspirée d'une expertise collective de l'INSERM, 2011

2. Stress chronique et modifications mnésiques

Au niveau cognitif, le stress chronique va perturber les mémoires impliquant l'hippocampe et le cortex préfrontal et à l'inverse, exacerber les mémoires dépendantes de l'amygdale.

Les modifications fonctionnelles induites par le stress chronique au niveau de l'hippocampe et du CPFm, induisent une altération des tâches cognitives impliquant fortement ces structures (Sousa *et al.*, 2008). Ainsi, le stress chronique entraîne des perturbations des mémoires qui requièrent l'intégrité de l'hippocampe, comme la mémoire spatiale (pour revue, voir Conrad, 2010). Concernant les comportements reposants sur le CPFm, le stress chronique engendre des perturbations des différentes composantes de la flexibilité comportementale (inhibition d'une réponse apprise, réactualisation d'un

apprentissage et changement de règle, Malter Cohen *et al.*, 2013). Par exemple, après avoir effectué un apprentissage spatial, les animaux soumis au stress chronique sont incapables d'effectuer une mise à jour de cet apprentissage (notamment d'apprendre une nouvelle localisation, Sandi & Pinelo-Nava, 2007). De la même manière, le stress chronique perturbe l'inhibition des réponses comportementales lorsqu'un stimulus devenu prédictif d'un événement négatif ou d'une récompense ne l'est plus (Dias-Ferreira *et al.*, 2009).

A l'inverse, le stress chronique a un effet facilitateur sur les apprentissages de peur conditionnée, dépendants du BLA, et sur la mémorisation des événements stressants comparativement aux événements neutres (Lupien *et al.*, 2009). Cela serait probablement en lien avec le remodelage dendritique de l'amygdale (Sandi & Pinelo-Nava, 2007).

3. Axe corticotrope et troubles de l'humeur

L'implication de l'axe HPA dans les troubles de l'humeur est clairement démontrée. Chez l'homme, on sait que des 50% patients souffrant de dépression exhibent une hyperactivité de l'axe HPA, résultant en une augmentation des taux circulants de GC (Kalin *et al.*, 1982; Pariante & Lightman, 2008). Ces GC étant incapables de freiner la production d'ACTH et de CRH, l'hypothèse d'un dysfonctionnement du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA passant par une désensibilisation des GR est avancée dans le cas de la dépression (Pariante, 2003; Pariante, 2004). Le rôle des dérégulations de l'axe HPA dans l'induction de comportements de type dépressifs a été étudié dans des modèles génétiques animaux. Ainsi, il a été démontré qu'une surexpression de CRH est associée avec l'apparition de comportements de type dépressif (Lu *et al.*, 2008). Dans un autre modèle permettant de moduler le taux d'expression des GR, les auteurs montrent qu'une diminution de 50% des GR engendre une augmentation des comportements de type dépressif, tandis qu'une surexpression des GR diminue l'apparition de ces troubles (Ridder *et al.*, 2005).

Enfin, chez l'animal, il est démontré que l'exposition au stress chronique engendre une augmentation des comportements de type anxieux comparativement à des animaux non-stressés (Roozendaal *et al.*, 2009 ; Sandi & Pinelo-Nava, 2007). Les travaux de cette thèse ne portant pas sur les troubles de l'humeur, nous ne détaillerons pas plus la relation entre ces troubles et la fonctionnalité de l'axe HPA.

D. Obésité, troubles de la mémoire et des émotions

I. Altérations mnésiques

a. Chez l'Homme

Les personnes atteintes d'obésité présentent de nombreuses altérations cognitives. Ainsi, on observe des performances plus basses lors de tests évaluant les fonctions cognitives globales, l'attention, les fonctions exécutives et la mémoire chez les personnes obèses comparativement aux personnes de poids normal (Gunstad *et al.*, 2010). Par exemple, de nombreuses études chez les obèses montrent des déficits dans l'apprentissage et le rappel de listes de mots ainsi que dans d'autres tâches visant à évaluer l'empan mnésique (soit la mémoire de travail), même après correction pour les co-morbidités associées à l'obésité, comme les maladies cardiovasculaires et le diabète qui sont associées *per se* à ces troubles cognitifs (Cournot *et al.*, 2006; Elias *et al.*, 2003; Gunstad *et al.*, 2006). Un fort BMI ou RTH est aussi associé avec une perturbation de la mémoire épisodique, sémantique et une diminution des habilités spatiales (Nilsson & Nilsson, 2009). Enfin, il y aurait un lien causal entre la consommation de régimes hyper-caloriques et la perturbation de ces fonctions cognitives (Francis & Stevenson, 2013).

L'ensemble de ces déficits cognitifs se retrouvent aussi bien chez les adultes que chez les enfants et adolescents en situation d'obésité. Ainsi l'obésité juvénile conduit à des déficits cognitifs généraux, et plus particulièrement à des déficits dans des tâches mesurant l'attention, et les fonctions exécutives, telles la flexibilité mentale, l'adaptation aux changements de règle, et l'inhibition (Cserjesi *et al.*, 2007; Jeong *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2008; Lokken *et al.*, 2009; Reinert *et al.*, 2013). De plus, la consommation de régimes riches en lipides et en sucres pendant l'enfance (évalué à 3, 4, 7 et 8 ans) engendre une diminution du QI (quotient intellectuel, score visant à évaluer la cognition générale, mesuré à 8 ans, Northstone *et al.*, 2012).

L'obésité apparaît aussi être un facteur de risque concernant l'apparition et le développement de déficits cognitifs de manière plus tardive dans la vie de l'individu (Dahl *et al.*, 2013; Sabia *et al.*, 2009). Un fort BMI ou une forte adiposité est notamment un facteur de risque avéré pour le développement de la maladie d'Alzheimer, se traduisant par un déficit de la mémoire déclarative épisodique, puis sémantique (Gustafson *et al.*, 2003; Kivipelto *et al.*, 2005; Luchsinger & Gustafson, 2009). De plus, le lien causal entre la consommation de régimes hyper-caloriques et l'augmentation des maladies neuro-dégénératives chez l'Homme est démontré (Francis & Stevenson, 2013).

D'une manière intéressante, la perte de poids chez les individus obèses, qu'elle soit due à un régime ou à une intervention chirurgicale, va engendrer une amélioration voir une restauration de ces aspects cognitifs (Brinkworth *et al.*, 2009; Gunstad *et al.*, 2011 ; Siervo *et al.*, 2011).

b. Dans les modèles d'obésité chez le rongeur

De nombreuses études ont démontré que la consommation de régimes hyper-caloriques engendre des perturbations cognitives. Dans ces études, les animaux sont exposés à différents régimes (durée du régime et teneur en lipides variables, ajout ou non de sucres) et différents systèmes de mémoire sont évalués. Etant donné l'importance des perturbations de la mémoire déclarative chez l'Homme, et notamment l'augmentation de la prévalence d'Alzheimer chez les obèses, la majorité de ces études ont porté sur des tâches d'apprentissage et de mémoire nécessitant l'intégrité de l'hippocampe (Kanoski & Davidson, 2010; Kanoski & Davidson, 2011; Winocur & Greenwood, 2005). Les principales études qui se sont focalisées sur ces tâches mnésiques sont synthétisées dans Tableau 2.

Ce tableau met en évidence le fait que la majorité de ces études ont décelé des déficits des fonctions reposant sur le bon fonctionnement de l'hippocampe, qu'il s'agisse de déficits d'apprentissage ou de mémoire à court ou à long terme. Si ces résultats sont obtenus chez différentes souches de rats et de souris et pour différents types de régimes. Cependant, il apparaît que le pourcentage d'énergie apportée par les lipides influe sur l'induction de ces troubles. Dans un même modèle, un régime dont 40% des Kcal viennent des lipides est sans effet sur l'apprentissage spatial, mais un régime dont 60% des Kcal proviennent des lipides, engendre des déficits d'apprentissage spatial (Pistell *et al.*, 2010). Si nous nous sommes focalisés sur les effets de la consommation de régimes obésogènes sur la cognition, on note que les modèles d'obésité génétique présentent aussi des altérations mnésiques. Ainsi, le rat Zucker et la souris *db/db* présentent des déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale (MWM), ainsi que des perturbations de la plasticité hippocampique (diminution de la neurogenèse, perturbation de la LTP et de la LTD, Li *et al.*, 2002; Stranahan *et al.*, 2008a). Ainsi, il apparaît que le lien entre perturbations de la fonction hippocampique et obésité, qu'elle soit induite par la consommation de régimes HL ou de façon génétique, est robuste.

Article	espèce/sexe	apports par le régime	âge début	durée	dispositif	composante cognitive	effet	mécanismes proposés / testés
Mémoires dépendantes de l'hippocampe								
Granhölm et al., 2008	rat mâle Fisher	lipides saturés (contrôles = insaturés)	16 m	2 m	RAWM	mémoire spatiale de travail	-	- dendrites dans CA1 hippocampique, + activation microgliale (IHC Iba1)
Farr et al., 2008	souris mâle CD-1	lipides = 30% Kcal	2 m	10 m	labyrinthe en T	app. et mémoire spatiale (7j)	-	+ de triglycérides, - LTP dans l'hippocampe
Farr et al., 2008	souris mâle CD-1	lipides = 30% Kcal	2 m	10 m	MWM	mémoire spatiale (1h)	-	+ de triglycérides, - LTP dans l'hippocampe
Valladolid-Acebes et al., 2011	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	1 m	2 m	lab. radial	app. et mémoire spatiale (2j et 6j)	-	≈ glucose, ≈ insuline
Wu et al., 2004	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal	2 m	2 m	MWM	mémoire spatiale (3j)	-	- BDNF - synapsine - CREB dans l'hippocampe
Thirumangalakudi et al., 2008	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	4 m	2 m	RAWM	mémoire spatiale de travail	-	+ Il-6, Il-1b, TNFa, + activation microgliale et astrocytaire (IHC CD45 et GFAP)
Winocur & Greenwood, 2005	rat mâle Long-Evans	lipides = 40% Kcal	1 m	3 m	lab. radial, lab. HW	mémoire spatiale	-	
Winocur & Greenwood, 2005	rat mâle Long-Evans	lipides = 40% Kcal	1 m	3 m	VIDA	mémoire dep. de l'hippocampe et du CPF	-	
Alzoubi et al., 2009	rat mâle Wistar	lipides = 40% Kcal	2 m	3 m	RAWM	mémoire spatiale (30', 5h et 24h)	-	
Mielke et al., 2006	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	2 m	5m - 10m	conditionnement	dep. de l'hippocampe	-	+ glucose
Morrison et al., 2010	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	20 m	4 m	lab. en T de Stone	mémoire spatiale (7j)	≈	
Morrison et al., 2010	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 60% Kcal	20 m	4 m	lab. en T de Stone	mémoire spatiale (7j)	-	+ Nrf2 (+ d'oxydation)
Pistell et al., 2010	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	12 m	5 m	lab. en T de Stone	app. spatial	≈	≈ Il-6, TNFa, MCP-1 et ≈ BDNF dans cerveau total
Pistell et al., 2010	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 60% Kcal	12 m	5 m	lab. en T de Stone	app. spatial	-	+ Il-6, TNFa, MCP-1 et - BDNF dans cerveau total
Murray et al., 2009	rat mâle Wistar	lipides = 60% Kcal	3 m	9j	lab. radial	mémoire spatiale de travail	-	- efficacité des mitochondries, + d'oxydation
Pathan et al., 2008	rat mâle Sprague D	lipides = 60% Kcal	2 m	1 m	MWM	app. spatial	-	+ glucose, triglycérides, cholestérol, insuline
Heyward et al., 2012	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 60% Kcal	3 m	6 m	OLM	mémoire spatiale (24h)	-	+ insuline, - SIRT1 et - PP1 dans l'hippocampe
Heyward et al., 2012	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 60% Kcal	3 m	6 m	NOR	mémoire de rec. (24h)	≈	
Kanoski & Davidson, 2010	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	4 m	3j - 3m	lab. radial	mémoire spatiale (3j et 3m)	-	
Kanoski & Davidson, 2010	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	4 m	3j - 3m	lab. radial	mémoire spatiale de travail	-	
Davidson et al., 2012	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	2 m	7j - 1m	conditionnement	dep. de l'hippocampe	-	+ perméabilité de la BHE
Davidson et al., 2013	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	2 m	10j - 3m	conditionnement	dep. de l'hippocampe	-	+ perméabilité de la BHE, + glucose
Kanoski et al., 2011	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	1 m	3 m	conditionnement	dep. de l'hippocampe	-	+ perméabilité de la BHE
Kanoski et al., 2007	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	3 m	3 m	conditionnement	dep. de l'hippocampe	-	- BDNF dans l'hippocampe et dans le CPF
Stranahan et al., 2008	rat mâle Sprague D	lipides + glucose + fructose	2 m	8 m	MWM	app. spatial	-	- BDNF, - épines dendritiques dans le CA1 de l'hippocampe, - LTP
Wu et al., 2003	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + sucrose 40% Kcal	2 m	1 m	MWM	mémoire spatiale (4h)	+	≈ BDNF, ≈ synapsine et ≈ CREB dans l'hippocampe
Molteni et al., 2004	rat femelle Fisher	lipides = 40% Kcal + sucrose 40% Kcal	2 m	1m et 2m	MWM	app. et mémoire spatiale (3j)	-	- BDNF - synapsine - CREB dans l'hippocampe
Molteni et al., 2002	rat femelle Fisher	lipides = 40% Kcal + sucrose 40% Kcal	2 m	1m et 2m	MWM	app. et mémoire spatiale (3j)	-	- BDNF dans l'hippocampe
Goldbart et al., 2006	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + sucrose 40% Kcal	2 m	3 m	MWM	app. spatial	-	- pCREB dans le CA1 hippocampique
Mémoires non-dépendantes de l'hippocampe								
Farr et al., 2008	souris mâle CD-1	lipides = 30% Kcal	2 m	10 m	conditionnement	non-dep. de l'hippocampe	≈	
Mielke et al., 2006	souris mâle C57Bl/6j	lipides = 40% Kcal	2 m	5m - 10m	MWM	app. et mémoire non spatiale (24h)	≈ puis -	
Kanoski & Davidson, 2010	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	4 m	3j - 3m	lab. radial	mémoire non spatiale (3j et 3m)	≈	
Kanoski et al., 2010	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	1 m	3 m	conditionnement	non-dep. de l'hippocampe	≈	
Davidson et al., 2012	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	2 m	7j - 1m	conditionnement	non-dep. de l'hippocampe	≈	
Davidson et al., 2013	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	2 m	10j - 3m	conditionnement	non-dep. de l'hippocampe	≈	
Kanoski et al., 2007	rat mâle Sprague D	lipides = 40% Kcal + glucose	3 m	3 m	conditionnement	non-dep. de l'hippocampe	≈	- BDNF dans l'hippocampe et dans le CPF

Tableau 2 : Synthèse des principales études ayant porté sur l'étude des fonctions dépendantes de l'hippocampe suite à la consommation de régimes HL. Les études antérieures à l'année 2000 ne sont pas prises en compte dans cette synthèse. Les études ont été regroupées selon le pourcentage de Kcal apportées par les lipides et l'ajout ou non de sucres, puis selon la durée du régime. Pour une meilleure lisibilité, la teneur en lipides des régimes a été arrondie à 5% près et l'âge du début de la consommation des régimes et sa durée à été arrondie au mois près. Les abréviations suivantes ont été utilisées : lab. pour labyrinthe, rec. pour reconnaissance, MWM pour piscine de Morris (Morris water maze), RAWM pour labyrinthe radial aquatique (radial arm water maze), NOR pour reconnaissance d'objet (novel object recognition), OLM pour reconnaissance de localisation (object location memory), lab. HW pour labyrinthe de Hebb-Williams, app. pour apprentissage, dep. pour dépendant(e), VIDA pour alternation après un délai variable (variable interval delayed alternation), CPF pour cortex préfrontal, LTP pour potentialisation à long terme. BDNF et CREB (Brain-Derived Neurotrophic Factor et C-AMP Response Element-binding protein) sont des facteurs témoins de l'activité neuronale. Ils sont impliqués dans l'apprentissage et la mémoire, comme les gènes SIRT1 et PPI. Nrf2 est un facteur permettant de mesurer l'oxydation protéique. Enfin, les performances des animaux sous les régimes sont représentées par - lorsqu'elles sont moins bonnes, ≈ lorsqu'elles sont équivalentes et + lorsqu'elles sont meilleures comparativement aux animaux contrôles.

Enfin, on remarque que certaines des études synthétisées dans ce tableau ont aussi évalué des mémoires ne sollicitant pas directement l'hippocampe. Dans ces tests, regroupés dans le sous le terme 'non-hippocampiques', les animaux soumis aux régimes HL ne semblent pas présenter de déficits majeurs (Tableau 2). Il apparaît donc que les fonctions reposant principalement sur l'hippocampe sont plus sensibles aux effets des régimes HL que les fonctions impliquant d'autres structures.

Nous avons aussi trouvé intéressant de détailler les quelques rares études ayant investigué les conditionnements aversifs. Si ces conditionnements sont indicés, comme dans le cas de l'aversion gustative conditionnée (AGC, un gout devient prédictif d'une intoxication) et le conditionnement de peur au son (le son devient prédictif du choc), le rôle de l'amygdale est primordial pour effectuer l'association. En revanche lors d'un conditionnement au contexte (le contexte devient prédictif du choc) l'hippocampe est alors impliqué (Yamada-Goto *et al.*, 2012). De plus, ces mémoires ont une forte composante émotionnelle, et nous verrons dans le chapitre suivant que l'obésité est liée à des perturbations de la sphère émotionnelle (voir chapitre III.D.2.). Le tableau 3 présente les 5 études qui se sont focalisées sur les effets de l'obésité (induite par la consommation de régimes HL ou génétique) sur les conditionnements aversifs (Tableau 3). On note ici une opposition entre les résultats de ces études, démontrant des perturbations ou une absence d'effet sur le conditionnement de peur, suite à l'exposition au régime HL, ou, à l'inverse, une exacerbation de l'AGC dans les modèles d'obésité génétique. Ainsi, il est difficile de conclure sur les effets de l'obésité sur les mémoires impliquant l'amygdale.

Enfin, la synthèse de ces différentes études ayant investigué les effets de l'exposition à un régime HL sur la cognition met en évidence le fait que les études se sont majoritairement intéressées aux effets de la consommation d'un régime débutant chez l'animal jeune (âgé de 1 à 2 mois au début du régime), adulte (3 à 4 mois), ou plus âgé (12, 16 et 20 mois). Les effets de la consommation d'un régime obésogène dès la gestation ont aussi été investigués. Brièvement, il apparaît que les différentes études sur les effets de l'exposition périnatale (gestation-lactation) à un régime HL démontrent une absence d'effet, une perturbation ou une amélioration sur la mémoire spatiale des descendants (évaluée en MWM, Bilbo & Tsang, 2010; White *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2010, respectivement). Nous ne nous étendrons pas plus en détail sur ces études.

Article	espèce/sexe	apports par le régime / modèle	age début	durée	dispositif	composante cognitive	effet	mécanismes proposés / testés
Yamada-Goto et al., 2012	souris mâle C57Bl/6J	lipides = 60% Kcal	1 m	4 m	conditionnement au son	peur au son (24h) peur au contexte (24h)	- -	- récepteur au BDNF, + NT-3 dans l'amygdale - BDNF, + NT-3 dans l'hippocampe
Heyward et al., 2012	souris mâle C57Bl/6J	lipides = 60% Kcal	3 m	6 m	conditionnement au son	peur au son (24h) peur au contexte (24h)	≈ ≈	
Hwang et al., 2010	souris mâle + femelles C57Bl/6J	lipides	1 m	10 m	conditionnement au contexte	peur au contexte (24h) mâles peur au contexte (24h) femelles	- ≈	- LTP, - LTD dans le CA1 hippocampique et + glucose, insuline, cholestérol ≈LTP, ≈LTD dans le CA1 hippocampique, et ≈ glucose, insuline, cholestérol
Ohta et al., 2003	souris db/db	deficience des recepteurs à la leptine			AGC	mémoire (48h)	+	
Thompson et al., 1993	souris ob/ob	absence de leptine			AGC	mémoire (4j)	+	

Tableau 3 : Synthèse des études ayant porté sur les effets de l'obésité sur les conditionnements aversifs chez la souris. Les abréviations utilisées sont les mêmes que pour le tableau 2, et NT-3 pour neurotrophine 3, LTD pour dépression à long terme.

A notre connaissance, une autre période particulière, la péri-adolescence, n'a pas été investiguée dans le cadre des régimes HL et de leurs conséquences sur la cognition lors de l'initiation des travaux de cette thèse. En effet, même si les études précédemment évoquées débutent l'exposition aux régimes assez précocement (notamment à 1 mois, soit au début de l'adolescence, voir chapitre IV.A.2.), aucune étude n'a comparé les conséquences de la consommation du même régime HL lors de l'adolescence ou à l'âge adulte sur la cognition.

En conclusion, si les études des effets de l'obésité sur la cognition sont nombreuses et font appel à différents modèles, on note une invariance dans le fait de retrouver des perturbations de la fonction hippocampique. Cependant, les auteurs proposent une grande variété de mécanismes pour expliquer cette relation entre consommation de régimes obésogènes et cognition. Nous allons détailler ces mécanismes dans le chapitre suivant. Enfin, les mémoires impliquant l'amygdale sont beaucoup moins explorées dans le cadre de l'obésité, et les résultats obtenus sont contradictoires entre les études lorsque le modèle utilisé varie.

c. Mécanismes potentiels

Dans le cadre de l'obésité, les patients peuvent présenter un syndrome métabolique et/ou le diabète de type 2, qui sont associés *per se* à des déficits cognitifs. Si les études sur la cognition chez les obèses prennent le soin d'exclure les patients diabétiques ou de corriger leurs études selon ces facteurs, l'un des mécanismes proposés pour expliquer les perturbations cognitives chez les obèses est la mise en place des étapes précédant la résistance à l'insuline et l'apparition du diabète (soit l'hyper-glycémie, et l'hyper-insulinémie, Yates *et al.*, 2012). De plus, l'obésité est un facteur de risque pour le développement de la maladie d'Alzheimer. Or cette maladie est considérée comme ayant une composante inflammatoire (Azizi & Mirshafiey, 2012; Holmes, 2013). Le rôle de l'inflammation présente chez les obèses dans l'augmentation de la prévalence de cette maladie a donc été proposé (Misiak *et al.*, 2012). D'une manière plus générale, il apparaît une relation entre le statut inflammatoire, et notamment la concentration d'Il-6 et les altérations cognitives chez l'Homme (Hermida *et al.*, 2012; Rafnsson *et al.*, 2007). Enfin, un possible rôle de l'action des GC dans les déficits cognitifs induits par l'obésité est aussi proposé (Raber, 1998). Ainsi, nous retiendrons que l'état d'inflammation chronique à bas bruit et la dérégulation de l'axe HPA, manifesté par les obèses sont avancés comme étant des mécanismes potentiels dans l'apparition des troubles cognitifs décrits chez ces personnes.

Chez l'animal, de nombreux mécanismes ont été proposés pour expliquer le lien entre surpoids et déficits neuro-cognitifs (voir Tableau 2). Si les différents régimes proposés aux animaux induisent le surpoids et des déficits cognitifs, il apparaît que l'un des facteurs prépondérants dans l'apparition de ces perturbations soit l'apport en acides gras saturés (Greenwood & Winocur, 1996; Kanoski & Davidson, 2011; Kaplan & Greenwood, 1998).

La consommation de ce type de régime induit des perturbations du métabolisme énergétique qui peuvent sous-tendre l'apparition de ces troubles cognitifs. En effet, chez les modèles de DIO, on note une augmentation des taux circulants de glucose, ce qui peut engendrer des perturbations du fonctionnement neuronal par glucotoxicité (Mielke *et al.*, 2006; Tomlinson & Gardiner, 2008). Les trois hormones dont nous avons détaillé le rôle dans le métabolisme (insuline, leptine et ghréline, voir chapitre I.A.3.) sont affectées par la consommation de régimes HL et peuvent ainsi moduler les fonctions cognitives (Pathan *et al.*, 2008; Stranahan *et al.*, 2008b). Plus précisément, une résistance à l'insuline peut apparaître dans les modèles DIO. Or dans des modèles de résistance à l'insuline (et du diabète de type 2) on obtient des déficits cognitifs semblables à ceux obtenus dans le cadre de l'obésité (Greenwood & Winocur, 2005). Il a notamment été démontré récemment que l'infusion d'insuline dans l'hippocampe améliore la mémoire spatiale (et augmente localement la glycolyse), alors que le fait de bloquer l'action de l'insuline (par infusion d'un anticorps anti-insuline) perturbe cette mémoire (McNay *et al.*, 2010). Le surpoids est aussi associé à une résistance à la leptine, or la leptine peut augmenter la plasticité synaptique et améliorer les fonctions mnésiques dépendantes de l'hippocampe (Harvey, 2007). Ainsi, la désensibilisation des récepteurs à la leptine pourrait participer aux effets délétères de l'obésité sur la cognition. Concernant la ghréline, ses taux circulants sont diminués lors du surpoids. La ghréline engendre la formation d'épines dendritiques dans l'hippocampe, et améliore l'apprentissage spatial, tandis qu'une perturbation de l'expression du gène codant pour la ghréline se traduit par une diminution du nombre de synapses dendritiques dans le CA1 de l'hippocampe et une perturbation de l'apprentissage spatial, tous deux restaurés par l'administration de ghréline (Diano *et al.*, 2006). Enfin, la consommation de régimes HL peut aussi induire une hypertriglycéridémie. Or il a été démontré qu'une injection de triglycérides dans le cerveau peut perturber les fonctions cognitives spatiales (notamment en MWM, Farr *et al.*, 2008).

Un autre mécanisme proposé pour expliquer les perturbations cognitives engendrées par la consommation de régimes HL est la diminution des facteurs neurotrophiques (notamment du BDNF). La plasticité synaptique et la neurogenèse, qui soutiennent l'apprentissage et la

mémoire, sont favorisés par le BDNF (Francis & Stevenson, 2013; Park *et al.*, 2010). Or des animaux exposés aux régimes HL présentent des taux diminués de BDNF. Ainsi de nombreux auteurs ont proposé que les faibles taux de BDNF puissent soutenir l'apparition des déficits cognitifs (Kanoski *et al.*, 2007; Molteni *et al.*, 2002; Molteni *et al.*, 2004; Stranahan *et al.*, 2008b; Wu *et al.*, 2003). Toutefois le lien entre prise de poids et réduction des taux de BDNF n'est pas élucidé.

La neurogenèse hippocampique, qui sous-tend les fonctions cognitives (Goodman *et al.*, 2010) est diminuée suite à la consommation de régimes obésogènes. Cette diminution de neurogenèse corrèle avec une augmentation des taux de GC circulants (Lindqvist *et al.*, 2006) et avec une diminution des taux de BDNF (Park *et al.*, 2010). Ainsi, la diminution de la neurogenèse apparaîtrait comme liée à d'autres dérégulations engendrées par le régime HL, et sous-tendrait les répercussions sur la cognition (qui n'ont pas été explorées dans ces études).

Cependant, ces deux facteurs (BDNF et neurogenèse) sont liés à la cognition, en ce sens qu'un apprentissage spatial va engendrer une augmentation des taux de BDNF et de la neurogenèse hippocampique. Ainsi le lien entre perturbation cognitive et diminution de ces facteurs est complexe et bidirectionnel. Il est donc possible que ces dérégulations de la neurogenèse et du BDNF résultent d'une perturbation des fonctions cognitives chez les individus soumis aux régimes HL, et non l'inverse.

Enfin, l'obésité est considérée comme une pathologie inflammatoire à bas bruit. Or la dérégulation des taux circulants de cytokines affecte la cognition, comme nous l'avons précédemment détaillé (chapitre II.A.1.). L'augmentation de l'activation microgliale et des taux de cytokines pro-inflammatoires est retrouvée dans les modèles DIO et participe à la manifestation des troubles cognitifs (Granholm *et al.*, 2008; Pistell *et al.*, 2010; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). D'une manière intéressante, il apparaît que les cytokines circulantes peuvent diffuser dans le cerveau, au niveau des zones peu protégées par la barrière hémato-encéphalique, notamment dans les organes circum-ventriculaires (dont l'hippocampe, Kongsman *et al.*, 2002). Or, dans des modèles de DIO, l'intégrité de la BHE est perturbée, et sa perméabilité est augmentée, notamment au niveau de l'hippocampe (Davidson *et al.*, 2013; Davidson *et al.*, 2012; Kanoski & Davidson, 2011). Cela pourrait donc sous-tendre la sensibilité accrue de cette structure aux effets délétères des cytokines sur la cognition.

De la même manière, le surpoids engendre des dérégulations de l'axe corticotrope, et les taux circulants de GC impactent sur la cognition (voir chapitre III.B.). Pourtant les études démontrant des déficits cognitifs dans des modèles de DIO n'ont pas investigué le rôle des

GC dans ces effets (voir tableau 2). Cependant certaines études proposent une dérégulation des taux de GC comme étant un médiateur potentiel de certains effets sous-tendant les perturbations des fonctions hippocampiques induites par le régime HL, comme la diminution de la neurogenèse (Lindqvist *et al.*, 2006).

2. Altérations émotionnelles

L'obésité est corrélée à des perturbations de la sphère émotionnelle. En effet, des troubles de l'humeur (dépression, anxiété) apparaissent chez les obèses, et nous avons vu précédemment que la mémoire émotionnelle est perturbée dans le cadre des modèles de DIO et des modèles génétiques de l'obésité. Nous allons présenter ici succinctement les troubles de l'humeur en lien avec l'obésité, sachant néanmoins que ces travaux de thèse n'ont pas exploré la sphère émotionnelle *per se*, mais plutôt la mémoire émotionnelle.

a. Chez l'Homme

L'obésité est associée à une augmentation de la prévalence à manifester des troubles neuropsychiatriques, notamment des troubles de type dépressifs et anxieux (Hawkins & Stewart, 2012; Lykouras, 2008). Ainsi, si 10% de la population souffre de dépression majeure, 20 à 30% des obèses en sont atteints (Evans *et al.*, 2005). Cette prévalence atteignant même 75% pour les épisodes de type dépressifs, et 60% pour l'anxiété moyenne à élevée, mesurée chez les femmes obèses présentant des troubles du comportement alimentaire (Giusti & Panchaud, 2007). Chez les enfants, les troubles de l'attention et de l'impulsivité (notamment l'hyperactivité ADHD : *attention deficit hyperactivity disorder*) sont plus nombreux chez les obèses que dans la population non obèse (Kalarchian & Marcus, 2012) et l'obésité chez l'enfant prédispose aux troubles dépressifs et anxieux à l'âge adulte (Anderson *et al.*, 2007). De plus, la prévalence des symptômes dépressifs apparaît comme directement corrélée au degré d'obésité. Ainsi une forte prévalence est liée à un fort poids et s'amenuise suite à la perte de poids (Andersen *et al.*, 2010; Brinkworth *et al.*, 2009; Dixon *et al.*, 2003; Hayden *et al.*, 2011).

Cependant, si il existe bien une relation positive entre obésité et troubles de l'humeur (de Wit *et al.*, 2010; Luppino *et al.*, 2010), l'apparition d'épisodes dépressifs lors de l'adolescence apparaît aussi comme étant un facteur de risque pour le développement du surpoids à l'âge adulte (Richardson *et al.*, 2003; Stunkard *et al.*, 2003). Les co-morbidités psychiatriques

apparaissent donc comme une cause mais aussi comme une conséquence de l'obésité juvénile. Il existerait donc un lien complexe entre obésité et dépression, supposant des bases biologiques communes à ces deux pathologies (Kalarchian & Marcus, 2012), parmi lesquelles nous retiendrons la production de cytokines inflammatoires (Capuron *et al.*, 2008) et la perturbation de l'axe corticotrope (axe HPA, Lopresti *et al.*, 2013).

b. Dans les modèles d'obésité chez le rongeur

Chez le rongeur, les comportements dits de 'type anxieux' peuvent être investigués dans différents paradigmes, notamment l'*open field* (OF, arène ouverte) et l'*elevated plus maze* (EPM, labyrinthe en croix surélevé). Dans ces deux tests, le profil exploratoire des animaux témoigne de leur niveau 'd'anxiété'. Les comportements dits de 'type dépressifs' peuvent être évalués dans le test de la nage forcée (FST pour *forced swimming test*) en ce sens que le temps passé en immobilité dans ce test (mesurant la résignation de l'animal) est diminué suite à la prise d'antidépresseurs.

L'exposition à un régime HL engendre une augmentation des comportements de type anxieux, avec notamment une différence d'exploration dans l'EPM et l'OF chez des animaux placés sous un régime obésogène (Boukouvalas *et al.*, 2008; Heyward *et al.*, 2012). Concernant les comportements de type dépressifs, si l'exposition au régime HL se traduit par une augmentation de la résignation dans le FST chez la souris (Sharma & Fulton, 2013; Yamada *et al.*, 2011), elle engendre plutôt une diminution de ce comportement chez le rat (Boukouvalas *et al.*, 2008). Néanmoins, une étude dans un modèle de dépression chez le rat montre que si la consommation d'un régime HL n'affecte pas les rats 'non-déprimés' il exacerbe le comportement de résignation des rats 'déprimés' dans le FST (Abildgaard *et al.*, 2011). De plus, il apparaît que les effets d'un stress périnatal (augmentation des comportements de type anxieux et dépressifs) peuvent être reversés par la consommation d'un régime HL palatable au sevrage. En effet, l'exposition de ces rats stressés précocement à ces régimes entraîne une diminution des comportements de type anxieux et dépressifs (mesurés en EPM et FST, Maniam & Morris, 2010). Ce type d'effet rejoint la théorie de la *comfort food* proposée par Dallman, selon laquelle la consommation d'aliments gras et sucrés a un effet anxiolytique (Dallman, 2010). Ainsi, le lien entre régime HL et troubles de l'humeur est complexe, et dépend notamment de la susceptibilité des individus à manifester ce type de comportements, notamment de part leur histoire de vie (exposition préalable à un stress).

c. Mécanismes potentiels

Chez l'Homme, si au niveau psychologique, les troubles de l'humeur peuvent trouver leur origine dans l'image de soi et la discrimination associée à l'obésité chez certains sujets, il apparaît probable qu'au niveau physiologique, l'état inflammatoire dans lequel se trouvent les personnes atteintes d'obésité soit impliqué dans l'apparition de symptômes dépressifs.

La prévalence des troubles dépressifs et anxieux apparaît être associée aux mesures d'adiposité viscérale (Everson-Rose *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2011), et la production excessive de facteurs inflammatoires par les adipocytes pourrait participer au développement de ces troubles (Dixon *et al.*, 2008; Harrison, 2013; Hashmi *et al.*, 2013; Salim *et al.*, 2012; Valkanova *et al.*, 2013; Vidrih *et al.*, 2012).

Les perturbations du fonctionnement de l'axe HPA, retrouvées dans le cadre de l'obésité et de la dépression, peuvent aussi expliquer le lien entre ces deux pathologies (Lopresti *et al.*, 2013; Pariante, 2004). Ainsi, nous retiendrons que des dérégulations de l'inflammation et de l'axe HPA engendrent des modifications physiologiques dont les conséquences résultent en l'entretien de troubles de l'humeur chez les obèses.

Chez l'animal, le rôle de la leptine a été investigué dans l'apparition des troubles de type dépressifs induits par le régime HL. En effet, si une administration de leptine dans l'hippocampe engendre une diminution des comportements de type dépressifs, il apparaît qu'elle est inefficace dans un modèle d'obésité induite par le régime (dans le FST, Harvey, 2007; Yamada *et al.*, 2011). Ainsi l'augmentation des comportements de type dépressifs dans le cadre de l'obésité seraient en partie dus à une désensibilisation aux effets de la leptine dans l'hippocampe (Yamada *et al.*, 2011).

Enfin, il apparaît que chez les animaux soumis à un régime HL, les niveaux circulants des GC ainsi que l'expression des GR respectivement augmentée dans l'amygdale et diminuée dans l'hippocampe puissent sous-tendre l'augmentation des comportements de type anxieux (Boukouvelas *et al.*, 2008; Sasaki *et al.*, 2013). Or l'activation des GR régule l'expression de gènes, notamment ceux impliqués dans la sécrétion de cytokines. Ainsi, on retrouve une plus forte sécrétion de cytokines pro- et anti-inflammatoires (Il-6 et Il-1ra) dans l'amygdale de ces animaux (Sasaki *et al.*, 2013). Une fois encore, les effets respectifs des taux de GC et de cytokines sont compliqués à investiguer. Cependant, comme chez l'Homme, l'inflammation et l'augmentation des taux de GC, sont des mécanismes privilégiés pour expliquer les répercussions du surpoids sur les troubles de l'humeur.

Résumé

Différents systèmes de mémoire coexistent et permettent la mémorisation de différents éléments. Ces systèmes sont sous-tendus par différentes structures cérébrales, et sont affectés lors de perturbations du fonctionnement de ces structures. Ainsi la mémoire déclarative (chez l'Homme) et les mémoires relationnelles et spatiales (chez l'animal) impliquent fortement le fonctionnement hippocampique tandis que les conditionnements émotionnels aversifs reposent sur l'intégrité de l'amygdale.

Dans le cadre de l'obésité, il apparaît que les performances cognitives et émotionnelles des individus sont affectées. De nombreuses études se focalisant sur des mémoires dépendantes de l'hippocampe montrent ainsi des perturbations mnésiques dans des modèles d'obésité. De plus l'obésité est corrélée avec une dérégulation des mémoires émotionnelles aversives, bien que les études sur ce sujet soient peu nombreuses et contradictoires.

Si les mécanismes qui sous-tendent ces perturbations cognitives ne sont pas clairement élucidés, il apparaît que l'inflammation chronique à bas bruit et les perturbations du fonctionnement de l'axe HPA décrits chez les obèses puissent être délétères pour l'organisme, et notamment sous-tendre l'apparition de ces troubles.

IV. L'adolescence, une période particulière

A. Définition et caractérisation de l'adolescence

I. Chez l'Homme

L'adolescence (du latin *adolescere* : grandir) est une période de transition entre l'enfance et l'âge adulte. Le début de l'adolescence serait marqué par la puberté (Blakemore *et al.*, 2010), processus neuroendocrinien naturellement engagé par le corps, qui se traduit par d'importants changements physiques, comme le développement des gonades et l'apparition des caractères sexuels secondaires, et qui conduit à la maturité sexuelle. L'âge du début de la puberté varie selon de nombreux facteurs (tel le génome, le climat et la société) et est en général plus précoce de 2 ans chez les filles que chez les garçons. On considère actuellement qu'elle débute aux alentours de 12 ans dans les sociétés occidentales.

Si l'adolescence est associée à la puberté, ces deux notions qui coïncident sur le plan temporel se réfèrent pourtant à des phénomènes distincts (Spear, 2000). Ainsi l'adolescence ferait plutôt référence aux phénomènes de maturation physiologique, neurobiologique et comportementale ayant pour but de permettre à l'individu de développer son indépendance et son autonomie. Elle débiterait vers l'âge de 10 ans, par une période marquée par l'apparition des premières modifications comportementales typiques de l'adolescence. En effet, l'adolescence est caractérisée par une augmentation des comportements sociaux, de la recherche de nouveauté et de l'apparition de conduites à risques (Spear, 2000). Au niveau neurobiologique, on observe la maturation de différentes structures cérébrales (détaillés dans le chapitre IV.B.1.). Ces changements, qui se distribuent de manière diffuse, vont s'étendre jusqu'à l'âge d'environ 20-25 ans (Crews *et al.*, 2007). L'âge de la fin de l'adolescence, qui marque la transition vers l'âge adulte reste floue, et dépend du critère pris en compte (Figure 14).

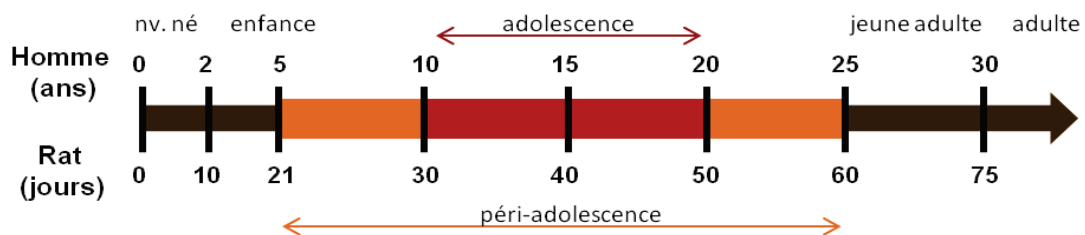


Figure 14 : Les différentes périodes de la vie : comparaison développementale entre Homme et rongeur (adapté d'Andersen, 2003).

2. Chez l'animal

L'adolescence a longtemps été considérée comme une période propre à l'Homme, et même aux sociétés occidentales (Bogin, 1994). Cependant il est à présent admis que l'ensemble des mammifères présente un stade développemental qui s'apparente à l'adolescence humaine. Cette période concomitante à la puberté est caractérisée par une croissance importante ainsi que de nombreux changements neuro-comportementaux similaires à ceux observés chez l'Homme. Ainsi, on retrouve une augmentation des comportements sociaux, des comportements de prise de risque, et de recherche de la nouveauté chez le jeune animal (Spear, 2000).

Si la durée de l'adolescence, et plus spécifiquement les âges où elle débute et prend fin sont compliqués à définir chez l'Homme, il en est de même chez l'animal. Ainsi, selon le critère pris en compte pour la définir (maturité sexuelle, maturation cérébrale...) et l'espèce considérée (mais aussi l'environnement et le mode de vie captif ou sauvage), les limites de l'adolescence ne sont pas clairement établies et varient d'un auteur à l'autre. Ainsi chez le rongeur, Spear la situe entre les jours post-nataux 28 et 42 (P28-42) tout en parlant de changements développementaux observables dès P20 chez la femelle et jusqu'à P55 chez le mâle. Andersen la considère comme s'étendant entre P30 et P50 et Tirelli la découpe en 3 périodes : la 'pré-puberté' allant de P21-34 (P21 étant le sevrage), l'adolescence de P34-46 et l'adolescence tardive entre P46 et 59 (Andersen, 2003; Spear, 2000; Tirelli *et al.*, 2003, Figure 14). Concernant le début de l'âge adulte, il y a cette fois un consensus entre auteurs, qui la considèrent en général comme débutant à P60 (McCormick & Mathews, 2007), laissant une période plus ou moins longue entre la fin de l'adolescence et l'âge adulte (*gray zone*, Spear, 2000).

On notera cependant que les études ciblant spécifiquement la période de l'adolescence chez l'animal sont peu nombreuses et la majorité des études chez le rongeur considèrent les animaux comme adultes à partir du sevrage.

B. L'adolescence, une période de maturation

I. Maturation des aspects neuro-comportementaux

a. Maturation globale du cerveau

Chez les mammifères, le développement du cerveau est loin d'être achevé à la naissance de l'individu, sa maturation perdurant lors de l'enfance et de l'adolescence. Cette dernière apparaît comme une période prépondérante lors de laquelle la majorité des transformations cérébrales morphologiques et fonctionnelles ont lieu. Pendant l'enfance on observe une surproduction neuronale dans le cerveau, qui se traduit par un nombre important de synapses. S'en suit une élimination compétitive, ou '*pruning*', lors de laquelle les neurones surnuméraires non intégrés au réseau sont détruits. Cette stratégie développementale de surproduction et d'élimination permettrait d'assurer la mise en place d'un réseau fonctionnel, en éliminant les neurones et synapses qui n'auraient pas établi de connections appropriées. On retrouve ces deux étapes dans le système nerveux central de la majorité des mammifères, et notamment chez l'Homme, les autres primates et les rongeurs.

Ce phénomène de *pruning* est très prononcé lors de l'adolescence et entraîne la perte d'environ 50% des neurones dans certaines régions cérébrales. On considère que cette étape présente une importante opportunité de plasticité et aiderait au re-câblage du réseau qui s'apparente ensuite au réseau de connexions final typique du cerveau adulte. Enfin, l'élimination des synapses inutiles, coûteuses en énergie, contribuerait à favoriser une meilleure efficacité du réseau. Cela se reflète par la diminution de l'utilisation d'énergie par le cerveau lors de l'adolescence (Spear 2013).

En parallèle de cette diminution du nombre de neurones, on observe, lors de l'adolescence, une augmentation de la rapidité du transfert d'informations d'une région cérébrale à une autre. La connectivité fonctionnelle devient donc plus efficace et plus rapide. Cela s'explique par une importante myélinisation des axones et une augmentation de leur diamètre lors de l'adolescence, ce qui permet d'augmenter la vitesse de transmission de l'influx électrique le long de l'axone. Ainsi, la maturation du cerveau ne s'arrête pas à la maturation séquentielle de différentes structures, mais permet le développement de réseaux de structures sous la forme d'ensembles fonctionnels. En effet, ce processus dynamique favorise la mise en réseau de structures sollicitées pour des fonctions similaires, et réduit la connectivité fonctionnelle avec les autres structures. Ainsi, la cohésion du réseau contribuerait à la modification des patterns

d'activations cérébraux, avec une augmentation de la spécificité de certaines régions cérébrales à répondre lors de certaines tâches, au cours de l'adolescence (Spear 2013).

Le *pruning* et la myélinisation permettent de réorganiser le réseau neuronal lors de l'adolescence afin de sous-tendre l'intégralité des comportements nécessaires à l'entrée dans l'âge adulte. En effet, en plus de ces modifications, visibles dans l'ensemble du cerveau, l'adolescence est caractérisée par des modifications comportementales reflétant d'importants remaniements cognitifs. Si l'augmentation des comportements sociaux, la recherche de nouveauté et l'apparition de conduites à risques sont les plus visibles, l'adolescence se caractérise aussi par des modifications concernant l'attention, la gestion des émotions et la prise de décision ainsi que l'apparition du raisonnement abstrait chez l'Homme. De plus, c'est durant cette période développementale qu'un certain nombre de troubles neuropsychologiques dérivant d'une mauvaise maturation cérébrale peuvent apparaître (anxiété, dépression, schizophrénie, psychoses, addictions, et troubles nerveux du comportement alimentaire, telle la boulimie et l'anorexie).

Plus particulièrement, 3 structures présentent une forte maturation lors de l'adolescence. Il s'agit du cortex préfrontal, de l'hippocampe, et de l'amygdale (Andersen, 2003). Ces structures sont impliquées dans la cognition et la gestion des émotions, et leur développement contribuerait à l'émergence des comportements adultes. Nous allons détailler de manière spécifique les changements qui s'y déroulent lors de l'adolescence.

b. Cortex préfrontal et contrôle cognitif

Les changements neurobiologiques que nous venons d'énoncer (*pruning* et myélinisation) sont particulièrement observables au niveau des zones frontales, et particulièrement du cortex préfrontal (CPF). En plus de la diminution du volume de la matière grise (i.e. du nombre de neurones), et de l'élimination synaptique, les niveaux relatifs des différents neurotransmetteurs et l'expression de leurs récepteurs se modifie pendant l'adolescence pour correspondre au pattern retrouvé chez les adultes (Counotte *et al.*, 2011). Nous ne souhaitons pas détailler ces changements, car les travaux de cette thèse ne portent pas sur la maturation du cortex préfrontal. Cependant, nous notons l'importance de la maturation de cette structure, qui permet la mise en place du contrôle cognitif, de la régulation de l'attention, de

l'inhibition, du contrôle de l'action, de la flexibilité comportementale et d'autres réponses cognitive complexes.

De plus, à cette période, la connectivité du CPF est en plein développement, conduisant à la maturation tardive (vers le début de l'âge adulte) du contrôle 'top-down' du CPF vers les autres structures cérébrales. Par exemple, le nombre de projections du CPF sur la BA diminue de 50% pendant la fin de l'adolescence (P45-90). Ce *pruning* des synapses du CPF sur la BA est donc relativement tardif, et entraîne des changements au sein de ces 2 structures (Cressman *et al.*, 2010). La maturation des connections du CPF vers d'autres structures est importante dans le développement neuro-comportemental des individus. Ainsi, si les adolescents peuvent accomplir les tâches visant à évaluer les fonctions cognitives dépendantes du cortex préfrontal, ils demeurent moins bons que les adultes lorsque la tâche se complexifie, ou doit être réalisée dans des conditions émotionnellement chargées (Spear 2013). De plus, il apparaît que la majorité des troubles pouvant apparaître à l'adolescence résulteraient notamment d'une mauvaise maturation de ce contrôle 'top-down' par le cortex préfrontal.

c. Hippocampe et mémoire épisodique

Pendant les premières phases du développement de l'individu, le nombre de neurones et de synapses excitatrices dans l'hippocampe augmente de manière importante. Ces synapses sont remodelées lors de l'adolescence grâce au *pruning*. Ainsi, si les différentes parties de la formation hippocampique sont différenciables dès la naissance chez l'Homme, et que les changements structuraux majeurs ont lieu pendant la première année de la vie, notamment dans le gyrus denté et le cortex entorhinal (Insausti *et al.*, 2010), l'hippocampe n'est pas totalement mature aussi précocement. En effet, si le volume de l'hippocampe atteint son apogée à l'âge de 10 ans (rapporté à la taille du cerveau, Uematsu *et al.*, 2012), la myélinisation de certaines régions et la neurogenèse hippocampique (formation de nouveaux neurones dans le gyrus denté) perdure tout au long de la vie, même si ces deux phénomènes s'atténuent progressivement avec l'âge.

Il apparaît que le niveau de neurogenèse est plus important en début d'adolescence (P30) qu'à l'âge adulte (P120), et ce dans les deux zones cérébrales où la neurogenèse perdure à l'âge adulte (i.e. le gyrus denté et la zone sous-ventriculaire, He & Crews, 2007). En effet, si la neurogenèse hippocampique se traduit par une augmentation du nombre total de neurones de 25% pendant les périodes précoces de la vie, englobant l'adolescence (de P14 à P60 chez la souris), il apparaît qu'à l'âge adulte (après P60), le nombre total de neurones reste stable, la

neurogenèse adulte permettant alors de compenser la perte due à la mort neuronale (Cushman *et al.*, 2012). Ainsi, une importante baisse de la neurogenèse a lieu lors du passage de l'adolescence à l'âge adulte. Enfin, l'adolescence reste une période importante de *pruning* dans l'hippocampe, induisant une diminution de 25% des récepteurs glutamatergiques NMDA dans les cellules pyramidales (entre P28-60). Ainsi, si chez l'Homme l'hippocampe est considéré comme développé à l'âge de 2ans, chez le rongeur, il est admis que la maturation de cette structure perdure jusqu'au début de l'âge adulte (Lupien *et al.*, 2009).

Au niveau fonctionnel, l'activation de l'hippocampe par la nouveauté va émerger en début d'adolescence (P30 chez le rat, Spear, 2000). Chez l'Homme, la mémoire épisodique se met en place pendant l'enfance, s'améliore aux alentours de 10 ans, et continuerait à se développer pendant l'adolescence. En plus de ces changements au sein de l'hippocampe, les projections de cette structure sur le CPF se mettent en place à l'adolescence (Ghetti & Bunge, 2012). Ainsi, si la stimulation de l'hippocampe (ventral) engendre une modification de la plasticité (LTD) dans le CPF chez l'adulte, ce n'est pas le cas chez l'enfant. Il a récemment été démontré que cette forme de plasticité induite par la stimulation de l'hippocampe nécessite le recrutement de neurones GABAergiques dans le CPF, qui a lieu aux alentours de P55 chez le rat (Caballero *et al.*, 2013). Ces modifications du dialogue entre hippocampe et CPF pourraient participer à la mise en place et l'amélioration des fonctions hippocampiques lors de l'adolescence.

d. Amygdale et gestion des émotions

Pendant l'adolescence, l'amygdale, impliquée dans les comportements sociaux, affectifs et émotionnels, fait l'objet de nombreux changements. Si l'architecture neuro-anatomique de l'amygdale est présente dès la naissance, le volume de l'amygdale augmente en continu pendant l'enfance et l'adolescence (Uematsu *et al.*, 2012). La prolifération cellulaire y est très importante (Saul *et al.*, 2013), ce qui en fait une exception comparativement aux autres structures cérébrales qui subissent le *pruning*. Cela pourrait indiquer que la maturation amygdalienne est plus tardive que celle des autres structures.

Au niveau comportemental, tandis que les adultes discriminent clairement les situations dangereuses de celles qui ne le sont pas, les adolescents sont moins performants dans cette discrimination (Lau *et al.*, 2011). Les stimuli aversifs génèrent des émotions négatives et

signalent des conséquences à éviter en activant l'amygdale. Chez les adolescents, les stimuli négatifs non-sociaux (omission d'une récompense) activent moins cette structure, et sont alors moins évités que chez les adultes (Spear 2013).

Cependant, les émotions à composante sociales, comme l'exposition à des visages apeurés, engendrent une activation exagérée de l'amygdale chez les adolescents comparativement aux adultes et aux enfants. Si la réponse de l'amygdale s'atténue avec la répétition des stimuli, quel que soit l'âge, un plus fort contrôle par le CPF serait nécessaire pour atténuer cette réponse émotionnelle chez les adolescents (Malter Cohen *et al.*, 2013).

Ce biais émotionnel de sur-activation de l'amygdale perturbe les capacités cognitives des adolescents. En effet, si ils sont capables des mêmes décisions rationnelles que les adultes en conditions neutres, ils sont beaucoup plus affectés que les adultes dans des circonstances émotionnellement chargées et stressantes (cognition à chaud). Par exemple, ils prennent beaucoup plus de risques lorsqu'ils sont testés en présence de pairs (Dahl, 2004). On notera que le fait que l'amygdale continue à s'activer fortement en réponse à des stimuli aversifs en fin d'adolescence est corrélé à l'apparition de symptômes d'intériorisation (comportements renfermés, repli sur soi, Swartz *et al.*, 2013).

La peur apprise est largement sous-tendue par l'amygdale et ses connexions vers d'autres structures (LeDoux, 2007). Cependant, peu d'études se sont penchées sur l'apprentissage et la rétention de ce type de conditionnement pendant l'adolescence ainsi que sur les implications de la maturation de l'amygdale sur cet apprentissage. Une étude récente montre que si les adolescents ont des performances similaires à celles des adultes dans un apprentissage de peur (SC : carré jaune, SI : son désagréable), ils ont une atténuation de l'extinction de cet appariement comparativement aux enfants et aux adultes. La même équipe a exploré ce paradigme chez la souris, et trouve les mêmes résultats : si les performances lors de l'apprentissage de peur (SC : son, SI : choc électrique) sont les mêmes chez des souris adolescentes (P29) que chez des souris plus jeunes (P23) ou adultes (P70), l'extinction est diminuée chez les P29. Ainsi, il apparaît qu'au niveau cérébral, l'activation du circuit engagé dans l'extinction du réflexe de peur conditionnée (et particulièrement le recrutement du CPF) est moins fonctionnel à l'adolescence (Malter Cohen *et al.*, 2013).

Le cortex préfrontal est directement connecté à l'amygdale, notamment au travers du faisceau nerveux fronto-occipital inférieur (*Fasciculus uncinatus*). Ce faisceau, qui permet un meilleur dialogue entre ces 2 structures, et sous-tend la régulation du traitement des émotions par l'action du CPF sur l'amygdale se renforce pendant l'adolescence (Swartz *et al.*, 2013).

Ainsi une stimulation de l'amygdale basolatérale (BLA) engendre une plasticité neuronale (LTP) dans le cortex préfrontal chez l'adulte. Cette plasticité du CPF induite par le BLA se met en place chez le rat dès P30-40 et se renforce chez l'adulte (P60-85, Caballero *et al.*, 2013). La mise en place de la connectivité de ce réseau et du dialogue entre CPF et amygdale lors de l'adolescence pourrait expliquer les modifications fonctionnelles au niveau de l'amygdale à cette période. Cependant ces études sur les différences comportementales dans les apprentissages de peur chez l'adolescent et les mécanismes neuronaux sous-jacents restent peu nombreuses (Scherf *et al.*, 2013).

2. Maturation de l'axe corticotrope

Pendant l'enfance, les individus présentent une période d'hypo-réponse au stress. Durant cette période, le niveau plasmatique de base des GC est bas, et l'activation de l'axe HPA en réponse à un stress est faible, induisant une sécrétion modérée de GC. Cette période d'hypo-réponse dure les 2 premières semaines de vie chez le rongeur (Lupien *et al.*, 2009). Les niveaux adultes de corticostérone plasmatique sont atteints vers la 4^{ème} semaine de vie (aux alentours de P28, McCormick & Mathews, 2007). Au début de l'adolescence, la sécrétion de GC en réponse à différents stress est retardée et prolongée comparativement à chez l'adulte. L'axe HPA continue à être activé de manière prolongée suite à l'exposition à un stress pendant toute l'adolescence. En effet, l'augmentation des niveaux d'ACTH et de GC, induits par un stress physique ou psychologique aigu, met le double de temps à revenir à un niveau basal chez des rats en début d'adolescence comparativement à chez des rats adultes. Si les fluctuations de corticostérone plasmatique deviennent similaires à celles observées chez l'adulte vers P30-40, les fluctuations d'ACTH en réponse au stress se régularisent plus tardivement (vers P50-60, Foilb *et al.*, 2011). Ces études suggèrent que la mise en place d'un rétrocontrôle fonctionnel aurait donc lieu lors de l'adolescence. En effet, avant P30, le rétrocontrôle négatif est immature, comme en témoigne la forte concentration de corticostérone, plus d'1h après un stress aigu chez des rats de P21 et P25 (Schapiro *et al.*, 1962). Chez la souris, les mâles exhibent une plus forte sécrétion de GC en réponse à un stress de contention à P30 qu'à P75. Cependant, aucune différence concernant les taux protéiques de GR n'est retrouvée entre ces animaux. On notera que dans cette étude, aucune différence de réactivité au stress n'est retrouvée entre des femelles à P30 et à P75 (Romeo *et al.*, 2013). De plus, suite à l'injection de dexaméthasone (GC de synthèse qui active le rétrocontrôle négatif de l'axe, ce qui freine la sécrétion endogène de GC), les taux de GC induits par un stress sont

plus élevés à P28 qu'à P81. La sécrétion prolongée de GC en réponse à un stress ne dépend ni d'une différence d'élimination de l'ACTH, ni de la capacité de liaison des GR et MR (McCormick & Mathews, 2010). En revanche, on sait que suite à un stress aigu, de nombreuses régions cérébrales s'activent chez l'adulte tandis que chez le jeune cette activité est plus locale et importante dans le PVN de l'hypothalamus, notamment au niveau des neurones responsables de la sécrétion de CRH. Cela suggère une moindre activation des structures impliquées dans le rétrocontrôle négatif chez les jeunes rats (McCormick & Mathews, 2007; Romeo, 2010).

L'exposition excessive au stress pendant les périodes précoces de la vie engendre des perturbations de la mise en place de l'axe HPA et des conséquences qui perdurent tout au long de la vie de l'individu (Eiland & Romeo, 2013). Sans rentrer dans les détails, on sait que chez l'Homme, les enfants dont les mères étaient stressées, anxieuses, ou ont manifesté une dépression pendant la grossesse présentent une plus forte activité de l'axe HPA à 6 mois, 5 ans et 10 ans, et ont une prévalence élevée à manifester des troubles de l'humeur et de l'attention. Cependant, les soins maternels pourraient permettre de rétablir un fonctionnement endocrinien et cérébral normal, ce qui est consistant avec le fait que l'axe corticotrope continue sa maturation après la naissance de l'individu.

Chez le nouveau né, l'exposition répétée au même stress engendre une sécrétion accrue d'ACTH et de GC. A l'inverse, chez l'adulte, la réponse neuroendocrine de l'axe HPA diminue lors d'une exposition à un stress répété, ou chronique, ce qui permettrait de protéger l'individu d'une trop longue exposition à des taux élevés de GC. Pour autant, l'axe HPA s'activera normalement en réponse à un nouveau stress. Cette réponse différenciée de l'axe HPA en fonction du stress se met en place à l'adolescence, soit aux alentours de P40 chez le rat, avec une certaine variabilité selon le sexe des animaux et le type de stress utilisé (McCormick & Mathews, 2007). Ainsi, l'exposition à un stress chronique en début d'adolescence engendre une libération plus importante de GC, rendant ces individus plus susceptibles aux conséquences délétères du stress chronique que les adultes.

Enfin, l'activité de l'axe HPA est modulée par certaines structures cérébrales (chapitre II.B.1.b.). L'amygdale a un rôle critique dans l'activation de l'axe HPA en réponse à un stress émotionnel ou cognitif, et à l'inverse, l'hippocampe et le cortex préfrontal régulent la réponse à ces stimuli. D'une manière intéressante, la connectivité de ces structures se met en place à

l'adolescence. On peut donc supposer que la régulation de l'activation de l'axe HPA par ces structures n'est pas totalement fonctionnelle à cette période de la vie.

Chez le rat adolescent, l'hippocampe n'est pas encore mature, et l'exposition répétée aux GC pendant l'adolescence entraîne une diminution du volume de cette structure ainsi que des déficits de mémoire spatiale chez l'adulte (Lupien *et al.*, 2009). Chez l'Homme l'exposition répétée à des stress lors de l'adolescence n'engendre pas de modifications dans l'hippocampe, qui serait moins sensible car déjà mature. En revanche, le cortex préfrontal, immature, serait vulnérable aux effets de cet environnement stressant. En effet, les GR sont plus nombreux dans le CPF lors de l'adolescence que pendant les autres périodes de la vie, offrant l'opportunité d'une plus forte action des GC sur cette structure. Cela pourrait être la cause du plus faible volume de matière grise (témoignant d'une mort neuronale) observée dans le CPF suite à une exposition à des circonstances défavorables stressantes à l'adolescence (Lupien *et al.*, 2009). Concernant l'amygdale, son activation est exagérée en réponse à des stimuli stressants. Si l'atténuation de sa réponse avec la répétition d'un stimulus sans conséquences est similaire à celle décrite chez l'adulte, l'extinction de sa réponse lorsque les conséquences délétères d'un stimulus sont retirées est moins rapide que chez les adultes. Cela suggère que l'inhibition de l'activation par l'amygdale par le CPF n'est pas assez fonctionnel pour atténuer la réponse de peur chez les adolescents (Malter Cohen *et al.*, 2013).

Un autre mécanisme sous-tendant la régulation de la sécrétion de GC à l'adolescence impliquerait les remaniements hormonaux du début de l'adolescence. La modification de l'activité de l'axe neuroendocrinien hypothalamo-hypophyso-gonadal lors de la puberté engendre l'augmentation de la libération d'hormones sexuelles. Or il a été démontré que les hormones sexuelles influencent la réactivité de l'axe HPA. Ainsi, la testostérone réduit l'intensité et la durée de sécrétion de GC suite à l'activation de l'axe, et les stéroïdes ovariens ont les conséquences inverses. De plus les androgènes peuvent moduler la réactivité de l'axe HPA à partir de P40 environ (Romeo, 2010). Les différents niveaux de ces hormones et la mise en place de leur sécrétion pourraient donc sous-tendre les différences de libération de GC suite à un stress entre individus juvéniles et individus sexuellement matures.

3. Perturbations de la réponse inflammatoire

Nous venons d'évoquer la mise en place de la réponse au stress lors de l'adolescence, et avons vu que l'exposition à un environnement stressant pendant le jeune âge peut entraîner des perturbations de la maturation de l'axe HPA, mais aussi des déficits neuro-comportementaux à l'âge adulte. Au vu des interactions entre axe HPA et réponse immunitaire, détaillées dans le chapitre II.C., il est possible que l'exposition au stress lorsque l'axe HPA est immature ait des répercussions sur les processus inflammatoires.

Il est notamment admis que des enfants ayant grandi dans un contexte défavorable stressant avant 8 ans (placés dans une famille d'accueil, maltraités, séparés d'un des deux parents) présentent une inflammation systémique à l'adolescence (15 ans) et à l'âge adulte, avec des concentrations circulantes élevées de marqueurs d'inflammation (CRP) et de cytokines pro-inflammatoires (Il-6). Or des niveaux élevés d'inflammation (évalués par les taux de CRP) chez l'enfant sont corrélés à l'inflammation systémique chez l'adulte. Ainsi, le stress perçu à l'enfance pourrait entraîner une inflammation dès cet âge, qui perdurerait à l'âge adulte (Slopen *et al.*, 2013a). En plus d'engendrer une augmentation des taux circulants de facteurs inflammatoires, les événements stressants vécus précocement sont associés à une réponse immunitaire altérée à l'enfance et à l'âge adulte. En effet, les individus soumis à une enfance stressante ont un système immunitaire moins compétent et une augmentation de la prévalence de certaines maladies (arthrite rhumatoïde, problèmes gastro-intestinaux). Lors d'une infection avec le virus Epstein-Barr (qui touche plus de 80% des américains de 40 ans), le système immunitaire de personnes saines permet de garder ce virus à l'état de dormance. En revanche ce virus reste actif chez les adultes infectés victimes d'abus pendant leur enfance (Slopen *et al.*, 2013b). Cela suppose que les perturbations de la réponse immunitaire engendrées par le stress à l'enfance perdurent toute la vie de l'individu.

En plus de ces effets du stress précoce sur la réponse immunitaire, les effets d'une infection à différents âges sur l'induction de l'inflammation ont été investigués chez le rongeur. Suite à une injection de LPS à P28 ou à P68 chez le rat, une réponse immunitaire apparaît, quantifiée notamment par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Si les niveaux d'Il-1 β sont similaires quel que soit l'âge des rats, les taux d'Il-6 dans le sang restent élevés 8h après l'injection chez les P68, alors qu'ils ont diminué de moitié pour les rats injectés à P28. En plus de mimer une infection, le LPS induit un stress physiologique. Les auteurs ont donc aussi mesuré les taux plasmatiques d'ACTH et de corticostérone. Si la

libération d'ACTH est similaire aux deux âges, la corticostérone reste élevée 8h après l'injection uniquement chez les P68 (comparativement aux P28). Enfin, le PVN de l'hypothalamus est activé de manière plus importante 8h après l'injection chez les P68 que chez les P28 (Goble *et al.*, 2011). Ainsi, la réponse immunitaire à une infection au début de l'âge adulte est prolongée comparativement au début de l'adolescence. D'une manière intéressante, il en va de même pour la réponse de l'axe HPA à ce type de challenge immun, contrairement à ce qui est observé suite à l'induction d'un stress par d'autres types de stimuli, qui engendrent une réponse prolongée chez le juvénile comparativement à chez l'adulte.

Enfin, il apparaît que les cytokines inflammatoires, qui jouent un rôle sur les capacités cognitives, aient un rôle dans le développement cérébral. Par exemple, le blocage de l'action de l'Il-1 β en prénatal (par l'infusion d'Il-1ra) induit des perturbations de la mémoire dépendante de l'hippocampe chez l'animal adulte (Goshen *et al.*, 2007). Ainsi, si des taux de cytokines élevés pendant l'adolescence peuvent avoir des conséquences délétères sur l'organisme, leur rôle à un taux physiologique reste primordial pour le bon développement de l'individu.

C. L'adolescence, une période de vulnérabilité

L'ensemble des changements neuro-comportementaux et physiologiques que nous venons de présenter font de l'adolescence une période développementale importante pour l'individu. De plus, l'immaturité de l'organisme en fait une période de grande vulnérabilité aux influences environnementales.

Pendant l'adolescence, le taux de décès annuel aux États-Unis augmente de plus de 500%, avec une forte augmentation du nombre d'accidents de la route, d'homicides et de suicides (entre 12-19 ans, Minino, 2010). Ces causes de décès peuvent trouver leur origine dans l'apparition de certains comportements (la prise de risques) et troubles psychiatriques (schizophrénie, addictions, troubles de l'humeur et troubles alimentaires) qui se déclarent à l'adolescence. L'émergence de ces troubles dépend des interactions entre phénomènes psychosociaux (relations sociales, stress), facteurs environnementaux (changements hormonaux, infection virale, exposition à certaines substances), et organisme. Lors de l'adolescence, l'immaturité de nombreux systèmes pourrait résulter en une vulnérabilité accrue aux effets de ces facteurs.

Ainsi, l'exposition à des éléments positifs ou négatifs pendant l'adolescence pourrait altérer les processus de maturation et engendrer des modifications de la topographie ou de la fonctionnalité finale de ces systèmes. En effet, la maturation est un phénomène transitoire qui représente une opportunité de réorganisation unique, lors de laquelle une perturbation peut avoir des conséquences immuables. Cela permet aux organismes immatures de présenter une fenêtre d'opportunité lors de laquelle ils peuvent rediriger un développement potentiellement aberrant, et s'adapter au mieux à leur environnement. La maturation des systèmes va ensuite incorporer de manière permanente les données de cet environnement, et l'organisme mature ne sera plus capable d'autant de plasticité pour réorienter son fonctionnement. On verra alors se mettre en place des stratégies compensatoires pour s'accommoder à l'environnement. Il apparaît donc qu'une exposition à un environnement délétère sera 'fixé' lors de la maturation des systèmes, engendrant des conséquences pendant toute la vie de l'individu. A l'inverse, chez l'adulte, ces systèmes étant matures, leur perturbation par les éléments extérieurs est transitoire et moins importante, engendrant peu de conséquences à long terme pour l'individu (Andersen, 2003).

Ceci a été démontré dans des modèles animaux. Par exemple, l'exposition à un stress aigu pendant les périodes juvéniles (P28) et adultes (P60) engendre un plus fort niveau d'anxiété chez l'adulte que l'exposition aux mêmes événements stressants uniquement à l'âge adulte (P60 et P90), et perturbe l'adaptation aux événements stressants à l'âge adulte (Avital & Richter-Levin, 2005; Horovitz *et al.*, 2012). De la même façon, l'exposition à des drogues d'abus lors de l'adolescence aura des répercussions plus drastiques que si elle a lieu à l'âge adulte. Par exemple, l'exposition pendant l'adolescence à la cocaïne, au cannabis, ou à l'alcool entraîne des altérations des fonctions cognitives qui perdurent à l'âge adulte. De plus, si cette première consommation a lieu pendant l'adolescence, la prédisposition à la re-consommation ultérieure de drogues et d'alcool apparaît plus importante que lorsque la première exposition a lieu à l'âge adulte (Andersen, 2003; Crews *et al.*, 2007; Fabio *et al.*, 2013; Spear, 2000). Les drogues d'abus ne sont pas les seuls agents capables d'induire des perturbations comportementales à long terme lorsqu'elles sont consommées précocement. En effet, l'exposition à une boisson sucrée lors de l'adolescence engendre une diminution de la motivation pour ce type de boisson de manière persistante pendant toute la vie de l'individu. Cela indique des perturbations de la perception des récompenses sucrées et de leur aspect motivationnel, probablement en modifiant la maturation du circuit cérébral de la récompense. La même exposition au sucre à l'âge adulte entraîne une diminution de sa valeur récompensante uniquement de manière passagère, et n'a aucune conséquence à long terme (Vendruscolo *et al.*, 2010a; Vendruscolo *et al.*, 2010b). Ainsi, l'adolescence apparaît comme une période de sensibilité accrue à l'environnement, notamment alimentaire.

Résumé

L'adolescence est une période développementale, décrite chez la majorité des mammifères, lors de laquelle de nombreuses modifications physiologiques et comportementales ont lieu. Entre-autres, on note la maturation du cerveau, de l'axe HPA et de la réponse inflammatoire. L'immaturité de ces systèmes rend les individus plus vulnérables aux modifications environnementales vécues précocement, comparativement à celles vécues à l'âge adulte.

CONCLUSION

Les répercussions de l'obésité à l'âge adulte sont nombreuses et délétères. Or l'obésité, dont une des causes actuelles est un changement de l'environnement alimentaire, engendre des modifications de l'environnement physiologique de l'individu, notamment en dérégulant la réponse inflammatoire et la réponse au stress. On sait aussi que les personnes obèses présentent des troubles cognitifs. Or les cytokines et les glucocorticoïdes seraient potentiellement impliquées, au vu de leur rôle modulateur dans la cognition.

De nos jours, l'augmentation du nombre d'adolescents en situation de surpoids est drastique. De part la maturation des structures cérébrales et de la cognition, mais aussi de la réaction inflammatoire et de la réactivité de l'axe corticotrope, cette période de la vie apparaît comme vulnérable aux perturbations de l'environnement. Nous nous posons donc la question suivante : les conséquences de l'obésité juvénile sur la cognition seraient-elles plus drastiques que les conséquences de l'obésité à l'âge adulte ? Et si oui, quels seraient les mécanismes impliqués dans cette vulnérabilité ?

Objectifs des travaux de thèse

La prévalence de l'obésité augmente de manière drastique chez les adolescents. Or l'obésité, modélisée chez l'animal par la consommation de régimes obésogènes, est corrélée à l'apparition de troubles cognitifs mnésiques. L'adolescence est une période importante pour la maturation des structures cérébrales. Or on sait que les structures immatures se révèlent être plus sensibles aux effets de l'environnement que lorsqu'elles sont matures. Ainsi, il apparaît probable que les effets de la consommation de régimes obésogènes à l'adolescence soient plus importants qu'à l'âge adulte. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a comparé les effets d'une exposition à un régime obésogène englobant l'adolescence aux effets de l'exposition au même régime donné à l'âge adulte uniquement.

Ainsi, l'objectif général de mes travaux de thèse sera de savoir si **l'adolescence apparaît comme une période de sensibilité accrue aux conséquences de la consommation de régimes obésogènes sur la mémoire.**

Pour ce faire, nous avons réalisé une exposition à un régime HL pendant l'adolescence, dont nous comparerons les effets à ceux de la même exposition réalisée à l'âge adulte. Nous avons considéré l'adolescence au sens large, ou péri-adolescence, qui s'étend du sevrage (P21) jusqu'à P60 afin d'être surs d'encadrer la totalité de cette période développementale (voir Figure 14). Cependant, pour des raisons de durée d'exposition au régime, les animaux dits 'exposés à l'adolescence' le seront en réalité pendant une période plus longue (2 mois minimum), couvrant ainsi la péri-adolescence et le début de l'âge adulte, soit de P21 à P81. Par opposition, les animaux 'exposés à l'âge adulte' ne le seront qu'à partir de P90 et ce pour la même durée (2 mois, soit jusqu'à P150) avant le début des expérimentations. D'une manière intéressante, nous attirons l'attention du lecteur sur le fait que toutes les expériences réalisées dans ces travaux de thèse ont lieu chez les animaux maintenus sous ces régimes et testés au plus tôt à P60, soit à l'âge adulte.

Dans la première partie de ces travaux de thèse, nous avons exploré la fonctionnalité des mémoires dépendantes de l'hippocampe dans le cadre d'une exposition au régime obésogène pendant l'adolescence. Plus particulièrement, nous nous sommes posé la question suivante : **un régime HL consommé à l'adolescence peut-il engendrer des perturbations plus importantes des fonctions hippocampiques que lorsqu'il est consommé à l'âge adulte ?**

Pour répondre à cette question, nous avons effectué deux études. La première, chez la souris, nous a permis d'évaluer les conséquences de la consommation d'un régime HL donné à l'adolescence ou à l'âge adulte sur la mémoire spatiale et la mémoire relationnelle (représentant un modèle de la mémoire déclarative), impliquant l'hippocampe. La neurogenèse hippocampique, impliquée dans ces processus, a aussi été évaluée. Enfin, les aspects métaboliques décrits comme altérés par les régimes HL ont été mesurés afin de voir si la consommation d'un même régime à l'adolescence et à l'âge adulte se traduit par différentes perturbations métaboliques, lesquelles pourraient alors sous-tendre une sensibilité accrue aux effets du régime HL chez les animaux exposés à l'adolescence.

La deuxième étude, effectuée chez le rat, nous a permis de voir, en premier lieu, si les résultats obtenus chez la souris, concernant la vulnérabilité de la période adolescente aux conséquences de la consommation du régime obésogène sur la fonctionnalité de l'hippocampe, étaient généralisables à une autre espèce. Dans cette étude, nous nous sommes aussi intéressés à l'inflammation, comme potentiel mécanisme pouvant expliquer les perturbations de la mémoire hippocampique des animaux exposés au régime HL. Les niveaux de cytokines périphériques et cérébrales et leur rôle dans la modulation de la mémoire hippocampique des animaux sous régime HL ont ainsi été investigués.

La deuxième partie de ce travail de thèse s'est focalisée sur l'investigation de la fonctionnalité d'un autre système de mémoire, dépendant de l'amygdale. Si les effets des régimes HL sur la régulation des émotions sont bien décrits, le fonctionnement des mémoires émotionnelles, reposant sur l'intégrité de l'amygdale restent peu étudiés et contradictoires dans le cadre de l'obésité. De manière originale, nous avons donc souhaité investiguer les répercussions de la consommation d'un régime obésogène sur ces mémoires émotionnelles impliquant l'amygdale, en explorant la potentielle vulnérabilité de l'adolescence à ces répercussions. Ainsi, nous avons étudié si **la consommation d'un régime HL à l'adolescence pouvait avoir des conséquences plus importantes sur les fonctions amygdaliennes que lorsque la consommation a lieu à l'âge adulte.**

Ces travaux font l'objet du 2^{ème} chapitre de cette thèse, au cours duquel nous avons étudié la fonction amygdalienne suite à l'exposition au régime HL pendant l'adolescence ou l'âge adulte, chez le rat. Le fonctionnement de l'amygdale a été investigué au niveau comportemental, au travers de la mémoire émotionnelle aversive, ainsi qu'au niveau cellulaire, au travers de la plasticité synaptique. L'axe corticotrope, et plus précisément les hormones glucocorticoïdes (GC) sont fortement impliquées dans la modulation du fonctionnement de l'amygdale. Nous avons donc mesuré la sécrétion de GC chez les animaux exposés au régime HL au niveau basal et suite à différents stress, mais également les activations cellulaires induites au niveau de l'amygdale.

Enfin, nous avons investigué si les effets des GC sur l'amygdale pouvaient sous-tendre les changements comportementaux et cellulaires induits par la consommation du régime HL à l'adolescence.

Chapitre I

Conséquences de la consommation d'un régime hyper-lipidique à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques

Juvenile, but Not Adult Exposure to High-Fat Diet Impairs Relational Memory and Hippocampal Neurogenesis in Mice.

C. Boitard, N. Etchamendy, J. Sauvant, A. Aubert, S. Tronel, A. Marighetto, S. Layé & G. Ferreira.

Accepté à *Hippocampus* le 4 avril 2012.

Impairment of Hippocampal-dependent Memory Induced by Juvenile High-Fat Diet Intake is Associated with Enhanced Hippocampal Inflammation in Rats.

C. Boitard, A. Cavaroc, J. Sauvant, A. Aubert, N. Castanon, S. Layé & G. Ferreira.

Soumis à *Brain, Behaviour and Immunity*.

Conséquences de la consommation d'un régime hyper-lipidique à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques

Article 1: Juvenile, but Not Adult Exposure to High-Fat Diet Impairs Relational Memory and Hippocampal Neurogenesis in Mice.

Résumé

L'ensemble des données de la littérature démontre que les patients obèses ont une plus forte susceptibilité à développer des troubles mnésiques, notamment concernant les mémoires déclaratives, dépendantes de l'hippocampe (Francis & Stevenson, 2013; Nilsson & Nilsson, 2009; Sellbom & Gunstad, 2012). Ainsi, la prévalence de la maladie d'Alzheimer (caractérisée par des pertes de la mémoire déclarative) est plus importante chez ces personnes que dans le reste de la population (Berrino, 2002; Pasinetti & Eberstein, 2008).

Chez l'animal, l'exposition à des régimes HL obésogènes engendre des déficits cognitifs, notamment dans des tâches nécessitant l'intégrité de l'hippocampe (Kanoski & Davidson, 2011). En revanche, la potentielle vulnérabilité de la période adolescente aux effets délétères de ces régimes n'a pas été investiguée. Pourtant, l'hippocampe, immature à la naissance, continue à se mettre en place à l'adolescence. Il apparaît donc probable que cette structure soit plus vulnérable aux effets de la consommation d'un régime HL à cette période de la vie.

Ainsi, dans cette première série d'expériences, nous avons souhaité investiguer si les **répercussions d'une exposition au régime HL sur la fonctionnalité de l'hippocampe sont plus importantes lorsque l'exposition a lieu pendant l'adolescence comparativement à l'âge adulte.**

En premier lieu, nous avons investigué la fonctionnalité de l'hippocampe au travers de sorties comportementales. En utilisant le dispositif du labyrinthe radiaire à 8 bras, nous avons évalué l'apprentissage et la mémoire spatiale des animaux, tâches nécessitant l'intégrité de l'hippocampe. Dans nos conditions, seule l'exposition au régime HL à l'adolescence engendre des déficits d'apprentissage spatial. Chez les animaux ayant réussi à acquérir l'apprentissage spatial, nous avons évalué la flexibilité de la mémoire relationnelle. En effet, chez l'animal, cette mémoire permet de modéliser la mémoire déclarative humaine (Etchamendy *et al.*, 2011). Nos résultats montrent que seuls les animaux exposés au régime HL à l'adolescence présentent des déficits de mémoire relationnelle.

Ces fonctions mnésiques impliquant la plasticité de l'hippocampe, nous avons ensuite évalué la neurogenèse, une forme de plasticité reposant sur la formation permanente de nouveaux neurones dans le gyrus denté de l'hippocampe, grâce à l'utilisation d'un marqueur de neurones immatures (la doublecortine, DCX). Seule l'exposition au régime HL à l'adolescence engendre une diminution du nombre de neurones immatures (de l'ordre de 20-25%), comparativement aux animaux exposés à un régime contrôle (C) à cette même période. L'exposition à un régime HL à l'âge adulte n'engendre aucune diminution de la neurogenèse comparativement aux animaux de même âge exposés au régime C.

Enfin, les effets de la consommation du régime HL sur la prise de poids et sur le métabolisme ont été mesurés. L'exposition au régime HL engendre une prise de poids ainsi que des perturbations métaboliques (augmentation des taux de leptine, d'insuline et de cholestérol) comparativement aux groupes C. Cependant, ces perturbations sont similaires quelle que soit la période d'exposition au régime. Ainsi, les animaux exposés au régime HL à l'adolescence ne semblent pas plus sensibles aux effets de ce régime sur le métabolisme.

Conclusions

- L'exposition au régime HL à l'adolescence ou à l'âge adulte engendre une prise de poids et des dérégulations métaboliques similaires.
- L'exposition au régime HL à l'adolescence perturbe l'apprentissage spatial et la mémoire relationnelle chez la souris. La même exposition à l'âge adulte est sans effet.
- L'exposition au régime HL à l'adolescence diminue la neurogenèse hippocampique. La même exposition à l'âge adulte est sans effet.
- Ces résultats démontrent que la période adolescente est une période de vulnérabilité aux effets d'un régime HL sur les fonctions hippocampiques.

RAPID COMMUNICATION

Juvenile, but Not Adult Exposure to High-Fat Diet Impairs Relational Memory and Hippocampal Neurogenesis in Mice

Chloe Boitard,^{1,2} Nicole Etchamendy,^{1,2} Julie Sauvant,^{1,2} Agnes Aubert,^{1,2} Sophie Tronel,^{3,4} Aline Marighetto,^{3,4} Sophie Layé,^{1,2} and Guillaume Ferreira^{1,2*}

ABSTRACT: Increased consumption of high-fat diet (HFD) leads to obesity and adverse neurocognitive outcomes. Childhood and adolescence are important periods of brain maturation shaping cognitive function. These periods could consequently be particularly sensitive to the detrimental effects of HFD intake. In mice, juvenile and adulthood consumption of HFD induce similar morphometric and metabolic changes. However, only juvenile exposure to HFD abolishes relational memory flexibility, assessed after initial radial-maze concurrent spatial discrimination learning, and decreases neurogenesis. Our results identify a critical period of development covering adolescence with higher sensitivity to HFD-induced hippocampal dysfunction at both behavioral and cellular levels. © 2012 Wiley Periodicals, Inc.

KEY WORDS: adolescence; overweight; spatial learning; memory; neurogenesis

Overweight and obesity, one of the most serious public health challenges of the 21st century, are mainly due to overconsumption of energy-dense food, particularly high-fat diet (HFD). In addition to adverse health outcomes causing disability and premature death, they are associated with cognitive disturbances. Declarative memory, which critically depends on the hippocampus, is particularly affected in overweight and obese adults (Nilsson and Nilsson, 2009). Overweight children and adolescents also show cognitive impairments (Cserjesi et al., 2007; Li et al., 2008). This can be particularly problematic as childhood and adolescence are crucial periods for the maturation of some brain structures, like the hippocampus, necessary for shaping cognitive function (Spear, 2000). Importantly, these early life periods are very sensitive to environmental challenges, like food intake (Andersen, 2003), and could therefore be particularly susceptible to the adverse effect of HFD consumption.

In animal models, western diet consumption induces overweight and can affect learning and memory functions, especially those depending on the hippocampus (for review, see Kanoski and Davidson, 2011). In addition to this behavioral effect, HFD consumption can also decrease hippocampal neurogenesis, a form of plasticity based on persistent formation of

adult-born neurons in the dentate gyrus (Lindqvist et al., 2006; Hwang et al., 2008; Park et al., 2010). This is of particular importance as hippocampal neurogenesis participates in hippocampal-dependent memory, particularly flexible memory expression (Koehl and Abrous, 2011). However, the existence of a particular early life period of vulnerability to the detrimental effects of HFD on cellular and behavioral function of the hippocampus remains unexplored. Thus, we compare the effects of the same duration of HFD consumption in mice, starting at weaning (covering adolescence) or at adulthood, on hippocampal neurogenesis and behavioral function. We first assessed radial-maze concurrent spatial discrimination learning of three pairs of arms (Marighetto et al., 1999; Touzani et al., 2003). Second, memory flexibility was evaluated by presenting a novel recombined pair of arms. Memory flexibility relying on a relational representation of previously acquired separate experiences (i.e. initial learning; Marighetto et al., 1999) is mediated by the hippocampus in mice (Touzani et al., 2003; see also Etchamendy et al., 2003; Mingaud et al., 2007) and represents an interesting model of human declarative memory (see Etchamendy et al., 2012).

Naïve C57BL6/J male mice (Janvier, Le Genest St. Isle, France) aged either 3 weeks old ($n = 27$, weaning groups) or 12 weeks old ($n = 26$, adult groups) when placed on either standard laboratory chow, control diet (CD) offering 2.9 kcal/g [consisting of 60% carbohydrate, mostly from starch, and 3% fat (A04 SAFE, Augy, France)], or HFD offering 4.7 kcal/g [consisting of 24% (45% kcal) fat, mostly saturated fat from lard, and 41% (35% kcal) carbohydrate, with 20% (17.5% kcal) from sucrose (D12451, Research Diets, New Brunswick, NJ)]. Mice were housed in groups of three per cage with ad libitum access to food and water until 8 days prior to behavioral assessment, where they were housed individually.

Relational memory flexibility was assessed after 11 weeks on HFD or CD using a two-stage radial-maze concurrent spatial discrimination learning. The apparatus was a fully automated, elevated, eight-arm radial maze, and the procedure used was fully described elsewhere (Marighetto et al., 1999). Briefly, the amount of

¹ INRA, Nutrition et Neurobiologie Intégrée, UMR1286, F-33000 Bordeaux, France; ² Université de Bordeaux, Nutrition et Neurobiologie Intégrée, UMR 1286, F-33000 Bordeaux, France; ³ INSERM, Neurocentre Magendie, U862, F-33000 Bordeaux, France; ⁴ Université de Bordeaux, Neurocentre Magendie, U862, F-33000 Bordeaux, France

Grant sponsors: AXA, Emergence de Jeune Equipe INRA

*Correspondence to: Guillaume Ferreira, Nutrition and Integrative Neurobiology (NutriNeuro), INRA 1286 Université de Bordeaux, Bâtiment UFR Pharmacie, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France.

E-mail: guillaume.ferreira@bordeaux.inra.fr

Accepted for publication 4 April 2012

DOI 10.1002/hipo.22032

Published online 17 May 2012 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

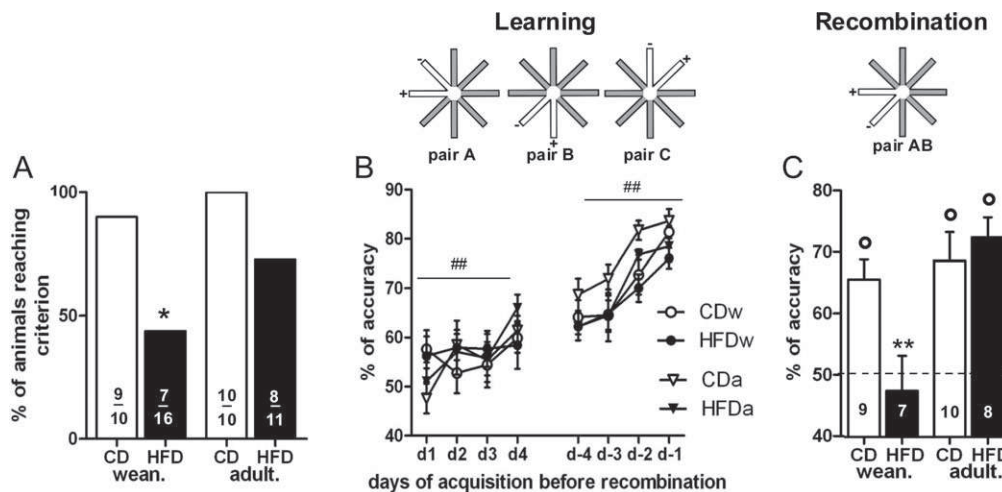


FIGURE 1. Effect of HFD consumption since weaning or adulthood on spatial learning and relational memory. **A:** Percentage of mice reaching the criterion of 75% accuracy in Pairs A and B. **B:** Schematic representation of the three pairs used during learning (the baited arm is represented by + and the not baited arm by - for each pair; top) with the percentage of accuracy (mean \pm SEM) in the three pairs over the first four and the last

four learning sessions before achieving criterion (below). **C:** Schematic representation of a recombined pair AB (top) with the percentage of accuracy (mean \pm SEM) in recombined pair (below). * $P < 0.05$ when compared with the corresponding control groups; ** $P < 0.01$ when compared with the other groups; $^{\circ}P < 0.05$ different from chance level; ## $P < 0.01$ increased performance over session.

food given was first controlled to maintain the original body-weight down to 85% for each mouse. The animals were then habituated to go eating in each arm of the apparatus over 2 days. Six mice did not habituate and were thus excluded. Each mouse was then randomly assigned three adjacent pairs of arms (Pairs A, B, and C; Fig. 1B), each made of a positive (baited) and a negative (not baited) arm. Each daily session consisted of 20 consecutive trials comprising presentations of each pair according to a pseudo-random sequence. In each trial, the animal was confronted with access to both arms of a pair. A choice was considered to be made when the subject reached the food well located at the extremity of the arm. All mice reached the food well located at the extremity of the arm (and ate pellet in baited arm) for each of the 20 daily trials within each of the learning days, with no differences in the time that animals took to reach the reward when comparing the chow-fed and HFD-fed groups. The end of the trial consisted in the animal returning to the central platform, where it was confined for 5 s (inter-trial interval) before the beginning of the next trial. A performance criterion was defined as the mouse reaching an overall choice accuracy of 70% over two successive days with at least 75% accuracy for Pairs A and B. Once the mouse reached this criterion, it was given the recombination task. If the mouse failed to reach the criterion within the 12 learning days allowed, it was excluded from further testing. During the recombination task, for two consecutive days, animals were confronted to 20 consecutive trials with presentations of recombined pair AB (Fig. 1C), Pairs C and N according to a pseudo-random sequence. Recombined pair AB consisted of the association of the positive arm from Pair A (or B) with the negative arm of Pair B (or A). Pair C was the familiar pair seen in the learning stage (positive control), and Pair N was a novel pair (negative control).

Neurogenesis in the hippocampus was evaluated by determining the number of immature neurons in the dentate gyrus characterized by the endogenous marker doublecortin (DCX), a cytoplasmic protein expressed transiently in newborn neurons only (Brown et al., 2003). To avoid a potential effect of spatial learning on neurogenesis (Tronel et al., 2010), DCX immunolabeling was performed 4 weeks after the end of spatial-relational memory assessment. Briefly, 40- μ m sections (spaced 240 μ m apart) were incubated with diluted rabbit anti-DCX antibody (1/800; Abcam, Cambridge, UK) followed by biotinylated secondary antibody and streptavidin peroxidase complex, which was visualized by diaminobenzidine-nickel staining. The number of DCX positive cells was counted on four sections representing the same four levels of the dentate gyrus for all animals.

The same duration of HFD intake, starting at weaning or at adulthood, induced similar overweight and metabolic changes (Table 1). During concurrent spatial discrimination learning, a significantly lower proportion of animals reached criterion in the HFD-fed group since weaning (HFDw) when compared with their control group (CDw, Fisher's exact test, 7/16 vs. 9/10, $P = 0.037$), whereas the HFD-fed and CD groups since adulthood did not differ (HFDa and CDa, 8/11 vs. 10/10, respectively, $P = 0.21$; Fig. 1A). However, the effect of the diet on the proportion of mice reaching criterion did not significantly vary by age (age \times diet interaction; GLM for binary data, $P = 0.47$). Only the subjects reaching criterion during simultaneous discrimination were kept for further analysis. The percentage of correct choice in the three pairs increased in all groups over the first four ($F_{3,90} = 3.7$, $P = 0.015$) and the last four learning sessions ($F_{3,90} = 29.1$, $P < 0.001$) and was not different between groups ($F_{3,90} < 1$ for sessions \times age \times diet interaction; Fig. 1B). When only Pairs A and B were taken into account on the last learning day before recombination, all animals achieved at least

TABLE 1.

Body weight, food intake and metabolic parameters in HFD-fed mice

	Weaning		Adulthood	
	CD	HFD	CD	HFD
Initial body weight (g)*	11.6 ± 1.6	11.3 ± 1.1	24.8 ± 1.6	24.5 ± 1.2
Body weight before behavior*	28.0 ± 0.3	29.1 ± 0.4 [†]	30.2 ± 0.8	33.0 ± 1.2 [†]
Final body weight*	28.9 ± 0.4	34.4 ± 0.7 [‡]	31.5 ± 0.8	38.8 ± 1.5 [‡]
Food intake (g/day)	4.6 ± 0.2	3.0 ± 0.7 [‡]	4.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5 [‡]
Energy intake (Kcal/day)	13.2 ± 0.6	14.2 ± 0.3 [‡]	12.3 ± 1.5	16.1 ± 2.2 [‡]
Leptin (ng/ml)	2.9 ± 0.5	21.2 ± 5.2 [‡]	4.5 ± 0.7	17.6 ± 6.8 [‡]
Insulin (ng/ml)	1.2 ± 0.2	3.2 ± 0.4 [‡]	1.1 ± 0.2	2.9 ± 0.5 [‡]
Corticosterone (ng/ml)	24.6 ± 8.2	56.9 ± 6.9 [‡]	31.8 ± 4.3	47.7 ± 5.6 [‡]
Cholesterol (mg/dl)*	81.6 ± 5.4	145.3 ± 5.0 [‡]	95.1 ± 3.2	166.3 ± 6.6 [‡]
Triglycerides (mg/dl)	47.6 ± 4.5	52.5 ± 3.7	46.5 ± 2.9	56.4 ± 8.6
Glucose (mg/dl)*	130.3 ± 4.7	133.7 ± 2.8	123.1 ± 3.0	121.7 ± 5.6

The 3- or 12-week-old-mice were fed CD or HFD for 17 weeks. The HFD-fed groups weighted 4-10% more than their corresponding CD-fed group just before the beginning of behavioral assessment and 19-23% more at the time of sacrifice. Food and energy intake was measured during 9 weeks prior to behavioral assessment. HFD intake starting at weaning and at adulthood similarly increased basal plasmatic levels of cholesterol, insulin, leptin, and corticosterone and did not modify the basal level of triglycerides and glucose. Blood glucose level was assessed in 24-h food-deprived animals by tail nick using Accu-Check[®] devices (Roche Diagnostics, France) after 15 weeks on diets. The other metabolic parameters were measured in plasma obtained from blood collected at sacrifice using specific kits or bioplex (Biomérieux, France; Millipore, Billerica) after 17 weeks on diets. Total corticosterone was measured by an in-house radioimmunoassay (Richard et al., 2010).

*P < 0.05: age difference; [†]P < 0.06 and [‡]P < 0.05 when compared with corresponding control group.

75% of accuracy, and the performance was not different between groups ($F_{1,30} < 1$ for age × diet interaction).

During assessment of relational memory flexibility, the HFDw group was severely impaired. Performance of CDw, CDa, and HFDa groups were well above chance in the recombinant pair AB (one-sample *t*-test, $t_8 = 4.9$, $t_9 = 4.0$, and $t_7 = 7.1$, respectively; $P < 0.003$), whereas performance of HFDw group was not different from chance level ($t_6 < 1$, $P = 0.6$; Fig. 1C) and was significantly lower than the other groups ($F_{1,30} = 6.5$, $P = 0.016$ for age × diet interaction; post hoc $P < 0.007$ between HFDw group and the other three groups, $P > 0.1$ for all other comparisons). In the previously learned pair (Pair C), all the groups performed above chance level (one-sample *t*-test, $P = 0.07$ for HFDw group and $P < 0.002$ for the

other groups), and there was no difference between groups ($F_{1,30} < 1$ for age × diet interaction; data not shown). In the other control condition consisting in exposure to a novel pair (Pair N), all the groups performed at chance level (one-sample *t*-test, $P > 0.05$ for all groups), and there was no difference between groups ($F_{1,30} = 1.3$, $P > 0.1$ for age × diet interaction; data not shown).

Exposure to the HFD resulted in a significant decrease in the number of DCX-positive cells when intake started at weaning (23% reduction), but not when it started at adulthood (Fig. 2). This was reflected by a significant age by diet interaction ($F_{1,39} = 4.5$, $P = 0.039$, post hoc, $P = 0.0014$ between HFDw and CDw groups, $P = 0.9$ between CDa and HFa groups). Moreover, CDw group (aged 20 weeks old at the time

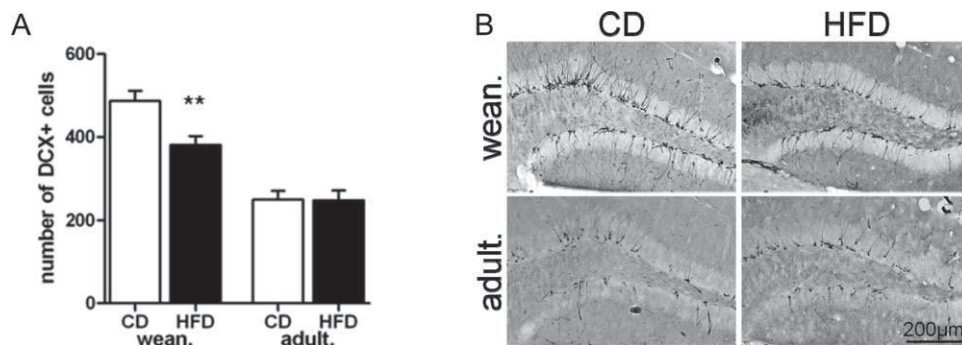


FIGURE 2. Effect of HFD consumption since weaning or adulthood on hippocampal neurogenesis. A: Number of DCX-positive cells (DCX+, mean ± SEM) in the dentate gyrus of the hippocampus. B: Representative DCX staining in the dentate gyrus of the hippocampus for each group. **P < 0.01 when compared with corresponding control group.

of sacrifice) had twofold higher number of new neurons than CDa group (aged 29 weeks old at the time of sacrifice; $P < 0.05$), as previously reported (He and Crews, 2007).

Our results show that early life consumption of HFD, from weaning to adulthood, results in loss of relational memory flexibility as well as decreased hippocampal neurogenesis. Yet, the same duration of HFD consumption confined at adulthood does not yield such adverse consequences. Therefore, early life period appears to be particularly vulnerable to the detrimental effects of HFD consumption on hippocampal functioning at both behavioral and cellular levels.

HFD-fed mice that fail the relational memory show intact spatial discrimination learning although both relational memory and spatial learning depend on the hippocampus. However, it has been repeatedly observed that despite having mastered the initial spatial discrimination learning, performance of aged subjects (mice or humans) drops dramatically during the relational memory assessment (aged mice: Marighetto et al., 1999; Touzani et al., 2003; aged humans: Etchamendy et al., 2012). This suggests that relational memory is a higher challenging cognitive task than spatial discrimination learning, which is more amenable to reveal subtle hippocampal dysfunction induced for instance by juvenile exposure to HFD.

The adolescence period for rodents ranges, in a nonrestrictive way, from the time of weaning (3 weeks old) to 8 weeks old. This is followed by a transition period leading to adulthood that clearly begins after 12 postnatal weeks (Spear, 2000; Andersen, 2003). In our study, early life period of HFD consumption starting at weaning therefore encompasses adolescence, whereas HFD consumption starting when mice were 12 weeks old corresponds exclusively to adulthood challenge. Similar to our results, some studies have found deficits in hippocampal-dependent memory (assessed in radial-arm maze or Morris water maze) when HFD consumption starts at 3–4 weeks of age and lasts at least 2–3 months (Greenwood and Winocur, 2005; Valladolid-Acebes et al., 2011) but not when it starts after 8 weeks of age (Mielke et al., 2006; White et al., 2009; McNeilly et al., 2011). In contrast to these results, some studies report impairment in hippocampal-dependent memory after HFD consumption at adulthood. However, in comparison with our study, these studies used different behavioral paradigms (Morris water maze, Stone T-maze, and radial-maze test of working memory) and different diet-related parameters: a very long duration of HFD consumption (Farr et al., 2008), a very high percentage of HFD (Murray et al., 2009; Pistell et al., 2010), or a combination of HFD with high sugar (Molteni et al., 2002; Stranahan et al., 2008; Kanoski and Davidson, 2010). Combining these findings with ours, we may suggest that early life period is particularly sensitive to the deleterious effects of HFD on hippocampal memory and that adulthood is a less vulnerable period yet not immune to this adverse effect of HFD. Our results also corroborate recent behavioral findings showing that HFD consumption during adolescence impaired conditioned place preference (using HFD reward), whereas later HFD consumption had no effect (Privitera et al., 2011). However, the peripheral or central mecha-

nisms linked to such vulnerability were not investigated in this study.

In parallel to the memory impairment seen only in mice fed with HFD during early life, we found specifically in these mice a decrease in the number of new neurons in the dentate gyrus. Previous studies indicate that HFD consumption is able to decrease the different steps of adult hippocampal neurogenesis, that is, proliferation of neural progenitor cells, neuronal differentiation, and newborn cells survival (Lindqvist et al., 2006; Hwang et al., 2008; Park et al., 2010), albeit a recent report did not find any effects of HFD consumption on cell proliferation in the dentate gyrus (Rivera et al., 2011). In this study, the HFD consumption started when rats were 12 weeks old, whereas younger animals (~ 6 weeks old) were used in the other studies. This corroborates our finding on the vulnerability of the early life period to the effect of HFD on hippocampal neurogenesis. Hippocampal neurogenesis and more specifically the integration of adult-born neurons into the hippocampal circuitry participate in learning and memory (Koehl and Abrous, 2011). In particular, disrupting neurogenesis impairs the ability to use previously learned information in a novel situation indicating that adult-born neurons are critical for flexible, inferential memory expression (Dupret et al., 2008). The task we used is based on relational memory flexibility, and performing this task induces activation of the different hippocampal subregions, including the dentate gyrus (Touzani et al., 2003). Therefore, the specific hippocampal-dependent memory impairment seen in HFD-fed mice during early life seems related to the decrease in hippocampal neurogenesis.

What remains to be established is how hippocampal neurogenesis can be affected by HFD in early exposed mice. Neurogenesis can be lowered by high levels of the stress hormone corticosterone (Joels, 2007). As HFD-fed animals that show decreased neurogenesis also exhibit elevated corticosterone levels (Lindqvist et al., 2006), it was proposed that corticosterone mediates the deleterious effects of HFD intake on neurogenesis. In our conditions, early life and adult HFD consumption similarly increased circulating corticosterone, whereas only early life HFD consumption decreased hippocampal neurogenesis. Nevertheless, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (regulating corticosterone levels) matures during adolescence (Lupien et al., 2009), thereby providing opportunity for high levels of glucocorticoids to produce more drastic changes on hippocampal function in juvenile than in adult animals. Therefore, it would be interesting to more carefully evaluate the impact of HFD consumption during adolescence and adulthood on this axis. Brain inflammation also decreases hippocampal neurogenesis (Ekdahl et al., 2009), and HFD consumption was associated with brain inflammation and spatial memory impairment (Pistell et al., 2010). The causal link between increased hippocampal inflammation following HFD intake during adolescence and decreased neurogenesis and cognitive performance remains to be elucidated.

Previous studies suggest that metabolic changes due to HFD consumption could be responsible for cognitive impairment.

For instance, hypertriglyceridemia induced by 10 months of HFD intake mediated cognitive deficit in CD-1 mice (Farr et al., 2008). In our study, HFD consumption for 4 months did not elevate triglycerides in either early or adult C57BL/6J mice (see also Hwang et al., 2010 for similar results in the same strain). The discrepancy between studies could therefore be due to the duration of HFD consumption and/or to the mouse strain. Higher levels of insulin, glucose, or cholesterol induced by HFD intake have also been linked to cognitive impairment (Greenwood and Winocur, 2005; Stranahan et al., 2008). However, we found similar changes in all these metabolic parameters in both early and adult HFD-exposed groups, whereas only early HFD-exposed mice were cognitively impaired. Early and adult HFD consumption also induced similar overweight and no deficit in food motivation during the task. Therefore, the cognitive impairment seen specifically in mice fed with HFD during early life seems not to be related to HFD-induced metabolic, morphometric, or motivational changes.

In conclusion, HFD exposure in early life (i.e., during adolescence) decreases hippocampal neurogenesis and abolishes relational memory flexibility. Importantly, the flexibility property of relational memory assessed here is a well-defined model of declarative memory (Marigetto et al., 1999; Etchamendy et al., 2012), which is particularly affected in obese humans (Nilsson and Nilsson, 2009). Therefore, it seems of a major concern to investigate how saturated fat diet consumption can have deeper cognitive impact when occurring during adolescence by targeting the maturing brain. A better understanding is needed to prevent the potentially strong cognitive impairment in the nowadays growing population of obese children and adolescents, which may lead to long-lasting cognitive disability.

Acknowledgments

The authors thank Anais Gaillard, Brenda Lopez-Bazan, Laurent Brayda-Bruno, and Jean-Christophe Delpech for technical assistance; Philippe Birac for taking care of the animals; and Dr. Hubert Vaudry (University of Rouen, France) for providing the anticorticosterone antibody. They also thank Maxime Hervé and Denis Poinot (University of Rennes 1 France) for their help with statistical analyses, and Claire Dawson for the English revision of the final text.

REFERENCES

- Andersen SL. 2003. Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27:3–18.
- Brown JP, Couillard-Despres S, Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Aigner L, Kuhn HG. 2003. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *J Comp Neurol* 467:1–10.
- Cserjesi R, Molnar D, Luminet O, Lenard L. 2007. Is there any relationship between obesity and mental flexibility in children? *Appetite* 49:675–678.
- Dupret D, Fabre A, Dobrossy MD, Panatier A, Rodriguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Olier SH, Piazza PV, Abrous DN. 2007. Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *PLoS Biol* 5:e214.
- Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. 2009. Brain inflammation and adult neurogenesis: The dual role of microglia. *Neuroscience* 158:1021–1029.
- Etchamendy N, Desmedt A, Cortes-Torrea C, Marigetto A, Jaffard R. 2003. Hippocampal lesions and discrimination performance of mice in the radial maze: Sparing or impairment depending on the representational demands of the task. *Hippocampus* 13:197–211.
- Etchamendy N, Konishi K, Pike GB, Marigetto A, Bohbot VD. 2012. Evidence for a virtual human analog of a rodent relational memory task: A study of aging and fMRI in young adults. *Hippocampus* 22:869–880.
- Farr SA, Yamada KA, Butterfield DA, Abdul HM, Xu L, Miller NE, Banks WA, Morley JE. 2008. Obesity and Hypertriglyceridemia Produce Cognitive Impairment. *Endocrinology* 149:5:2628–2636.
- Greenwood CE, Winocur G. 2005. High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. *Neurobiol Aging* 26 (Suppl 1): 42–45.
- He J, Crews FT. 2007. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacol Biochem Behav* 86:327–333.
- Hwang IK, Kim IY, Kim DW, Yoo KY, Kim YN, Yi SS, Won MH, Lee IS, Yoon YS, Seong JK. 2008. Strain-specific differences in cell proliferation and differentiation in the dentate gyrus of C57BL/6N and C3H/HeN mice fed a high fat diet. *Brain Res* 1241:1–6.
- Hwang LL, Wang CH, Li TL, Chang SD, Lin LC, Chen CP, Chen CT, Liang KC, Ho IK, Yang WS, Chiou LC. 2010. Sex differences in High-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity* 18:463–469.
- Joels M. 2007. Role of corticosteroid hormones in the dentate gyrus. *Prog Brain Res* 163:355–370.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2010. Different patterns of memory impairments accompany short- and longer-term maintenance on a high-energy diet. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 36:313–319.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103:59–68.
- Koehl M, Abrous DN. 2011. A new chapter in the field of memory: Adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 33:1101–1114.
- Li Y, Dai Q, Jackson JC, Zhang J. 2008. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 16:1809–1815.
- Lindqvist A, Mohapel P, Bouter B, Frielingsdorf H, Pizzo D, Brundin P, Erlanson-Albertsson C. 2006. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol* 13:1385–1388.
- Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* 10:434–445.
- Marigetto A, Etchamendy N, Touzani K, Torrea CC, Yee BK, Rawlins JN, Jaffard R. 1999. Knowing which and knowing what: A potential mouse model for age-related human declarative memory decline. *Eur J Neurosci* 11:3312–3322.
- McNeilly AD, Williamson R, Sutherland C, Balfour DJ, Stewart CA. 2011. High fat feeding promotes simultaneous decline in insulin sensitivity and cognitive performance in a delayed matching and non-matching to position task. *Behav Brain Res* 217:134–141.
- Mielke JG, Nicolitch K, Avellaneda V, Earlam K, Ahuja T, Mealing G, Messier C. 2006. Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. *Behav Brain Res* 175:374–382.
- Mingaud F, Le Moine C, Etchamendy N, Mormede C, Jaffard R, Marigetto A. 2007. The hippocampus plays a critical role at encoding discontinuous events for subsequent declarative memory expression in mice. *Hippocampus* 17:264–270.
- Molteni R, Barnard RJ, Ying Z, Roberts CK, Gomez-Pinilla F. 2002. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived

- neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience* 112:803–814.
- Murray AJ, Knight NS, Cochlin LE, McAleese S, Deacon RM, Rawlins JN, Clarke K. 2009. Deterioration of physical performance and cognitive function in rats with short-term high-fat feeding. *FASEB J* 23:4353–4360.
- Nilsson LG, Nilsson E. 2009. Overweight and cognition. *Scand J Psychol* 50:660–667.
- Park HR, Park M, Choi J, Park KY, Chung HY, Lee J. 2010. A high-fat diet impairs neurogenesis: Involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett* 482:235–239.
- Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, Bruce-Keller AJ. 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* 219:25–32.
- Privitera GJ, Zavala AR, Sanabria F, Sotak KL. 2011. High fat diet intake during pre and periadolescence impairs learning of a conditioned place preference in adulthood. *Behav Brain Funct* 7:21.
- Richard EM, Helbling JC, Tridon C, Desmedt A, Minni AM, Cador M, Pourtau L, Kongsman JP, Mormede P, Moisan MP. 2010. Plasma transcortin influences endocrine and behavioral stress responses in mice. *Endocrinology* 151:649–659.
- Rivera P, Romero-Zerbo Y, Pavon FJ, Serrano A, Lopez-Avalos MD, Cifuentes M, Grondona JM, Bermudez-Silva FJ, Fernandez-Llebrez P, de Fonseca FR, Suárez J, Pérez-Martín M. 2011. Obesity-dependent cannabinoid modulation of proliferation in adult neurogenic regions. *Eur J Neurosci* 33:1577–1586.
- Spear LP. 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24:417–463.
- Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann RS, Egan JM, Mattson MP. 2008. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus* 18:1085–1088.
- Touzani K, Marighetto A, Jaffard R. 2003. Fos imaging reveals ageing-related changes in hippocampal response to radial maze discrimination testing in mice. *Eur J Neurosci* 17:628–640.
- Tronel S, Fabre A, Charrier V, Olier SH, Gage FH, Abrous DN. 2010. Spatial learning sculpts the dendritic arbor of adult-born hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:7963–7968.
- Valladolid-Acebes I, Stucchi P, Cano V, Fernandez-Alfonso MS, Merino B, Gil-Ortega M, Fole A, Morales L, Ruiz-Gayo M, Del Olmo N. 2011. High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. *Neurobiol Learn Mem* 95:80–85.
- White CL, Pistell PJ, Purpera MN, Gupta S, Fernandez-Kim SO, Hise TL, Keller JN, Ingram DK, Morrison CD, Bruce-Keller AJ. 2009. Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: Contributions of maternal diet. *Neurobiol Dis* 35:3–13.

Article 2: Impairment of Hippocampal-dependent Memory Induced by Juvenile High-Fat Diet Intake is Associated with Enhanced Hippocampal Inflammation in Rats.

Résumé

Dans notre 1^{er} papier, nous avons mis en évidence, chez la souris, le fait que l'adolescence apparaît être une période de plus grande vulnérabilité aux effets délétères de la consommation de régimes HL sur la fonction hippocampique (mémoire relationnelle et neurogenèse) que l'âge adulte (Boitard *et al.*, 2012). Dans ce 2^{ème} papier, nous avons souhaité voir si **cette vulnérabilité de l'adolescence aux effets délétères de ces régimes était généralisable à une autre espèce**, mais aussi investiguer plus spécifiquement **les effets du régime HL sur les différentes étapes de la mémoire hippocampique** et explorer si **la neuro-inflammation pouvait être un mécanisme potentiel sous-tendant cette vulnérabilité**.

Pour ce faire, nous avons exploré la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe dans le paradigme de la piscine de Morris (MWM), chez le rat. Après l'apprentissage, les rats sont testés à court (2h) et à long terme (4 jours après la fin de l'apprentissage). Seule la mémoire à long terme est altérée suite à l'exposition au régime HL à l'adolescence, suggérant que l'étape de consolidation est perturbée par l'exposition au régime HL à l'adolescence. En revanche, l'exposition au régime HL à l'âge adulte n'affecte aucune de ces étapes. Ainsi, la plus grande vulnérabilité de la période adolescente aux effets délétères de la consommation de régimes HL, précédemment mise en évidence chez la souris, est généralisable au rat.

Néanmoins, le régime HL consommé uniquement à l'âge adulte n'est pas sans conséquences sur la mémoire spatiale lorsque la tâche se complexifie. Ainsi, si les rats soumis aux régimes C et HL à l'âge adulte montrent tous un fort déficit de mémoire à long terme lorsque le test a lieu 12 jours après la fin de l'apprentissage, une unique session de réapprentissage (la veille de ce test) permet de restaurer une bonne mémoire spatiale uniquement chez les rats C, les rats soumis au régime HL à l'âge adulte étant toujours déficitaires. Ainsi, les effets délétères du régime HL consommé à l'âge adulte sur la mémoire dépendante de l'hippocampe décrits dans la littérature (pour revue, voir Kanoski & Davidson, 2011) apparaissent, dans nos conditions, lorsque la demande mnésique est plus importante.

L'inflammation, observée en condition d'obésité, peut perturber spécifiquement la fonction hippocampique (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010). Nous avons donc mesuré les taux de

cytokines pro-inflammatoires chez nos animaux. Si en conditions basales, l'exposition au régime HL n'induit pas d'inflammation, l'induction d'un challenge immunitaire périphérique (injection de LPS) se traduit par l'augmentation des taux d'IL-1 β et de TNF α , spécifiquement potentialisée dans l'hippocampe des rats exposés au régime HL à l'adolescence. Cette potentialisation n'est pas retrouvée chez les rats soumis au régime HL à l'âge adulte.

L'expression de cytokines, et notamment d'IL-1 β , peut également être augmentée dans l'hippocampe par une situation physiologique comme la réalisation de tâches mnésiques impliquant cette structure (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009). Ainsi, un nouvel apprentissage en MWM (changement de localisation de la plateforme) induit une expression d'IL-1 β spécifiquement dans l'hippocampe uniquement chez les rats exposés au régime HL à l'adolescence.

Enfin, le rôle de la potentialisation de la réponse inflammatoire dans l'hippocampe sur les perturbations des performances mnésiques spatiales ont été investiguées. Lors d'un nouvel apprentissage en MWM, seules les performances des animaux soumis au régime HL à l'adolescence sont légèrement diminuées suite à une injection de LPS, comparativement aux performances de ces animaux lors de l'apprentissage initial.

L'ensemble de ces résultats laisse supposer que la plus forte inflammation hippocampique serait un des mécanismes sous-tendant les déficits de mémoire spatiale chez les animaux exposés au régime HL à l'adolescence.

Conclusions

- L'exposition au régime HL à l'adolescence perturbe la mémoire spatiale à long terme chez le rat, tandis que l'apprentissage et la mémoire à court terme sont préservés, indiquant un effet sur les phénomènes de consolidation. La même exposition à l'âge adulte est sans effet sur ces étapes mais perturbe la mémoire spatiale dans une tâche à plus forte demande cognitive.
- L'inflammation induite par challenge immunitaire (pathologique) ou par un apprentissage spatial (physiologique) est potentialisée de manière spécifique dans l'hippocampe des rats exposés au régime HL à l'adolescence.
- L'induction d'une inflammation par un challenge immunitaire avant la réalisation d'une nouvelle tâche spatiale induit un léger déficit uniquement chez les rats exposés au régime HL à l'adolescence.
- Ces résultats suggèrent que la vulnérabilité de la période adolescente aux effets d'un régime HL sur les fonctions hippocampiques impliquerait l'inflammation hippocampique.

Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats

Boitard Chloé^{1,2}, Cavaroc Amandine^{1,2}, Sauvant Julie^{1,2}, Aubert Agnès^{1,2}, Castanon Nathalie^{1,2}, Layé Sophie^{1,2} and Ferreira Guillaume^{1,2}

¹INRA, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, 33076 Bordeaux, France; ²Université de Bordeaux, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, 33076 Bordeaux, France

ABSTRACT

In addition to metabolic and cardiovascular disorders, obesity pandemic is associated with chronic low-grade inflammation as well as adverse cognitive outcomes. However, the existence of critical periods of development that differ in terms of sensitivity to the detrimental effects of diet-induced obesity remains unexplored. We recently found, in mice, that juvenile obesity induced by high-fat diet (HFD) consumption impaired hippocampal-dependent memory and plasticity whereas similar duration of HFD intake at adulthood had no effect (Boitard et al., 2012). Given that inflammatory processes modulate hippocampal functions, we evaluated in rats whether hippocampal inflammation could participate in the increased vulnerability to the detrimental effect of juvenile HFD (jHFD) on hippocampal-dependent memory.

jHFD exposure, i.e. from weaning to adulthood, impaired long-term spatial reference memory in the Morris water maze without affecting acquisition or short-term memory, suggesting an effect on consolidation processes. jHFD intake did neither affect basal expression of pro-inflammatory cytokines at the periphery nor in the brain, but potentiated the enhancement of Interleukin-1-beta and Tumor Necrosis Factor-alpha expression in the hippocampus, but not in the frontal cortex and the hypothalamus, after a peripheral immune challenge with lipopolysaccharide. Interestingly, whereas the same duration of HFD intake at adulthood induced similar weight gain and metabolic alterations as jHFD intake, it did neither affect long-term spatial memory nor lipopolysaccharide-induced cytokine expression in the hippocampus. Finally, after spatial training, learning of a new location was delayed in jHFD rats and enhanced Interleukin-1-beta specifically in the hippocampus of these animals. Moreover, an immune challenge before reversal learning slightly impaired jHFD-fed rats' performance, as compared to the last day of spatial training.

Taken together, these results indicate that jHFD intake promotes exaggerated pro-inflammatory cytokines expression in the hippocampus which is likely to be involved in the impairment of hippocampal-dependent memory.

Running title: Juvenile high-fat diet alters spatial memory and hippocampal inflammation

Key-words : adolescence, overweight, spatial learning, memory

* Corresponding author: Guillaume Ferreira
Nutrition and Integrative Neurobiology (NutriNeuro)
INRA 1286 - Université de Bordeaux,
Bâtiment UFR Pharmacie, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France
email : guillaume.ferreira@bordeaux.inra.fr
Tel: 33 (0)5 57 57 12 33
Fax : 33 (0)5 57 57 12 27

INTRODUCTION

Obesity has doubled worldwide in the past decades, becoming pandemic (World Health Organisation, 2011). Overconsumption of energy-dense food is advanced as the major explanation for the current increase of overweight and obesity, including for children and adolescents (Ervin & Ogden, 2013). Obesity is one of the major public health challenges, since it is directly linked to various co-morbidities such as cardiovascular diseases, metabolic disorders and some cancers. In addition, studies started to evidence the fact that obesity is associated with cognitive deficits in humans, especially declarative memory which depends on the hippocampus (for review, see Francis & Stevenson, 2013; Nilsson & Nilsson, 2009; Sellbom & Gunstad, 2012). High-fat diet (HFD) consumption in rodents provides a very accurate model of obesity in humans and HFD-induced obesity impairs learning and memory processes, in particular those dependent on the hippocampus (for review, see Kanoski & Davidson, 2011). Obesity is increasing at an alarming rate in children and adolescents. This can be particularly problematic as these developmental periods are crucial for the maturation of the hippocampus (Spear, 2000). We recently demonstrated that HFD exposure from weaning to adulthood, i.e. covering adolescence, induces stronger impairment than adult HFD exposure in hippocampal-dependent memories indicating that the juvenile period is particularly sensitive to the effects of HFD on memory (Boitard *et al.*, 2012).

While the mechanisms involved in the effect of HFD consumption on hippocampal-dependent memory remain poorly understood, inflammation has been proposed as a potential candidate. Indeed, there is a tight link between cytokines and hippocampal-dependent learning. On one hand, spatial or contextual learning enhances pro-inflammatory cytokines expression in the hippocampus of lean mice (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009). On the other hand, cytokines modulate hippocampal-dependent memory. Whereas low hippocampal levels of pro-inflammatory cytokines can facilitate learning, high levels of cytokines, in particular interleukin-1 beta (IL-1 β), specifically impair memories relying on the hippocampal formation in adult non-obese rodents (Goshen *et al.*, 2007; Rachal Pugh *et al.*, 2001; Hein *et al.*, 2010). Interestingly, obesity is considered as an inflammatory disease since both adipose tissue and gut microbiota contribute to the chronic peripheral low grade inflammation described in obese patients, as well as in rodent models (Clement *et al.*, 2004; Cottam *et al.*, 2004; Everard & Cani, 2013). In rodents, obesity is also associated with heightened levels of pro-inflammatory cytokines in the brain (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010), and we and others have shown that this brain inflammation in obese animals is directly linked to the deficits of hippocampal-dependent memory (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010).

However, these studies were conducted in adult or middle-aged animals. Thus it remains to be investigated whether the higher sensitivity to the detrimental effects of juvenile HFD intake on hippocampal memory (Boitard *et al.*, 2012) is associated with a higher HFD-induced hippocampal inflammation. To this end, we first assessed the effects of juvenile HFD exposure, in comparison to adult HFD exposure, on hippocampal-dependent spatial memory and described the inflammatory status in rats. Pro-inflammatory cytokines at the periphery and in the brain were first measured at basal state. Then, inflammatory reactivity was evaluated following acute immune-challenge. We also assessed cytokine levels following our learning paradigm in both juvenile control and HFD-fed animals as hippocampal-dependent learning is able to increase pro-inflammatory cytokines in the hippocampus (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009). Finally, as previous studies revealed that ageing or neurodegenerative states confer increased susceptibility to acute inflammation-induced cognitive deficits (Chen *et al.*, 2008; Field *et al.*, 2012; Murray *et al.*, 2012), we explored whether juvenile HFD intake predisposed for spatial memory impairments induced by peripheral immune challenge.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets

Animals were Wistar naïve male rats (Robert Janvier, Le Genest St-Isle, France) aged either 3 weeks old (juvenile groups) or 12 weeks old (adult groups) on arrival. They were housed in groups of 2 to 4 individuals in polycarbonate cages (48*26*21cm) in a air-conditioned (22±1°C) animal-keeping room maintained under a 12:12 LD cycle. Animals had *ad libitum* access to food and water and were weighted once a week since arrival until sacrifice. On arrival, animals of both groups of age were divided in 2 groups with no weight differences, one receiving control diet, containing 2.5% lipids and offering 2.9 Kcal/g (CD, A04 SAFE, Augy, France) and the other receiving high-fat diet containing 24% lipids and offering 4.7 Kcal/g (HFD, D12451, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA). One week before the behavioral task, rats were isolated in individual cages (35*23*19cm) and habituated to be handled by the experimenter. Rats were exposed to CD or HFD for 2 months starting either at weaning (3 weeks-old; jCD and jHFD groups), i.e. throughout adolescent development (from weaning to adulthood; Spear et al., 2000), or at adulthood (starting at 12 weeks-old; aCD and aHFD groups) before the beginning of behavioral tasks. Some animals will be exposed to CD or HFD for only one month starting at weaning in order to cover adolescence in a more restrictive manner. All behavioral experiments were performed on adult animals and sacrifice occurred after 4 months of diet exposure.

Behavioral task: the spatial version of the Morris water maze (MWM)

Apparatus

A circular tank (150cm in diameter and 50cm high) was filled with water (22±2°C) made opaque by addition of white paint. A platform (10cm diameter, 30cm away from the edge of the tank) was submerged 5cm underneath the water surface, therefore not visible for the rats. Visual cues are provided on the walls of the room to allow spatial navigation. A camera wired to an automated tracking system (SMART v2.5.20, Panlab, Barcelone, Espagne) allows recording the rat's pathway and behavior.

Learning schedule

During 5 consecutive days, rats were trained to localize the platform. Rats underwent 6 trials per day, with different starting locations for each trial, following a pseudo-random sequence. Before the very first trial, rats were placed on the submerged platform during 30s. Then every trial consisted in a swim, followed by a 30s rest on the platform. Rats that did not reach the platform within 90s were guided to it by the experimenter. The inter trail interval was of 15s. Latency to reach the platform, distance travelled and swimming speed were recorded.

Classical memory assessment

Memory was assessed through probe tests occurring 2h (short term memory assessment) and 4 days (long term memory assessment) after the last learning session unless stated otherwise. The platform was removed and rats were allowed to navigate in the water maze during 90s.

Time spent in the quadrants (each representing $\frac{1}{4}$ of the maze) and the number of each annulus crossings (one in each quadrant, the target annulus being the one where the platform was localized during learning) was recorded. Only the annulus crossings were analyzed and presented here for two reasons. First, the number of annulus crossings reveals a more accurate search of the platform than the time spent in the quadrants (see Florian et al., 2006; Serrano et al., 2008). Second, if both variables show that CD-fed rats are able to locate the platform during the first probe trial, only annulus crossings are relevant for this control group during subsequent probe trials (above chance level).

Memory updating after systemic inflammation

The effects of inflammation were assessed on spatial memory updating, known to be hippocampal-dependent and to be highly sensible to bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation (for review: Cunningham & Sanderson, 2008). Therefore, other animals were trained in the same learning

protocol as described above after a juvenile diet exposure. The day after learning, rats were injected intra-peritoneally with saline or LPS (from *Escherichia coli* serotype 0127:B8, Sigma Aldrich, 250µg/kg in saline), and followed by a reversal learning protocol. The reversal learning, starting 4h after injection, consisted of only one session of 6 trials, with the platform in the opposite location than during the initial learning. A probe test was performed 24h after reversal learning. However, since none of the groups exhibited preference for target quadrant or annulus during this probe test, data of this probe trial is not shown.

Sacrifice

After the behavioral task, (i.e., after 4-5 months of diet exposure) animals were either non-injected or injected with saline or LPS (from *Escherichia coli* 0127:B8, Sigma Aldrich, 250µg/kg in saline) 4h before being euthanatized with an injection of a lethal dose of pentobarbital sodium. In one experiment, 15min before sacrifice, rats either stayed in their home cage (HC) or received 6 consecutive trials in the MWM with the platform in a new location. Blood was collected transcardially before perfusion with 0.1M phosphate buffered saline (PBS, pH=7.4). Brain structures (hippocampus, hypothalamus and prefrontal cortex) were collected on ice, in RNase free conditions and stored at -80°C. Plasma was separated from blood (centrifugation at 4000 rpm during 15min at 4°C) and stored at -80°C.

Plasma measurements of metabolic parameters and cytokines levels

Plasma obtained from sacrifice was used to assess different metabolic and inflammatory markers. Levels of cholesterol and triglycerides, insulin, leptin and cytokines (IL-6, IL-1β, TNFα and MCP-1) were assessed using specific kits (Cholesterol RTU, Triglycerides enzymatique PAP 150, Biomérieux, France) or milliplex (Rat serum adipokine kit, RADPK-81K, Millipore, Billerica, USA) respectively.

PCR analysis for cytokine levels

Total RNA was extracted from hypothalamus, half hippocampus and half frontal cortex collected at sacrifice, following TRIzol reagent (Invitrogen, France) manufacturer's suggested protocol. cDNA was synthesized from 2µg of RNA with Superscript reverse transcriptase (Invitrogen, Cergy-Pontoise, France). Real time quantitative PCR was then performed using a LightCycler system (LC480, Roche diagnostics, Germany). Briefly, to allow online real-time detection of gene amplification products, MESA GREEN qPCR MasterMix for SYBR assay (Eurogentec, Belgium) was used. The primers' oligonucleotide sequences for target genes (IL-1β, IL-6 and TNFα) and housekeeping gene (β2-microglobulin) are given in Table 1. Final quantification was performed using the comparative threshold (Ct) method fully described elsewhere (Labrousse *et al.*, 2009). Briefly, the target gene was normalized to the housekeeping gene and relative to the control group (calibrator) was determined by $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (relative fold change).

Gene of interest	Oligonucleotide sequence 5' → 3'	
β2m	F - CGTGCTTGCCATTCAGAAAA	R - GAAGTTGGGCTTCCCATTCTC
IL-1β (1)	F - CTCTCCAGTCAGGCTTCCTTGT	R - CGAAAGCTGCTATTCACAGTTGA
IL-6 (1)	F - ATATGTTCTCAGGGAGATCTTGAA	R - GTGCATCATCGCTGTTCCATACA
TNFα (1)	F - CGGGCTCAGAATTTCCAACA	R - CGCAATCCAGGCCACTACTT
IL-1β (2)	F - GACTTGGGCTGTCCAGATGAG	R - TGAGTGACACTGCCTTCCTGAA
IL-6 (2)	F - TGCCCTTCAGGAACAGCTATG	R - TGCAACAACATCAGTCCCAAGA
TNFα (2)	F - AGGCTGTCGCTACATCACTGAA	R - TGACCCGTAGGGCGATTACA

Table 1. Primers designed for real-time qPCR. β2m: β2-microglobulin, IL-1β: interleukin-1β, IL-6: interleukin 6 and TNFα: tumor necrosis factor α. Oligonucleotide (1) was used for targeting those genes in the hippocampus and oligonucleotide (2) in prefrontal cortex and hypothalamus. F: forward, R: reverse.

Data analysis

Data are expressed as the mean \pm SEM. Statistical analyses are carried out on Statview software and $p < 0.05$ is the threshold chosen to consider statistically significant difference. HFD fed animals are compared to their corresponding CD-exposed rats only (same age, same exposure duration) with repeated measures ANOVAs or unpaired T-tests. Animal's performances are compared to chance level (for spatial memory) through one sample T-tests. To assess LPS effect and diet effect, we used two way's ANOVAs followed by a Fisher's PLSD post-hoc test if interaction was significant. Animals with floating behavior (staying immobile for more than 15s) or failing to learn the location of the platform (latency being more than 40s on the mean of the last learning day) are removed from behavioral analyses.

RESULTS**The effects of HFD exposure on bodyweight and metabolism**

Whenever the diet exposure started, animals under HFD were significantly heavier than CD rats on the time of behavioral assessment, i.e. after 2 months of diet exposure (13% and 8% overweight for jHFD and aHFD groups, respectively, see Table 2), as well as on the time of sacrifice, i.e. after 4 months of diet exposure (13% and 16% overweight for jHFD and aHFD, respectively). Metabolic parameters were measured at the time of sacrifice. Both jHFD and aHFD consumption increased leptin levels and aHFD intake also slightly increased glucose levels.

	weaning		adulthood	
	jCD	jHFD	aCD	aHFD
initial body weight (g)	55 \pm 1	55 \pm 1	496 \pm 4	490 \pm 5
body weight before behavior	434 \pm 12	490 \pm 13 *	586 \pm 6	635 \pm 8 *
body weight before sacrifice	566 \pm 11	640 \pm 16 *	681 \pm 12	762 \pm 14 *
leptin (ng/ml)	8,0 \pm 1,0	16,1 \pm 2,3 *	8,6 \pm 1,4	20,9 \pm 5,4 *
insulin (ng/ml)	4,1 \pm 0,3	3,6 \pm 0,3	5,6 \pm 0,8	5,0 \pm 0,6
cholesterol (g/l)	119 \pm 9	128 \pm 7	114 \pm 9	126 \pm 9
triglycerides (g/l)	103 \pm 22	87 \pm 11	115 \pm 16	98 \pm 15
glucose (mg/dl)	108 \pm 4	104 \pm 3	92 \pm 1	99 \pm 2 *

Table 2. Bodyweight and metabolic parameters. Bodyweight on arrival, before assessing behavior (2 months of diet exposure) and before sacrifice (4 months of diet exposure) and metabolic parameters at the time of sacrifice after juvenile or adult exposure to CD or HFD. *P < 0.05 when compared with the corresponding CD group (unpaired t-test).

The effects of HFD exposure on spatial learning and memory

Spatial learning was first assessed in the MWM after 2 months of HFD exposure, starting at weaning (when the animals were 3 weeks-old), i.e. covering the juvenile period. Both jCD and jHFD groups similarly learned the location of the hidden platform during the 5 days of training (6 trials per day), as evidenced by a decreased latency to reach the platform from day to day (time effect: $F_{(4, 84)}=27.1$, $p < 0.001$; diet effect and interaction: $F < 1$; Figure 1A left; similar results were obtained for the distance travelled and no group difference was found in swimming speed, data not shown). Short-term memory was assessed 2h after the last learning trial. Both groups showed a preference for the target annulus compared to the other annuli, a measure of precise spatial memory (comparison to 25% chance level using one sample t-test: $t_{(9)}=4.3$ and $t_{(12)}=5.9$, $p < 0.001$ for jCD and jHFD, respectively; no diet effect: unpaired t-test $t < 1$; total annuli crossing for both groups: 10 ± 1 ; Figure 1B). When assessing long-term memory 4 days after learning, CD-fed animals still exhibited higher crossings in the target annulus whereas jHFD-fed rats did not (compared to 25% chance level $t_{(9)}=2.3$, $p < 0.05$ for jCD and $t_{(12)}=0$ for jHFD; total annuli crossing for both groups: 6 ± 1 ; Figure 1C) and a trend towards a group difference was revealed ($t_{(21)}=1.9$, $p=0.068$). To rule out the possibility that long-term memory impairment may

be due to an extinction effect caused by probe test repetition, long-term memory was assessed in additional groups without short-term memory test. Similar impairment in long-term memory was obtained (jCD versus jHFD: $t_{(17)}=2.1$, $p<0.05$; total annuli crossing for both groups: 7 ± 1 ; data not shown). In order to evaluate whether covering adolescence in a more restrictive manner could induce the same effect, another experiment was conducted after only one month of HFD exposure starting at weaning. Similar, but weaker, long-term memory disturbance was obtained. Spatial learning and short-term memory was accurate for both groups (learning: $F_{(4, 80)}=29.3$, $p<0.001$, no diet effect; short-term memory: $t_{(10)}=5.7$ and $t_{(10)}=5.1$, $p<0.001$ for jCD and jHFD, respectively, no diet effect) whereas only jCD group still showed a preference for the target annulus during long-term memory ($t_{(10)}=2.9$, $p<0.05$; jHFD: $t_{(10)}=1.3$, $p>0.05$; no diet effect: $t_{(20)}=1.3$, $p>0.05$). These results indicate that juvenile consumption of HFD specifically impaired spatial long-term memory suggesting an effect on memory consolidation processes.

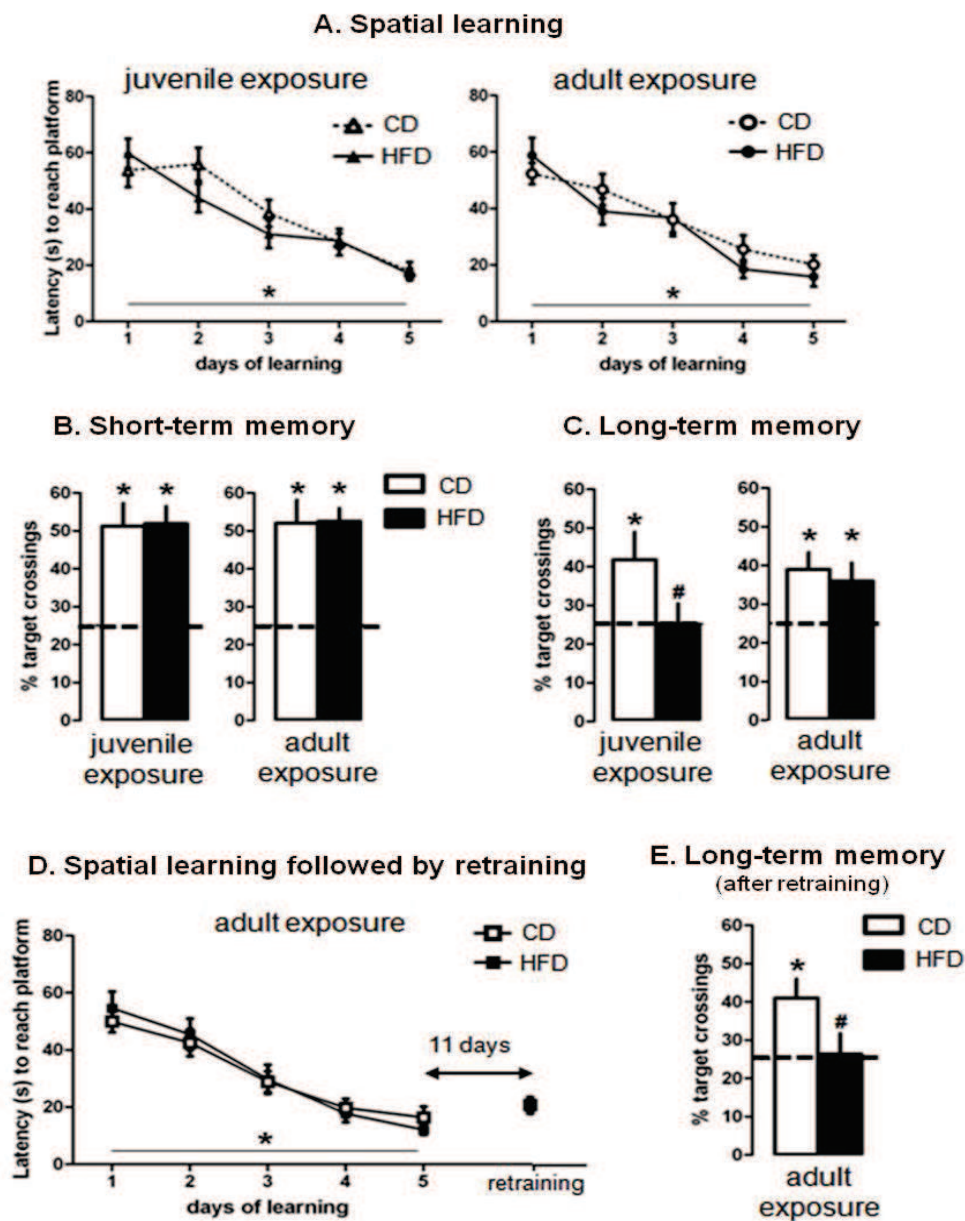


Figure 1. Effects of juvenile or adult HFD consumption on spatial memory. (A) Initial 5-days of spatial training (B), short-term memory (assessed 2 hours after the last day of training) and (C) long-term memory (assessed 4 days after the last day of training) after juvenile or adult exposure to HFD or CD (jHFD: $n=13$; jCD: $n=10$; aHFD: $n=12$; aCD: $n=14$). (D) Initial 5-days of spatial training followed by a single day of retraining 11 days after initial training, and (E) long-term memory, assessed 24 hours after retraining in adult exposed rats to HFD ($n=12$) or CD ($n=12$). For learning curves: $*P < 0.05$ (repeated measure's ANOVA: time effect). For memory tests: $*P < 0.05$ when compared to 25% (chance level) and $\#P < 0.07$ when compared to corresponding CD group (bilateral unpaired t-test).

We then evaluated whether 2 months of HFD exposure restricted to adulthood (i.e. starting when the animals were 12 weeks-old, aHFD), impaired spatial long-term memory as 2 months of jHFD exposure did. Both aCD and aHFD groups learned to locate the hidden platform during the 5 days of acquisition (time effect: $F_{(4, 96)}=34.0$, $p<0.001$; diet effect and interaction $F<1$; Figure 1A right; similar results were obtained for the distance travelled, and no difference in swimming speed was found between groups, data not shown). Both groups crossed preferentially the target annulus during the short-term memory test (compared to 25% chance level: $t_{(13)}=4.4$ and $t_{(11)}=8.1$, $p<0.001$ for aCD and aHFD, respectively; no diet effect: $t_{(24)}<1$; total annuli crossings: 11 ± 1 for aCD, and 9 ± 1 for aHFD, no diet effect: $t_{(24)}=1.5$, $p>0.05$; Figure 1B) but also during the long-term memory test ($t_{(13)}=3.1$ and $t_{(11)}=2.3$, $p<0.05$ for aCD and aHFD, respectively; no diet effect, $t_{(24)}<1$; total crossings for both groups: 8 ± 1 ; Figure 1C). This clearly indicates that unlike jHFD group, aHFD group did not affect long-term memory, assessed 4 days after training.

However, it was previously shown that adult exposure to western diet is able to impair spatial memory (for review: Kanoski & Davidson, 2011). Thus we evaluated whether extending the delay between spatial learning and memory test from 4 to 12 days, i.e. increasing cognitive demand, could reveal an effect of aHFD exposure in our experimental condition. Both aCD and aHFD groups similarly learned to locate the hidden platform during the 5 days of training (time effect: $F_{(4, 76)}=32.4$, $p<0.001$; no diet effect or interaction: $F<1$; data not shown). However, 12 days after spatial learning, both aCD and aHFD groups performed at chance level during the probe test, i.e. they did not cross preferentially the target annulus (compared to 25% chance level: $t_{(9)}=1.2$ and $t_{(10)}=1.1$, $p>0.1$ for aCD and aHFD, respectively, no diet effect: $t_{(19)}<1$; data not shown). To evaluate whether 12-day retention interval induced a complete or partial forgetting in aCD and aHFD groups, we repeated the same protocol in other rats with the exception that one day of retraining (6 consecutive trials) was added the day before memory assessment (i.e. retraining was performed 11 days after the initial 5 days of training). Both aCD and aHFD groups learned to locate the platform during the 5 days of training (time effect: $F_{(4, 88)}=34.1$, $p<0.001$; no diet effect or interaction: $F<1$; see Figure 1D) as well as during the retraining day (trial effect: $F_{(5, 110)}=5.5$, $p<0.001$; no diet effect or interaction: $F<1$). Interestingly, one-day of retraining was able to restore good memory performances in aCD but not in aHFD rats (compared to 25% chance level: $t_{(11)}=3.2$, $p=0.008$ for aCD and $t_{(11)}<1$ for aHFD; Figure 1E), and aHFD group tended to differ from aCD group ($t_{(22)}=0.059$). This suggests that a 12-day retention interval induced forgetting of spatial memory in aHFD group that is not rescued by one-day of retraining.

Altogether, these results indicate that juvenile consumption of HFD specifically impaired spatial long-term memory suggesting an effect on memory consolidation processes. Similar HFD consumption at adulthood did not affect long-term memory, assessed 4 days after acquisition, indicating that juvenile period is particularly vulnerable to the effects of HFD. However, using a more challenging condition, we were able to detect some spatial memory deficits after aHFD intake.

The effects of HFD exposure on pro-inflammatory cytokine levels

Since inflammation could be a potential mechanism explaining memory impairment due to HFD consumption, we assessed inflammation in our 4 groups of animals (jCD, jHFD, aCD and aHFD). First, we measured pro-inflammatory cytokines expression in basal conditions, and revealed no effect of either jHFD or aHFD exposure on cytokine levels in the plasma (IL-1 β : jCD versus jHFD: $t_{(20)}=1.6$, $p>0.1$, aCD versus aHFD: $t_{(19)}=1.4$, $p>0.1$; IL-6 and TNF α were not detectable) or in the hippocampus (jCD versus jHFD: $t_{(14)}<1$ for IL-1 β , IL-6 and TNF α ; aCD versus aHFD: $t_{(5)}=2.0$ for IL-1 β , $t_{(6)}=1.2$ for IL-6 and $t_{(6)}<1$ for TNF α , $p>0.05$; data not shown).

As basal condition did not reveal any effect of the HFD on peripheral and brain inflammation we assessed inflammatory response in these groups 4 hours after an immune challenge induced by an intra-peritoneal injection of LPS (half of the animals receiving saline). In the plasma, there was a clear

treatment effect: LPS induced an increase of all cytokines studied, for all groups ($F > 20$, $p < 0.001$). For IL-1 β there was no diet effect or interaction. Since IL-6 and TNF α were not detectable after saline injection, we only explored the diet effect after LPS injection: an effect appears for TNF α in adult exposed rats, aHFD group showing a higher TNF α level than aCD group ($t_{(8)} = 3.2$, $p < 0.05$) whereas diet exposure did not affect IL-6 level in either juvenile or adult exposed rats (data not shown).

In the hippocampus, there was a clear LPS effect for all cytokines studied in all groups ($F > 5$, $p < 0.05$; Figure 2A, B and C). A diet effect and more importantly a diet*treatment interaction appeared in juvenile groups for IL-1 β and TNF α (diet effect: $F_{(1, 24)} = 6.8$, $p < 0.05$ for IL-1 β , $F_{(1, 27)} = 6.0$, $p = 0.021$ for TNF α ; interaction: $F_{(1, 24)} = 6.3$, $p = 0.02$ for IL-1 β , $F_{(1, 27)} = 5.1$, $p = 0.033$ for TNF α , respectively), but not in adult groups ($F < 1$ for all). This was explained by an exaggerated increase of cytokine level after LPS in jHFD rats compared to jCD rats (IL-1 β : $p = 0.002$, TNF α $p = 0.003$). No diet effect or interaction was revealed for IL-6 in the hippocampus ($F < 1$). In the frontal cortex and the hypothalamus, there was a clear LPS effect for all cytokines studied in all groups ($F > 10$, $p < 0.05$, except for TNF α in frontal cortex of juvenile exposed rats: $F_{(1, 34)} = 2.5$, $p = 0.13$) but no diet effect or interactions ($F < 1$; Figure 2 A, B and C). This clearly indicates that juvenile, but not adult, HFD consumption enhanced the sensitivity to LPS-induced cytokines expression specifically in the hippocampus.

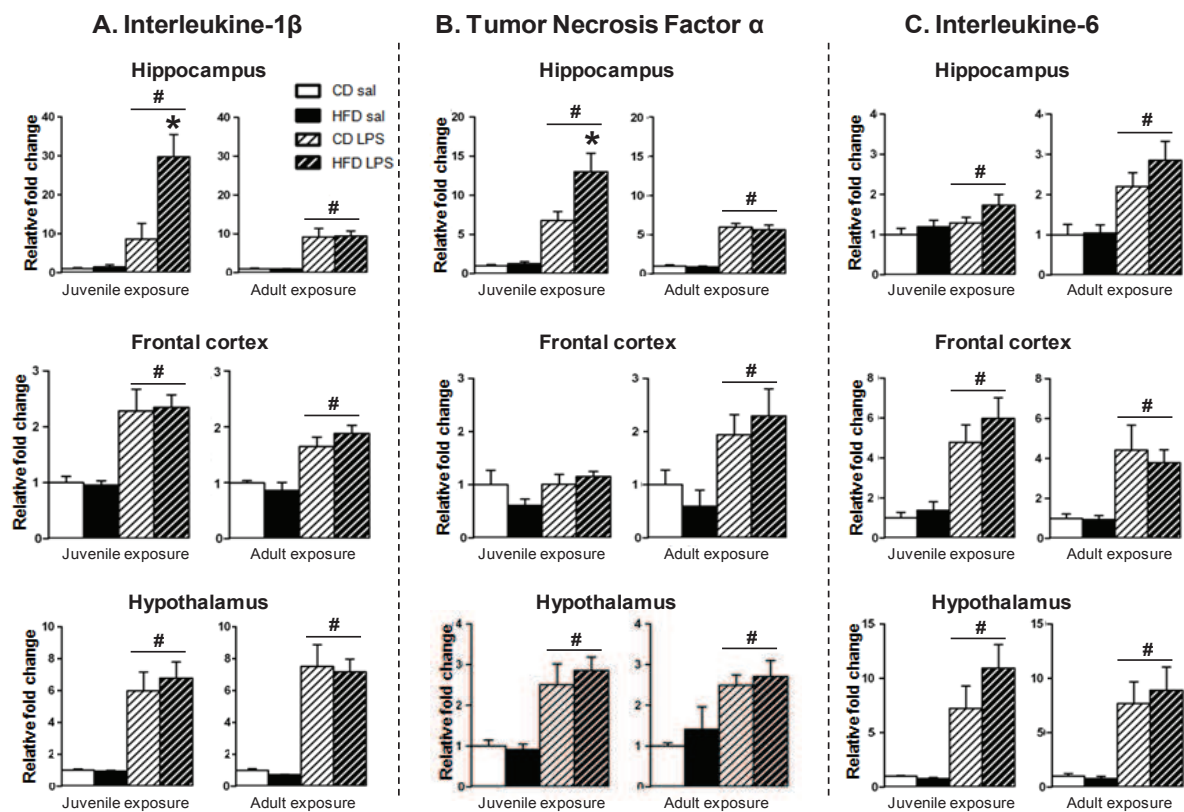


Figure 2. Effects of juvenile or adult HFD consumption on cytokines expression in different brain structures after an immune challenge. RNA expression of (A) Interleukine-1 β (B) Tumor necrosis Factor α (C) Interleukine-6 4 hours after intraperitoneal injection of either saline or LPS (250 μ g/kg) in juvenile or adult HFD or CD-fed rats (jHFD saline: n=9; jCD saline: n=8; jHFD LPS: n=10; jCD LPS: n=8; aHFD saline: n=6; aCD saline: n=6; aHFD LPS: n=7; aCD LPS: n=6). Relative expression levels were plotted as fold change relative to the saline-injected CD group. #P < 0.05 when compared to saline-injected groups (ANOVA: LPS effect); *P < 0.05 when compared to LPS-injected CD group (ANOVA: diet*injection interaction, followed by ANOVA's post-hoc).

The effects of jHFD and LPS-induced inflammation on reversal spatial learning

We found that jHFD exposure induced stronger impairment in hippocampal-dependent spatial memory, as well as higher hippocampal expression of pro-inflammatory cytokines following LPS immune challenge, compared to aHFD exposure. Therefore we then evaluated whether jHFD exposure predisposed to acute inflammation-induced cognitive deficits, as previously reported for ageing or

neurodegenerative states (Chen *et al.*, 2008; Field *et al.*, 2012; Murray *et al.*, 2012). Previous works indicate that a single LPS injection critically affects cognitive flexibility but had no effect on the previously learned information (for review: Cunningham & Sanderson, 2008). Yet repeated injections of LPS should be avoided (due to systemic tolerance and brain hypersensitizing; for review: Cunningham & Sanderson, 2008). Therefore, we decided to evaluate the effects of a single LPS injection on cognitive flexibility in the MWM assessed by moving the hidden platform to a new location, i.e. using reversal learning.

Again, spatial learning accuracy was not affected by jHFD consumption (time effect: $F_{(4,24)}=38.7$, $p<0.001$, with no diet effect or interaction: $F<1$, see Figure 3A). We then assessed if LPS-induced inflammation could disrupt spatial memory updating assessed by learning a novel location of the platform. Therefore, 24h after the last learning day, half of the jHFD and jCD rats were injected with LPS and the other half with saline, making sure there was no differences in learning prior to the injection ('before injection' effect $F_{(4,22)}<1$). Rats were then trained in a one-day reversal learning protocol, 4h after receiving the injection.

Interestingly, all groups decreased their latency to reach the platform from trial to trial (time effect: $F_{(5, 110)}=20.2$, $p<0.001$), but there was a clear diet effect on the evolution of the accuracy during the reversal learning ($F_{(5, 110)}=5.1$, $p<0.001$) with no effect of treatment or diet x treatment interactions ($F<1$, Figure 3C and 3D; similar results were obtained for the distance travelled, and no group difference in swimming speed was found, data not shown). The diet x time interaction was due to the fact that jHFD groups showed a higher latency to reach the platform than jCD groups during the first trial (67 *versus* 37 sec., respectively; $t_{(24)}= 3.09$, $p<0.01$; Figure 3D), but not during the 5 subsequent trials ($t<1$). This indicates that jHFD show a delayed reversal acquisition, showing less flexibility in the first trial.

Although there was no effect of treatment, diet or interaction on the mean latency (on the 6 trials) to reach the platform during the reversal learning, we found that only jHFD-fed rats injected with LPS increased their mean latency between the last day of training and the day of reversal (paired t-test: $t_{(6)}=3.3$, $p<0.05$ for jHFD-LPS and $t<1.3$, $p>0.1$ for jHFD-saline, JCD-LPS and jCD-saline: Figure 3B).

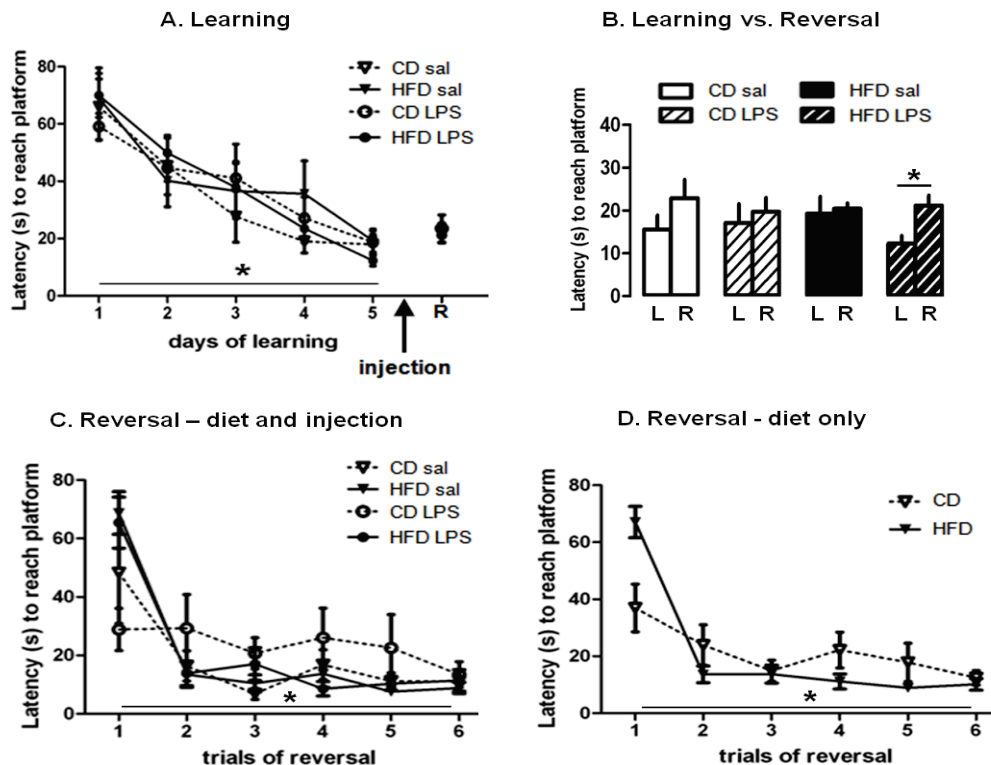


Figure 3. Effects of a single LPS-injection on spatial flexibility. (A) Initial 5-days of spatial training followed the next day by a single LPS injection 4 hours prior to one session of reversal learning. (B) Comparison of the mean latency to reach the platform during the last day of initial training (L) and the day of reversal learning (R) after juvenile exposure to HFD or CD (jHFD saline: n=7; jCD saline: n=5; jHFD LPS: n=7; jCD LPS: n=7). (C) Details of the 6 trials of reversal learning in juvenile exposed rats to HFD or CD injected with either saline or LPS. (D) Similar as (C) considering only the diet but not the type of injection. For learning curves: * $P < 0.05$ (repeated measure's ANOVA: time effect). For learning compared to reversal: * $P < 0.05$ when compared to the last day of initial training in the same group (paired t-test).

The effects of reversal spatial learning in jHFD on pro-inflammatory cytokine levels

We found that jHFD exposure delayed the acquisition of the reversal task. As hippocampal-dependent memory task can raise the level of pro-inflammatory markers in the hippocampus, especially IL-1 β (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009), we evaluated in our conditions whether reversal spatial learning was sufficient to enhance the level of pro-inflammatory cytokines specifically in the hippocampus and whether this increase was potentiated after jHFD exposure. Here we measured the level of IL-1 β , IL-6 and TNF α expression in the hippocampus, hypothalamus and frontal cortex of jHFD and jCD rats, 15' after a single session made of 6 consecutive trials in the MWM with the platform in a new location. jHFD and jCD animals staying in home-cage (HC) were used as controls for basal cytokine level expression.

During this new reversal learning both groups decreased their latency to reach the platform from trial to trial (time effect: $F_{(5,55)}=7.0$, $p<0.001$) and again jHFD intake delayed reversal acquisition (diet x time: $F_{(5,55)}=2.7$, $p=0.032$, mean latency to reach the platform on the first trial: 25 *versus* 54 sec., $t_{(11)}=2.1$, $p=0.065$ and subsequent 5 trials: 14 *versus* 17 sec., $p>0.1$, data not shown). IL-1 β expression in the hippocampus was specifically affected by the reversal spatial learning (HC versus MWM: $F_{(1,23)}=4.4$, $p<0.05$; with no diet effect and interaction: $F<1$; Figure 4). Interestingly, when comparison was restricted to either jCD or jHFD groups, the effects of reversal training were obtained only in jHFD groups, with significantly higher IL-1 β level in the group submitted to reversal learning than in HC group (MWM versus HC : $t_{(12)}=3.1$, $p=0.009$ in jHFD groups; $t_{(11)}<1$ in jCD groups). IL-1 β expression was not affected in the hypothalamus and in the prefrontal cortex ($F<1$; Figure 4) and IL-6 and TNF α expression was not affected in any of the structures studied ($F<1$; data not shown). This indicates that the delayed spatial reversal acquisition of jHFD-fed rats is associated with an increase of IL-1 β expression specifically in the hippocampus.

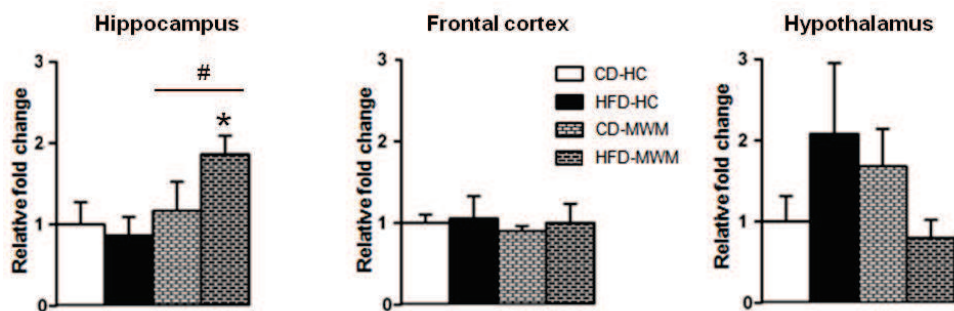


Figure 4. Effects of spatial reversal learning on interleukine-1 β expression in different brain regions after juvenile exposure to HFD or CD. Rats were either submitted to spatial reversal learning (MWM) 15' prior to sacrifice or stayed in their homecage (HC; jHFD HC: n=8; jCD HC: n=6; jHFD MWM: n=8; jCD MWM: n=7). Relative RNA expression levels were plotted as fold change relative to jCD HC group. #P < 0.05 when compared to HC rats (ANOVA: MWM effect). *P < 0.05 when compared to the jHFD HC group (restricted analyses to jHFD groups; unpaired t-test).

DISCUSSION

Our results show in rats that juvenile consumption of HFD, from weaning to adulthood, results in a disruption of spatial long-term memory as well as a higher inflammatory response to immune challenge, specifically in the hippocampus. The same duration of HFD consumption confined at adulthood does not yield such behavioural and inflammatory adverse consequences. Moreover, spatial reversal learning induces a higher pro-inflammatory cytokine expression specifically in the hippocampus of jHFD, and an immune challenge slightly impaired jHFD-fed rats' performance during reversal learning, as compared to the last day of spatial training. These results extend our previous work obtained in mice (Boitard *et al.*, 2012) demonstrating that juvenile period is particularly vulnerable to the adverse effects of HFD on hippocampal function (hippocampal memory and

neurogenesis) and suggest that heightened hippocampal inflammation could be a potential mechanism for these effects.

Our study brings out new findings in the description of jHFD effects on hippocampal memory disruption. Interestingly, HFD exposure during peri-adolescence period (covering late childhood, adolescence and early adulthood) impaired specifically long-term memory assessed 4 days after training without affecting spatial learning or short-term memory assessed 2 hours after the last day of training. If all these processes require hippocampal integrity, only the stabilization of long-term memory relies on protein synthesis, allowing memory consolidation (Dudai, 2004). Indeed, inhibiting protein synthesis in the hippocampus impairs spatial long-term memory in the MWM but leaves short-term memory intact (Artinian *et al.*, 2008; Morris *et al.*, 2006; Rossato *et al.*, 2006). Interestingly, acute or chronic pro-inflammatory cytokines overexpression in the brain impaired long-term, but not short-term, hippocampal-dependent memory (Rachal Pugh *et al.*, 2001; Hein *et al.*, 2010). Similarly, ablating hippocampal neurogenesis, particularly immature adult-born neurons, specifically disrupted spatial long-term memory in the MWM (Deng *et al.*, 2009; Snyder *et al.*, 2005) and we recently showed that jHFD decreases hippocampal neurogenesis assessed using doublecortin labeling, an endogenous marker of immature neurons (mice: Boitard *et al.*, 2012; rats: AC and GF, unpublished observations). Moreover, using spatial reversal learning, in which rats had to learn a new location of the platform over a single session of 6 trials, we show delayed reversal acquisition in jHFD fed rats suggesting they are less flexible. Again, enhancement of brain pro-inflammatory cytokines, induced by acute inflammation (in aged animals), as well as blockade of hippocampal neurogenesis impaired the ability to use previously learned information in a novel situation to complete a hippocampus-dependent task (Chen *et al.*, 2008; Dupret *et al.*, 2008). Thus, it is possible that jHFD impaired spatial memory consolidation and flexible memory expression through increased inflammation and decreased neurogenesis in the hippocampus.

Exposure to HFD confined to adulthood had no effect on spatial learning, short- and long-term memory (performed 4 days after training) in our conditions. However, previous studies showed impairment of hippocampal-dependent memory after HFD exposure at adulthood in more drastic diet conditions, i.e. longer duration of HFD consumption, higher percentage of fat or a combination of HFD with high sugar (for review: Kanoski & Davidson, 2011). We thus evaluated whether increasing cognitive demand by extending the retention delay could reveal an effect of HFD exposure at adulthood. Unfortunately, a 12-day retention interval induced forgetting of spatial memory in both aHFD and aCD-fed rats. Retraining rats one day before the memory test was able to restore an accurate spatial memory in control rats whereas aHFD rats still performed at chance level. These results indicate that in our conditions, aHFD is not completely free of effects on spatial cognition, although they are more subtle than after jHFD or drastic diet exposure.

In our previous study performed in mice, we demonstrated the vulnerability of the juvenile period to the effect of HFD on hippocampal-dependent memory. Here we generalized this notion to another species, in which exposure to HFD affects metabolism in a completely different manner. Indeed, exposure to HFD increased leptin, insulin and cholesterol in both juvenile and adult-exposed mice, whereas only leptin levels appeared to be higher in both juvenile and adult exposed rats. Yet both species exhibited hippocampal-dependent memory impairments only after juvenile exposure suggesting that metabolic alterations do not critically contribute to the effects of HFD on memory. The absence of metabolic contributions to the spatial memory impairments of jHFD-exposed animals is also supported by the normal spatial memory performance of aHFD groups (either rats or mice) despite similar metabolic changes.

As previously mentioned, one of the potential mechanisms involved in the detrimental effect of HFD consumption on spatial memory is hippocampal inflammation. Obesity is a disease in which low grade inflammation is described at the periphery both in humans and rodents models (Clement *et al.*, 2004; Cottam *et al.*, 2004; Everard & Cani, 2013). In rodents, obesity-induced inflammation is also described at the brain level and, of interest for spatial memory, specifically in the hippocampus (Dinel *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). In the present study, we did not find any HFD effect on peripheral or brain pro-inflammatory cytokines production at basal state. This discrepancy may be due to the species used. Contrary to our study performed in rats, all previous studies showing obesity-induced hippocampal inflammation at basal level were conducted in mice (Dinel *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). Another difference relates to the type of HFD used. Whereas a very HFD (60% Kcal from fat) induced an increase in basal cytokine expression in the brain, a HFD similar to ours (40% Kcal from fat) did not modify these levels (Maric *et al.*, 2013; Pistell *et al.*, 2010).

Despite no HFD effect on basal inflammatory status, we obtained a potentiated enhancement of pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF α in the hippocampus 4 hours after immune stimulation in jHFD group, but not in aHFD group. Interestingly, similar potentiated enhancement of IL-1 β and TNF α was found after LPS in the hippocampus of *db/db* mice, a genetic model of obesity for which obesity started very early after weaning, as compared to their lean *db/+* littermates (Dinel *et al.*, in press). The higher inflammatory response induced by LPS after jHFD exposure was specific to the hippocampus as it was not found in the hypothalamus or frontal cortex. Similar hippocampal specificity was previously obtained in *db/db* obese mice (Dinel *et al.*, 2011) suggesting this brain area is particularly sensitive to the effect of HFD. This could be related to the increased blood-to-brain permeability observed specifically in the hippocampus following HFD intake (Davidson *et al.*, 2012; Kanoski *et al.*, 2010). Moreover, we did not find any effect of HFD exposure on circulating cytokines 4 hours after immune stimulation. These results are in agreement with those obtained in *db/db* obese mice (Dinel *et al.*, in press) and in diet-induced obese rats where the HFD effect was evident for IL-6 and TNF α (IL-1 β was not detected) 2 hours, but not 4 hours, after LPS injection (Pohl *et al.*, 2009).

In addition to immune challenge, some physiological conditions enhance brain cytokines expression. In particular, contextual fear conditioning and spatial working memory are able to increase IL-1 β expression in the hippocampus of lean mice (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009). Here we demonstrated that reversal spatial learning in the MWM was associated with an enhanced IL-1 β expression specifically in the hippocampus of jHFD fed rats. According to previous studies (Goshen *et al.*, 2007; Labrousse *et al.*, 2009), it is surprising that reversal learning did not enhance hippocampal IL-1 β expression in control rats. However, despite the different species used, mice were naïve in previous studies that used one-trial learning whereas we used well-trained rats in the MWM. It is then possible that hippocampal IL-1 β production decreased from trial to trial during spatial training in control rats, this decrease being less drastic after jHFD intake. If physiological IL-1 β expression is important for memory, a higher increase in cytokine expression can rapidly be deleterious (Goshen *et al.*, 2007). This suggests that the higher IL-1 β expression in the hippocampus after jHFD intake could be related to their delayed reversal acquisition. This corroborates what we and others previously proposed in linking basal cytokine expression in the brain to the deficits in hippocampal-dependent memory in obese mice (Dinel *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). Altogether, these results demonstrate that the increase of hippocampal cytokines, either under pathological (immune challenge) or physiological conditions (reversal spatial learning) is potentiated after jHFD exposure as compared to CD exposure and could be linked to their spatial memory impairment.

We then evaluated whether jHFD exposure predisposed to the detrimental effect of LPS-induced neuro-inflammation on spatial learning. As a single LPS challenge critically affects cognitive

flexibility (for review: Cunningham & Sanderson, 2008), we evaluated the effects of LPS injection on spatial flexibility, i.e. reversal learning in the MWM. As compared to saline injected animals, LPS injection did neither affect performance of the control group nor exacerbate the delayed reversal acquisition in jHFD fed rats. However, when performances during reversal learning were compared to those of the last day of training, only jHFD-fed rats treated with LPS significantly increased their mean latency to reach the platform during reversal learning. This suggests that jHFD exposure could slightly predispose to LPS-induced spatial memory impairment. A stronger LPS effect in jHFD fed rats may have been masked by the presence of delayed reversal acquisition after jHFD intake. Another strategy would be to block the higher IL-1 β levels in the hippocampus of jHFD animals during reversal learning (by hippocampal administration of the antagonist IL-1RA) and to evaluate if it prevents their delayed reversal learning.

In conclusion, juvenile HFD exposure impairs spatial long-term memory and potentiates inflammatory responses specifically in the hippocampus after a challenge (either physiological or pathological). Furthermore, our results corroborate the idea that the higher levels of pro-inflammatory cytokines in the hippocampus of jHFD fed rats may contribute to their impaired spatial cognitive abilities. If this link seems relevant according to other studies in lean (for reviews: Marin & Kipnis, 2013; Yirmiya & Goshen, 2011) and obese rodents (Dinel *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010; Thirumangalakudi *et al.*, 2008), it remains to be determined how hippocampal inflammation affects spatial memory. It has been demonstrated in lean rodents that increased hippocampal levels of IL-1 β is associated with decreased hippocampal neurogenesis (Goshen *et al.*, 2008). Hippocampal neurogenesis participates in hippocampal-dependent learning and memory processes (Deng *et al.*, 2010) and is more elevated during adolescence than at adulthood (Cushman *et al.*, 2012). Interestingly, we demonstrated that jHFD intake decreased hippocampal neurogenesis whereas aHFD did not (Boitard *et al.*, 2012). Therefore, we propose that jHFD, but not aHFD, exposure increases hippocampal inflammation (not at basal state but transiently following challenges), which consequently decreases hippocampal neurogenesis, resulting in hippocampal-dependent memory impairments.

Acknowledgements:

We thank Philippe Birac and Mathieu Cadet for technical assistance and for taking care of the animals. We also thank CC for helping us to design the protocol of the reversal learning experiment and Claire Dawson for the English revision of the final text. Chloé Boitard was supported by a PhD grant from AXA. Guillaume Ferreira was supported by “Emergence de Jeune Equipe INRA 2010-2012”.

REFERENCES

- Artinian J, McGauran AM, De Jaeger X, Mouldous L, Frances B, Rouillet P. 2008. Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J Neurosci* 27(11):3009-19.
- Boitard C, Etchamendy N, Sauviant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, Laye S, Ferreira G. 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22(11):2095-100.
- Chen J, Buchanan JB, Sparkman NL, Godbout JP, Freund GG, Johnson RW. 2008. Neuroinflammation and disruption in working memory in aged mice after acute stimulation of the peripheral innate immune system. *Brain Behav Immun* 22(3):301-11.
- Clement K, Viguier N, Poitou C, Carette C, Pelloux V, Curat CA, Sicard A, Rome S, Benis A, Zucker JD and others. 2004. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J* 18(14):1657-69.

- Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, Schauer PR. 2004. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes Surg* 14(5):589-600.
- Cunningham C, Sanderson DJ. 2008. Malaise in the water maze: untangling the effects of LPS and IL-1beta on learning and memory. *Brain Behav Immun* 22(8):1117-27.
- Cushman JD, Maldonado J, Kwon EE, Garcia AD, Fan G, Imura T, Sofroniew MV, Fanselow MS. 2012. Juvenile neurogenesis makes essential contributions to adult brain structure and plays a sex-dependent role in fear memories. *Front Behav Neurosci* 6:3.
- Davidson TL, Monnot A, Neal AU, Martin AA, Horton JJ, Zheng W. 2012. The effects of a high-energy diet on hippocampal-dependent discrimination performance and blood-brain barrier integrity differ for diet-induced obese and diet-resistant rats. *Physiol Behav* 107(1):26-33.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH. 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11(5):339-50.
- Deng W, Saxe MD, Gallina IS, Gage FH. 2009. Adult-born hippocampal dentate granule cells undergoing maturation modulate learning and memory in the brain. *J Neurosci* 29(43):13532-42.
- Dinel AL, Andre C, Aubert A, Ferreira G, Laye S, Castanon N. 2011. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS One* 6(9):e24325.
- Dinel AL, Andre C, Aubert A, Ferreira G, Laye S, Castanon N. Lipopolysaccharide-induced brain activation of the indoleamine 2,3-dioxygenase and depressive-like behavior are impaired in a mouse model of metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology*, in press.
- Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Dupret D, Revest JM, Koehl M, Ichas F, De Giorgi F, Costet P, Abrous DN, Piazza PV. 2008. Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. *PLoS One* 3(4):e1959.
- Ervin RB, Ogden CL. 2013. Trends in intake of energy and macronutrients in children and adolescents from 1999-2000 through 2009-2010. *NCHS Data Brief*(113):1-8.
- Everard A, Cani PD. 2013. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27(1):73-83.
- Field RH, Gossen A, Cunningham C. 2012. Prior pathology in the basal forebrain cholinergic system predisposes to inflammation-induced working memory deficits: reconciling inflammatory and cholinergic hypotheses of delirium. *J Neurosci* 32(18):6288-94.
- Francis H, Stevenson R. 2013. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* 63:119-28.
- Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. 2008. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry* 13(7):717-28.
- Goshen I, Kreisel T, Ounallah-Saad H, Renbaum P, Zalzstein Y, Ben-Hur T, Levy-Lahad E, Yirmiya R. 2007. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology* 32(8-10):1106-15.
- Hein AM, Stasko MR, Matousek SB, Scott-McKean JJ, Maier SF, Olschowka JA, Costa AC, O'Banion MK (2010). Sustained hippocampal IL-1beta overexpression impairs contextual and spatial memory in transgenic mice. *Brain Behav Immun* 24(2):243-53.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103(1):59-68.
- Kanoski SE, Zhang Y, Zheng W, Davidson TL. 2010. The effects of a high-energy diet on hippocampal function and blood-brain barrier integrity in the rat. *J Alzheimers Dis* 21(1):207-19.
- Labrousse VF, Costes L, Aubert A, Darnaudery M, Ferreira G, Amedee T, Laye S. 2009. Impaired interleukin-1beta and c-Fos expression in the hippocampus is associated with a spatial memory deficit in P2X(7) receptor-deficient mice. *PLoS One* 4(6):e6006.
- Lu J, Wu DM, Zheng YL, Hu B, Cheng W, Zhang ZF, Shan Q. 2011. Ursolic acid improves high fat diet-induced cognitive impairments by blocking endoplasmic reticulum stress and I kappa B kinase beta/nuclear factor-kappa B-mediated inflammatory pathways in mice. *Brain Behav Immun* 25(8):1658-67.
- Maric T, Woodside B, Luheshi GN. 2013. The effects of dietary saturated fat on basal hypothalamic neuroinflammation in rats. *Brain Behav Immun*.
- Marin I, Kipnis J. 2013. Learning and memory ... and the immune system. *Learn Mem* 20(10):601-6.
- Morris RG, Inglis J, Ainge JA, Olverman HJ, Tulloch J, Dudai Y, Kelly PA. 2006. Memory reconsolidation: sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. *Neuron* 50(3):479-89.
- Murray C, Sanderson DJ, Barkus C, Deacon RM, Rawlins JN, Bannerman DM, Cunningham C. 2012. Systemic inflammation induces acute working memory deficits in the primed brain: relevance for delirium. *Neurobiol Aging* 33(3):603-616 e3.

- Nilsson LG, Nilsson E. 2009. Overweight and cognition. *Scand J Psychol* 50(6):660-7.
- Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, Bruce-Keller AJ. 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* 219(1-2):25-32.
- Pohl J, Woodside B, Luheshi GN. 2009. Changes in hypothalamically mediated acute-phase inflammatory responses to lipopolysaccharide in diet-induced obese rats. *Endocrinology* 150(11):4901-10.
- Rachal Pugh C, Fleshner M, Watkins LR, Maier SF, Rudy JW. 2001. The immune system and memory consolidation: a role for the cytokine IL-1beta. *Neurosci Biobehav Rev* 25(1):29-41.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. 2006. Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 13(4):431-40.
- Sellbom KS, Gunstad J. 2012. Cognitive function and decline in obesity. *J Alzheimers Dis* 30 Suppl 2:S89-95.
- Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, Wojtowicz JM. 2005. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 130(4):843-52.
- Spear LP. 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24(4):417-63.
- Thirumangalakudi L, Prakasam A, Zhang R, Bimonte-Nelson H, Sambamurti K, Kindy MS, Bhat NR. 2008. High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. *J Neurochem* 106(1):475-85.
- Yirmiya R, Goshen I. 2011. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun* 25(2):181-213.

Chapitre 2

Conséquences de la consommation d'un régime hyper-lipidique à l'adolescence sur les fonctions amygdaliennes

Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids

C. Boitard, M. Maroun, F. Tantot, A. Cavaroc, J. Sauvant, E. Coutureau, A. Marchand, L. Capuron, N Castanon, M Darnaudery, S. Layé, R.M. Vouimba & G. Ferreira

En préparation.

Conséquences de la consommation d'un régime hyper-lipidique à l'adolescence sur les fonctions amygdaliennes

Article 3: Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids

Résumé

Dans ce papier, nous avons investigué le fonctionnement d'un autre système de mémoire, dans le cadre de la consommation de régimes HL : la mémoire dépendante de l'amygdale. A l'inverse des études sur le système hippocampique, qui montrent de façon invariable des déficits du fonctionnement de ce système dans des modèles d'obésité, les rares études ayant exploré le système amygdalien aboutissent à des résultats contradictoires.

De manière originale, nous avons donc investigué **les répercussions de la consommation d'un régime obésogène sur le fonctionnement de l'amygdale et la mémoire émotionnelle** impliquant cette structure, ainsi que **la vulnérabilité de la période adolescente** à ces effets. Nous avons ensuite exploré **le rôle des GC dans la médiation des effets du régime HL sur l'amygdale**.

Pour ce faire, la fonction amygdalienne a été explorée suite à l'exposition au régime HL pendant l'adolescence ou à l'âge adulte, chez le rat. La mémoire émotionnelle a été testée dans deux paradigmes, l'AOC et le conditionnement de peur au son, reposant sur des modalités sensorielles distinctes, à savoir une odeur et une intoxication, ou un son et un choc, respectivement. Nous avons été surpris de constater que les rats soumis au régime HL à l'adolescence présentaient de meilleures performances de mémoire à long terme (testée 1 à 3 jours après l'apprentissage) que les rats C. Aucun effet de la consommation du régime HL n'est décelé sur l'acquisition ou la mémoire à court terme (4h après l'apprentissage), témoignant d'une exacerbation spécifique des phénomènes de consolidation synaptique chez les rats soumis au régime HL à l'adolescence. Cet effet n'est pas spécifique des modalités sensorielles engagées, puisque nous le retrouvons aussi bien lors de l'AOC que lors du conditionnement de peur au son. Ceci ne s'accompagne toutefois pas d'une augmentation des comportements de type anxieux.

Par ailleurs, l'exposition au régime HL à l'âge adulte n'affecte ni l'AOC ni le conditionnement de peur au son, témoignant encore une fois de la vulnérabilité de la période

adolescente aux effets de la consommation de régimes HL sur les fonctions mnésiques, impliquant cette fois l'amygdale.

Au vu de ces résultats, nous avons souhaité évaluer si le fonctionnement de l'amygdale, était affecté par la consommation du régime HL à l'adolescence. Nous avons donc mesuré la plasticité synaptique du BLA chez ces animaux et trouvons une plus forte PLT dans le BLA (suite à une stimulation du cortex entorhinal) chez les animaux exposés au régime HL à l'adolescence comparativement aux animaux C.

L'activation de l'axe corticotrope, et plus précisément l'action des glucocorticoïdes (GC) est fortement impliquée dans la modulation du fonctionnement de l'amygdale, et joue un rôle important dans la consolidation mnésique (Roosendaal *et al.*, 2009). De plus, la consommation de régimes HL engendre des modifications de la réponse au stress (Legendre & Harris, 2006; Sharma & Fulton, 2013; Shin *et al.*, 2010; Tannenbaum *et al.*, 1997). Nous avons donc mesuré la sécrétion de GC au niveau basal et suite à différents stress ainsi que les activations cellulaires induites au niveau de l'amygdale, et plus particulièrement du CeA et du BLA, suite à un stress systémique induit par un malaise gastrique (injection de LiCl).

Si les taux de GC ne sont pas modifiés en condition basales ni 30min après l'induction d'un stress (systémique ou psychogénique), il apparaît que les taux de GC restent très élevés 90 min après le stress chez les animaux soumis au régime HL à l'adolescence comparativement aux animaux C. Le poids des glandes surrénales reste inchangé. Cette libération prolongée de GC chez les rats exposés au régime HL à l'adolescence s'accompagne d'une plus forte activation neuronale, révélée par deux marqueurs d'activité cellulaire, les protéines c-Fos et Egr-1 (cette dernière témoignant de l'activation des GR, Revest *et al.*, 2005), au sein du BLA, mais pas du CeA, suite à un stress systémique (LiCl). Aucun de ces effets sur la libération prolongée des GC ou la plus forte activation du BLA suite à un stress systémique ne sont retrouvés suite à l'exposition au régime HL à l'âge adulte.

Enfin, pour investiguer le rôle causal des GC dans l'exacerbation de la fonction amygdalienne des animaux exposés au régime HL à l'adolescence, au niveau comportemental et synaptique, nous avons bloqué l'action des GC par infusion d'un antagoniste des GR (Mifepristone) lors de l'acquisition de l'AOC, et avant l'induction de PLT. Au niveau comportemental, l'infusion de mifepristone dans le BLA se traduit par une normalisation de l'aversion des animaux exposés au régime HL à l'adolescence. Au niveau synaptique,

l'augmentation de PLT chez les animaux HL est complètement bloquée par l'infusion de mifepristone.

L'ensemble de ces résultats suggèrent que lors d'un événement stressant, l'action prolongée des GC sur l'amygdale serait un des mécanismes sous-tendant l'exacerbation de la fonction amygdalienne chez les animaux exposés au régime HL à l'adolescence.

Conclusions

- L'exposition au régime HL à l'adolescence exacerbe la mémoire aversive à long terme chez le rat, tandis que l'apprentissage et la mémoire à court terme sont préservés, indiquant un effet sur la consolidation. La même exposition à l'âge adulte est sans effet.
- La plasticité synaptique (PLT) est exacerbée dans le BLA des animaux exposés au régime HL à l'adolescence.
- Un stress induit une libération prolongée de GC et une plus forte activation du BLA chez les rats soumis au régime HL à l'adolescence. La même exposition à l'âge adulte est sans effets.
- Le blocage de l'action des GC au sein du BLA se traduit par une normalisation des fonctions amygdaliennes au niveau comportemental et synaptique chez les rats exposés au régime HL à l'adolescence.
- Ces résultats démontrent une vulnérabilité de la période adolescente aux effets d'un régime HL sur les fonctions amygdaliennes, qui impliquerait l'action des GC au niveau du BLA.

Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids

Boitard Chloé^{1,2}, Maroun Mouna³, Tantot Frédéric^{1,2}, Cavaroc Amandine^{1,2}, Sauvant Julie^{1,2}, Coutureau Etienne^{4,5}, Marchand Alain^{4,5}, Capuron Lucile^{1,2}, Castanon Nathalie^{1,2}, Darnaudery Muriel^{1,2}, Layé Sophie^{1,2}, Vouimba Rose-Marie^{4,5} and Ferreira Guillaume^{1,2}

¹INRA, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, 33076 Bordeaux, France;

²Université de Bordeaux, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, 33076 Bordeaux, France;

³Sagol Department of Neurobiology, Faculty of Natural Sciences, University of Haifa, Haifa, Israel;

⁴CNRS, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33405, Talence, France;

⁵Université de Bordeaux, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, Talence, France.

ABSTRACT

In addition to metabolic and cardiovascular disorders, the obesity pandemic is associated with adverse cognitive and emotional outcomes. Its growing prevalence during adolescence is particularly alarming since this period shapes the neurobehavioral processes required for life-long cognitive and emotional processing. In particular, it is a decisive period for maturation of the amygdala and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) stress axis, both required for normal emotional/aversive information processing. Accordingly, the question whether obesity interferes with these developmental processes appears crucial. Here, we assessed the possibility that adolescence represents a critical period in terms of brain vulnerability to the effects of diet-induced obesity. Given that glucocorticoids modulate amygdala-dependent plasticity and behaviors, we hypothesized that juvenile obesity induced by high-fat diet (HFD) alters amygdala functions through HPA axis deregulation.

Rats were exposed to HFD either from weaning to adulthood (i.e., juvenile period covering adolescence; jHFD) or for the same duration at adulthood only. jHFD specifically enhanced long-term emotional memory (odor aversion and auditory fear memories) and synaptic plasticity in basolateral amygdala (BLA; increased long-term potentiation). While not affecting basal plasma corticosterone levels, jHFD induced a protracted corticosterone release in response to acute stress, which correlated with enhanced BLA activation, revealed using c-Fos and Egr-1 immunohistochemistry. No diet effects were measured with respect to anxiety-like behavior, adrenal weight and amygdala glucocorticoid receptor expression. HFD exposure restricted to adulthood did not affect corticosterone release, BLA activation or aversive memory. Finally, intra-BLA administration of a glucocorticoid receptor antagonist reversed the jHFD-induced exacerbation of both emotional memory and BLA plasticity.

Altogether our results demonstrate that jHFD alters HPA axis function leading to an increase in amygdala-dependent synaptic and behavioral processes. These findings indicate that adolescence represents a period of increased susceptibility to effects of diet-induced obesity on amygdala that may promote maladaptive emotional processing later in life.

Running title: Juvenile obesity enhances amygdala function through glucocorticoids

Key-words : adolescence, overweight, aversive memory, synaptic plasticity HPA axis, corticosterone

* Corresponding author: Guillaume Ferreira

Nutrition and Integrative Neurobiology (NutriNeuro)

INRA 1286 - Université de Bordeaux,

Bâtiment UFR Pharmacie, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France

email : guillaume.ferreira@bordeaux.inra.fr

Tel: 33 (0)5 57 57 12 33

Fax : 33 (0)5 57 57 12 27

INTRODUCTION

Mainly due to overconsumption of energy-dense food, obesity is considered one of the most serious public health challenges of the 21st century as it is associated with adverse health outcomes such as cardiovascular diseases, metabolic disorders and increased prevalence for some cancers, causing disability and premature death (WHO reports). Obesity has also recently been associated with cognitive disturbances in humans. Obese subjects show higher susceptibility to develop declarative memory impairments (for reviews: Nilsson & Nilsson, 2009 Francis & Stevenson, 2013; Sellbom & Gunstad, 2012) and pathologies characterized by cognitive decline such as Alzheimer disease (Berrino, 2002; Pasinetti & Eberstein, 2008). If all these studies focused on adult individuals, overweight adolescents also exhibit cognitive disturbances (Cserjesi *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008). Obesity prevalence in adolescents has more than tripled in the past 20 years and is nowadays still increasing at an alarming rate (Ogden *et al.*, 2012). This is particularly worrying since adolescence is a period of neurobehavioral shaping required for life-long cognitive processing (Spear, 2000) and is exceedingly sensitive to environmental challenges, like food intake (Andersen, 2003). Interestingly, we recently demonstrated in animal models that juvenile obesity induced by high-fat diet (HFD) consumption impairs relational memory, an interesting model of human declarative memory, whereas the same HFD exposure restricted at adulthood did not induce such effects (Boitard *et al.*, 2012). This suggests that adolescence represents a sensitive period to the effect of HFD on memory.

Obesity has also been associated with adverse emotional outcomes in humans, especially with increased anxiety and depression (Dixon *et al.*, 2003; Hawkins & Stewart, 2012) as well as higher prevalence for emotional pathologies such as bipolar disorder or post-traumatic stress disorder (PTSD; Lopresti *et al.*, 2013; Pagoto *et al.*, 2012). PTSD is linked to enduring and maladaptive emotional memory (Kaouane *et al.*, 2012) but a thorough examination of the effects of obesity on emotional memory is still lacking. If the effects of obesity on anxiety and depressive-like behaviors are well documented in animal models (Del Rosario *et al.*, 2012; Dinel *et al.*, 2011; Sharma & Fulton, 2013), only few and controversial data are available concerning its effects on emotional memory, assessed using fear or aversion conditioning (Heyward *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2010; Ohta *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 1993; Yamada-Goto *et al.*, 2012). Emotional memory is highly dependent on amygdala functioning (for reviews: Fanselow & Gale, 2003; LeDoux, 2003; Mahan & Ressler, 2012; Maren, 2005) which is under an important modulation by glucocorticoid hormones, the final product of the stress-related hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) system (for review: Roozendaal *et al.*, 2009). Interestingly, adolescence is a decisive period for maturation of both the HPA system and amygdala (Foilib *et al.*, 2011; McCormick & Mathews, 2010; Spear, 2000). As chronic HFD exposure can alter stress-induced HPA axis activity (Legendre & Harris, 2006; Sharma & Fulton, 2013; Tannenbaum *et al.*, 1997), we hypothesized that juvenile obesity induced HFD alters amygdala functions through HPA axis deregulation. Using behavioral, electrophysiological, endocrinological, neural imaging and pharmacological approaches, we demonstrated that juvenile, but not adult, HFD intake modifies HPA axis function, leading to an increase in amygdala-dependent synaptic and memory processes.

MATERIAL AND METHODS

Animals and Diets

Wistar naïve male rats (Janvier, Le Genest St-Isle, France) aged either three weeks old (juvenile group) or twelve weeks old (adult group) on arrival were housed in groups of 2 to 4 individuals in polycarbonate cages (48*26*21cm) in a climatized (22±1°C) animal-keeping room maintained under a 12:12 LD cycle. They had *ad libitum* access to food and water and were weighted once a week, since arrival until sacrifice. Food provided since arrival was either a control diet offering 2.9 Kcal/g (CD,

consisting of 2.5% lipids and 60% carbohydrate, mostly from starch, A04 SAFE, Augy, France) or a HFD offering 4.7 Kcal/g (consisting of 24% lipids [45kcal], mostly saturated fat from lard, and 41% carbohydrates [35kcal], D12451, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA). Before any experiment, rats were isolated in individual cages (35*23*19cm) and handled by the experimenter. All rats were exposed to CD or HFD starting either at weaning (3 weeks-old; jCD and jHFD groups), i.e. exposure throughout adolescent development (from weaning to adulthood; Spear et al., 2000), or at adulthood (starting at 12 weeks-old; aCD and aHFD groups) i.e. with the clear exclusion of adolescence. Diet duration was either 1.5 or 3 months before the beginning of behavioral tasks (see Figure 1A). All behavioral experiments were performed on adult animals and sacrifice occurred after 4 months of diet exposure.

Behavioral experiments

Conditioned odor aversion (COA). COA consists in the association of an odorized tasteless solution (conditioned stimulus, CS) with a visceral malaise (unconditioned stimulus, US). Rats were acclimated to a water deprivation regimen for 4 days. Access to water was provided in a graded bottle (with 0.5 mL accuracy) placed in their home cage for 15 min each day between 09:00 and 11:00. Baseline water consumption was obtained by averaging the intake of the three last days. On day 5, rats had access for 15 min to almond-scented water composed of 0.01% benzaldehyde diluted in tap water (Sigma; Sevelinges et al., 2009). After a delay of 30 min, rats received an intra-peritoneal (i.p.) injection of visceral malaise-inducing drug lithium chloride (LiCl, Sigma; 25mg/kg, 0.075 M, 0.75 % of bodyweight). On day 6 and 7, rats had access to water for 15 min each day in order to re-establish baseline water intake. Finally, on day 8, long-term memory of the odor aversion was assessed by providing access to the almond-scented water for 15min. The percentage of scented water consumption compared to water baseline was used as a measure of aversion strength.

In another series of experiment, short-term memory was assessed, as previously described (Desgranges et al., 2008). The procedure was identical to the one described above for COA with the exception that, on day 5, rats had access to only 10 mL of almond-scented solution 30min before receiving LiCl injection. Half of the animals were then confronted again with almond-scented water 4h after the first consumption (short-term retention) whereas the other half was tested on day 8 (long-term retention).

Auditory fear conditioning. This paradigm is based on the pairings of an auditory tone (CS) with electric foot-shocks (US). Fear conditioning was realized in cages (40*30*35cm, Imetronics) located in sound-proof chambers with 55dB constant noise and diodes promoting constant light. Tones (5000Hz, 70dB) lasted 10sec and electric foot-shocks (0.3mA, 6Hz, 1sec) were delivered during the last second of the tone, from a constant-current generator to the stainless steel grid of the floor of each chamber. On the morning of day 1, rats were placed in 'context A' cages for 8min during which they received 5 CS/US pairings (schedule being 120s-CS/US-60s-CS/US-80s-CS/US-40s-CS/US-100s-CS/US-80s). On the morning of day 2, rats were re-exposed to the 'context A' during 10min without any tone or foot-shock, allowing testing for the context. On the afternoon, rats were placed in 'context B' (made triangular by addition of an opaque plastic slab in the diagonal of the chamber with modified patterns on the walls and a glass slab covering the grid-floor) and re-exposed to the tone without foot-shocks (schedule being 5min-CS-5min-CS-5min-CS-5min-CS-5min). Rats' behavior during all sessions was recorded through a camera connected to a monitor allowing analysis of freezing response, i.e. total immobility except for movements related to breathing (Blanchard & Blanchard, 1969).

Anxiety like behavior. It was first assessed in the open-field task followed by the elevated plus maze. The open-field apparatus was made of a white wooden box (100cm*100cm*50cm) with no bedding litter and placed in a bright light room (60lux in its center) in order to induce anxiety-like behaviors.

Each experimental rat was placed facing the wall in a corner of the OF and allowed free exploration during 10min. A camera wired to an automated tracking system (SMART v2.5.20, Panlab, Barcelona, Spain) was used to track the rat's locomotion in the open-field. Using the software, the open-field was divided in a central and peripheral zone in which total distance covered and time spent were analyzed. The elevated plus maze was assessed 5 days after open-field. The elevated plus maze apparatus was a black plastic maze made of 4 arms (12*50cm), 2 of them closed with walls (45cm high) providing shelter. Open arms were anxiogenous since the maze was placed 60cm above the floor in a bright light room (60lux in its center). Rats were placed in the center facing an open arm and allowed free exploration during 5min. Time spent in each arm and number of entrance in each arm were recorded. An index of open arms entry [number of entrance in open arms/(number of entrance in open+close arms)] was calculated and analyzed.

Electrophysiological experiments.

Rats were anesthetized with Equithesin (2.12%w/v MgSO₄, 10%v/v ethanol, 39.1%v/v propylene glycol, 0.98%w/v sodium pentobarbital, and 4.2%w/v chloral hydrate; 0.3/0.5ml/kg) and placed in a stereotaxic frame, with body temperature maintained at 37±0.5°C. The procedures were performed in strict accordance with the National Institute of Health guidelines (NIH publication number 8023). Briefly, small holes were drilled into the skull to allow the insertion of electrodes into the brain. Two recording microelectrodes (glass, tip diameter of 2.5µm, filled with 2M NaCl, resistance of 1.4MΩ) were slowly lowered into the basolateral nuclei of the amygdala (BLA, 3.1mm posterior to bregma; 5.0/5.5mm lateral; 7/7.6mm below skull surface). A bipolar 125µm stimulating electrode was implanted in the entorhinal cortex (6.5mm posterior to bregma; 5.5mm lateral; 4.0/5.8mm below skull surface). The evoked responses were digitized (10kHz) and analyzed, using the Cambridge Electronic Design 1401+ (Cambridge, UK) and its Spike2 software. Offline measurements were made of the amplitude of field post-synaptic potentials (fPSPs), using averages of five successive responses to a given stimulation intensity applied at 0.1 Hz. Test stimuli (monopolar pulses; 100µs duration) were delivered at 0.1Hz. After positioning the electrodes, the rats were left for 30min before beginning the experiment. Long term potentiation (LTP) was induced in the BLA by theta-like high-frequency stimulation at 100Hz (TS-100) to the entorhinal cortex (three sets of 10 trains, each train consisted of 10 pulses at 100 Hz, inter-train interval of 200 ms, inter-set interval of 1 min). For all the experiments, baseline responses were established by means of delivering stimulation intensity (50–150µA) sufficient to elicit a response representing ≈25/30% of the maximal amplitude of the evoked field potentials.

Endocrinological experiments

Basal corticosterone level. Blood was quickly collected from tail nick either in the beginning of the inactive phase (9:00-10:00am, light on), corresponding to low corticosterone levels or in the beginning of the active phase (19:00-20:00pm, light off), corresponding to the circadian peak for the corticosterone hormone in juvenile exposed rats.

Corticosterone release after a stressor. Blood was quickly collected from tail nick just before and 30, 90 and 180 min after a stressor. Both a psychogenic stressor (restraint stress, in plastic ventilated tube allowing no movement, for 30min) and a systemic stressor (i.p. injection of LiCl, 25mg/kg) were used in different batch of juvenile exposed rats. The area under the curve (AUC) was calculated in order to search for a global effect. Corticosterone release in response to LiCl injection was also assessed 90 min after injection in both adult and juvenile exposed rats.

Corticosterone level measurement. Total corticosterone level was measured, in plasma obtained after centrifugation of the blood samples, by a in-house radioimmunoassay (described in Richard *et al.*, 2010). Briefly, after absolute ethanol steroid extraction from plasma samples, total corticosterone was

measured by competition between cold corticosterone (B) and radioactive ^3H -B (B*) for a specific anti-corticosterone antibody provided by Dr. H. Vaudry (University of Rouen, France).

Adrenal glands. Both adrenal glands were collected per animal and weighted. Weight was expressed as percent of animal's bodyweight.

Immunohistochemical experiments: neuronal activation

Rats were euthanatized with an i.p. injection of a lethal dose of pentobarbital sodium (1ml) occurring 90 min after an i.p. injection of saline or LiCl (0.075 M, Sigma, 0.75% of bodyweight, 25mg/kg). Blood was collected transcardially before perfusion with 0.1M phosphate buffered saline (PBS, pH=7.4) was followed by 4% paraformaldehyde (PFA) in PBS. Brains were quickly removed and stored at 4°C in a 4% PFA for 24h to allow post-fixation. The next day, they were submerged in a 30% sucrose solution at 4°C for 48h to allow cryoprotection. Finally brains were frozen in isopentane and stored at -80°C.

Coronal sections of 40µm were incubated in PBS containing 0.1 % bovine serum albumin (BSA) and 0.5 % Triton (PBS-BSA-T) to block nonspecific binding sites and to facilitate antibody penetration. The sections were also saturated with 0.3% hydrogen peroxide for 30min to eliminate endogenous peroxydase activity. Sections were first incubated with the primary anti-c-Fos antibody (Santa Cruz Biotechnology, anti-c-Fos rabbit polyclonal antibody, 1:1000 diluted in PBS-BSA-T), anti Egr-1 antibody (Cell Signaling, anti-Zif rabbit monoclonal antibody, 1:1000 diluted in PBS-BSA-T) or anti-GR antibody (Abcam, mouse monoclonal antibody, 1:500 diluted in PBS-BSA-T) for 24h at room temperature. Sections were then incubated for 2h with the biotinylated secondary antibody at room temperature (Vector Laboratories, goat anti-rabbit IgG, diluted 1:2000 in PBS for both c-Fos and Egr-1 immuno-staining and Vector Laboratories, horse anti-mouse IgG, diluted 1:1000 in PBS for GR immuno-staining), followed by 1h incubation in the avidin–biotin–peroxydase complex solution (ABC solution; Vectastain, Vector laboratories, diluted 1:1000 in PBS). Between each treatment, sections were thoroughly rinsed with PBS. The peroxydase complex was visualized after incubation for 10min in a mix containing diaminobenzidine, ammonium chloride, ammonium sulfate, sodium acetate, glucose, and glucose oxydase. Sections were rinsed in sodium acetate (2*10min), mounted on gelatin-coated slides, dehydrated and cover slipped. Labeling was quantified bilaterally on 4 sections spaced 240µm apart and chosen to cover whole amygdala (2.5mm to 3.4mm posterior to bregma, according to Paxinos & Watson, 1998). Each section of interest was photographed using Nikon-ACT-1® software, and labeled cells were counted with ImageJ® software on a surface representing 0.85mm². Results were expressed for 1mm².

Pharmacological experiments

For the behavioral experiments, rats underwent surgery to implant cannulae just above the BLA in order to allow later infusion of a specific glucocorticoid receptor (GR) antagonist mifepristone (RU486, Sigma, France) into the BLA. For this purpose, rats were anesthetized (i.p. ketamine 70mg/kg and xylazine 6ml/kg) and placed in a stereotaxic frame. Two guide cannulae (7mm under pedestal, 23 gauge) were implanted bilaterally 2.0mm above the basolateral nuclei of the amygdala (2.8mm posterior to bregma, 5.1mm lateral; 5.5mm below skull surface, Paxinos & Watson, 1998) and fixed to the skull by dental acrylic cement and surgical screws. Stylets were inserted in the guide cannulae to prevent obstruction. At the end of the surgery, rats were woken up by Antisedan injection (0.2ml/rat) and allowed one week to recover before any experiment. Rats were then habituated to be gently held for infusion. The COA procedure was identical to the one described above with the exception that, on the acquisition day, 30 min after receiving odorized water, animals received intra-BLA infusion of either saline or the different doses of RU486, immediately before the i.p. LiCl injection. After stylets removal, infusion needles (30 gauges) were inserted in the guide cannulae, with tips protruding 2mm

below, i.e. reaching the BLA. Injection needles were connected to Hamilton microsyringes placed in an automated microinfusion pump allowing bilateral delivery (0.25µl each side, rate of 0.25µl/min) of RU486 (diluted in 2% ethanol in saline to reach final concentration of 1 or 3ng in 0.25µl) or vehicle (2% ethanol in 0.25µl saline). Needles remained in the guide cannulae for an additional 1min after infusion to minimize liquid dragging and stylets were reinserted into the guide cannulae. After the experiments, rats were sacrificed and brains were collected. Coronal sections (40µm) were collected since guide cannulae site appeared and stained with cresyl violet to determine the cannulae placement. Rats with one or two cannulae misplacement were discarded from statistical analysis. For the electrophysiological experiment, animals received an i.p. injection (1% of bodyweight) of RU486 (diluted in ethanol and saline to reach final concentration of 50 mg/kg) or vehicle (ethanol and saline) 30 min before high-frequency stimulation.

Metabolism.

Blood sugar level was assessed in rats following a 24h food-deprivation. A tail nick provided a blood drop in which sugar level was directly read using *Accu-Check®* devices (Roche diagnostics, France). Plasma obtained from sacrifice was used to assess different metabolic markers. Levels of cholesterol, triglycerides, insulin and leptin were assessed using specific kits (Cholesterol RTU, Triglycerides enzymatique PAP 150, Biomérieux, France) or milliplex (Rat serum adipokine kit, Millipore, Billerica, USA) respectively.

Statistical analysis.

Data were expressed as the mean ± SEM, and statistical analyses were conducted using Statview software with the threshold chosen to consider statistically significant difference being $p \leq 0.05$. Statistical significance was determined using one or two-way ANOVAs, ANOVA with repeated measures or Student's t tests followed, when appropriate, by further analyses of main effects using a Fisher's PLSD post-hoc test.

RESULTS

Juvenile and adult HFD intake induces similar morphometric and metabolic changes

Whenever the diet exposure started, animals exposed to HFD were significantly heavier at the time of behavioral assessment (after 1.5 or 3 months of diet exposure; Table 1) and had higher circulating leptin levels than CD rats at the time of sacrifice (after ~ 4 months of diet exposure, Table 2).

	jCD 1.5m	jHFD 1.5m	jCD 3m	jHFD 3m	aCD 3m	aHFD 3m
Initial body weight (g) ^o	54.9±0.78	54.8±0.9	54.5±0.8	54.6±0.8	496.0±3.7	489.5±4.9
Body weight (g) before behavior ^{**}	340.5±6.0	385.8±9.7*	533.2±11.3	606.5±15.5*	689.8±12.4	762.0±12.4*

Table 1. Bodyweight on arrival and before assessing behavior (1.5 or 3 months of diet exposure)
*P < 0.05 when compared to corresponding CD group.

	jCD	jHFD	aCD	aHFD
Cholesterol (g/l)	1.2±0.1	1.3±0.1	1.1±0.1	1.3±0.1
Triglycerides (g/l)	1.0±0.1	0.9±0.1	1.2±0.1	1.0±0.1
Insulin (ng/ml)	4.1±0.3	3.6±0.3	5.8±0.8	6.1±0.8
Leptin (ng/ml)*	8.0±1.0	16.1±2.3*	10.5±2.3	20.9±5.4*
Glucose (mg/dl) ^o	87.5±1.9	92.8±1.9	91.5±1.4	99.3±1.8

Table 2. Metabolic parameters at the time of sacrifice after juvenile or adult exposure to CD or HFD (~ 4 months of diet exposure).
*P < 0.05 when compared to corresponding CD group. ^oP < 0.05 when compared to corresponding adult groups.

Juvenile HFD intake enhances aversion memory

In order to assess the effects of juvenile exposure to HFD on amygdala-dependent aversive memory, we conducted a COA after 1.5 or 3 months of exposure to the diets (Figure 1A). To avoid inter-individual differences in term of liquid consumption, almond-scented odor consumption is expressed as a percentage of basal water consumption, assessed on previous days (baseline). On the acquisition day, the novel almond-scented water was well accepted and consumed without any neophobic responses for all groups (90-100% of water baseline, data not shown). Gastric malaise was induced 30 min after consumption by an intraperitoneal (i.p.) injection of LiCl to induce aversion. Aversive memory was assessed 3 days later. On the test day, all groups showed reduced odorized water consumption (in comparison to water baseline, paired t-test: $t > 4.6$, $p < 0.001$) whereas unconditioned animals (injected with saline instead of LiCl) showed odorized water consumption at similar levels of water baseline (Figure 1B). A two-way ANOVA indicated no age effect ($F_{(1, 44)} = 1.8$, $p > 0.1$), a diet effect ($F_{(1, 44)} = 4.6$, $p < 0.05$) and a trend toward an age x diet interaction ($F_{(1, 44)} = 3.4$, $p = 0.07$). Post-hoc analysis revealed that 3 months of exposure to jHFD group induced a stronger aversion in comparison to the other 3 groups ($p < 0.03$) which did not differ from each other ($p > 0.1$; Figure 1B). These results indicated that 1.5m of juvenile HFD exposure did not affect COA, whereas 3m exposure was able to induce an enhancement of aversive memory.

We then assessed if aversive long-term memory enhancement was specific to juvenile HFD exposure or if it could also occur after adult-only HFD exposure. To do so, adult rats (aged 3 months) were submitted to HFD for 3 months before COA acquisition. All rats drunk the odorized water during acquisition, without diet effect ($t_{(23)} < 1$, $112 \pm 6\%$ and $105 \pm 8\%$ of water baseline for aCD and aHFD rat, respectively), and reduced their consumption by the time of the test ($t_{(10)} = 6.2$, $p < 0.001$ for CD and $t_{(12)} = 3.3$, $p = 0.006$ for HFD) with no diet effect ($t_{(22)} < 1$, Figure 1C).

In order to evaluate whether aversion enhancement revealed after 3 months of juvenile exposure to HFD is due to specific long-term memory enhancement or to stronger perception of the stimuli used (odor and gastric malaise), we assessed short-term memory in another group of animals. If stimuli are more salient for these rats, then short-term memory of the aversion should also be enhanced. On the contrary if the enhancement is specific to long-term memory, short-term memory of COA should not be affected by jHFD exposure. Four hours after receiving odor-malaise pairing in optimal conditions for assessing short-term memory (see Methods), jCD and jHFD group were again exposed to scented-water. Both groups showed reduction of odorized water consumption ($t_{(5)} = 5.2$, $p = 0.003$ and $t_{(6)} = 3.6$, $p = 0.011$ for jCD and jHFD groups) with no diet effect ($t_{(11)} < 1$, Figure 1D). The absence of difference was not due to a floor effect as stronger aversion than the one presented here (around 35% of water baseline) can be easily detected (~10%; see Desgranges *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2002). These results rule out the possibility that the stronger aversion seen in long-term memory test was due to stronger odor and/or malaise perception. The effect of jHFD on long-term, but not short-term, memory suggests a specific effect on consolidation memory.

Finally, to clearly compare the effects of juvenile and adult exposure to HFD on COA long-term memory, we conducted a last experiment with 4 groups, jCD, jHFD, aCD and aHFD. All groups received 10 ml during acquisition (similar to the experiment for short-term memory assessment) in order to reduce inter-individual variability of liquid consumption. During the test, a two-way ANOVA indicated no age effect ($F_{(1, 20)} = 2.3$, $p > 0.1$), a trend toward a diet effect ($F_{(1, 20)} = 4.0$, $p = 0.058$) but more importantly an age x diet interaction ($F_{(1, 20)} = 4.2$, $p = 0.05$). Post-hoc analysis revealed that jHFD group presented a stronger aversion in comparison to the other 3 groups ($p < 0.02$) which did not differ ($p > 0.1$; Figure 1E). Altogether, these results indicate that 3 months of juvenile HFD exposure enhanced long-term memory of amygdala-dependent COA, without affecting short-term memory. Similar exposure at adulthood had no effect.

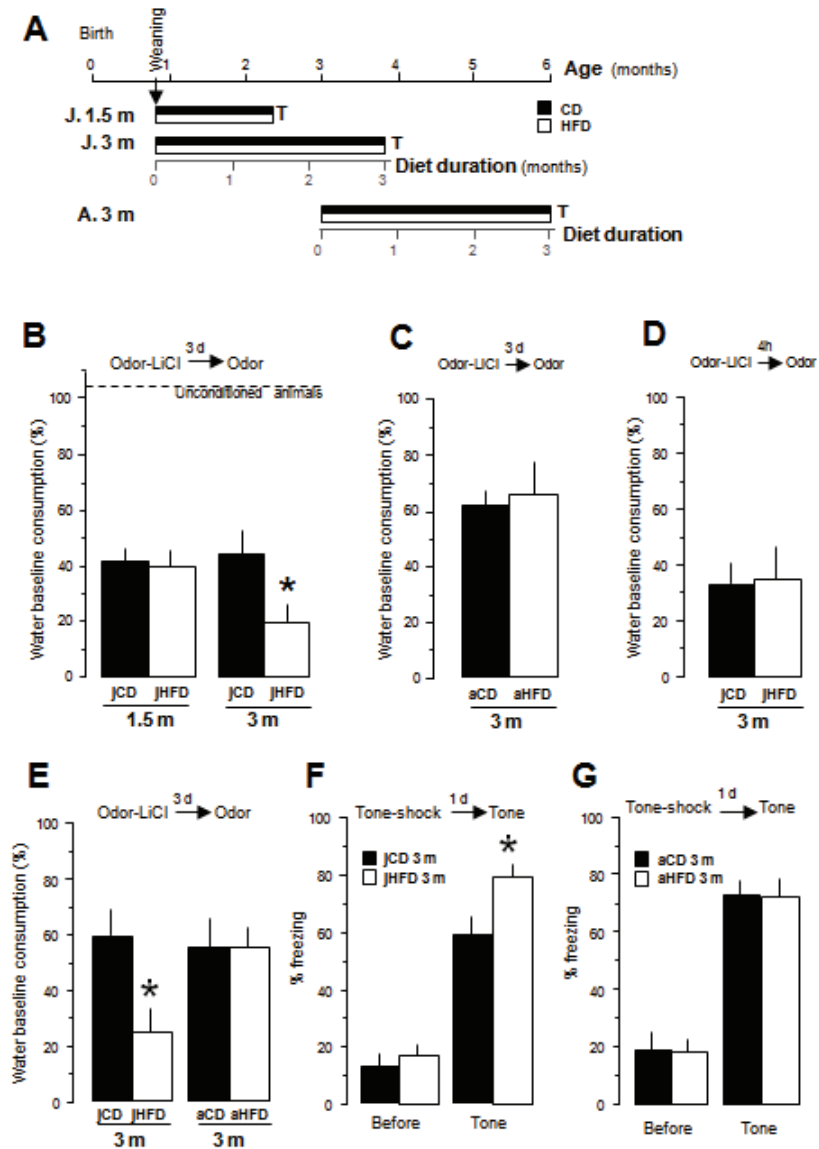


Figure 1. A. Time course of diet exposure in juvenile (starting at weaning) and adult (starting at 3 months of age) rats. Diet exposure lasted 1.5 or 3 months before behavioral assessment (T). B. Effects of juvenile HFD consumption (1.5 or 3 months) on COA long-term memory assessed 3 days after acquisition (jHFD: n=13; jCD: n=12 for both diet duration). The dash line represents odorized water consumption level in unconditioned animals (mean for CD and HFD exposure, no diet effect). C. Effects of adult HFD consumption (3 months) on COA long-term memory assessed 3 days after acquisition (aHFD: n=13; aCD: n=12). D. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on COA short-term memory assessed 4h after acquisition (jHFD: n=7; jCD: n=6). E. Comparison of the effects of juvenile or adult HFD consumption (3 months) on COA long-term memory assessed 3 days after acquisition (jHFD: n=6; jCD: n=6; aHFD: n=6, aCD: n=6). F. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on auditory fear memory. Freezing level presented were obtained prior to and during the first tone presentation (jHFD: n=12; jCD: n=11). G. Effects of adult HFD consumption (3 months) on auditory fear memory. Freezing level presented were obtained prior to and during the first CS presentation (aHFD: n=13; aCD: n=12).

*P < 0.05 when compared to corresponding jCD group.

Juvenile HFD intake enhances cued fear memory

After showing that jHFD enhanced long-term aversive memory in a paradigm using odor-malaise association, we wanted to evaluate whether this effect could be generalized to another aversive paradigm using different stimuli. Therefore, cued fear conditioning, a paradigm based on pairings between an auditory stimulus and an electrical foot-shock that has been repeatedly shown to be critically dependent on basolateral amygdala (for reviews: Fanselow & Gale, 2003; LeDoux, 2003; Maren, 2005) was assessed in rats submitted to juvenile or adult exposure to HFD for 3 months. As the experiments were conducted separately, juvenile and adult-exposed rats are presented apart.

On the conditioning day, jHFD and jCD-exposed rats showed exploration behavior during the first 2min prior to receiving any CS/US pairings (freezing less than 10%, no diet effect: $t_{(21)}=1.5$, $p=0.15$, data not shown). After the first CS/US pairing, freezing increased with time until the end of conditioning session (Repeated measure's ANOVA, $F_{(1,5)}=41.4$, $p<0.001$ for time effect, no diet nor interaction effects; with freezing being $82\pm4\%$ for jCD, $84\pm6\%$ for jHFD at the end of the session). The next day, freezing to the conditioning context was assessed by placing the rats in the same cage without any CS or US. Freezing response was low and diminished with time, independently of the diet (time effect: $F_{(9,180)}=7.00$, $p<0.001$, no diet nor interaction effects). The mean levels of freezing during the entire session was $15\pm5\%$ for jCD and $13\pm2\%$ for jHFD, $t_{(20)}<1$. Freezing to the cue was assessed by exposing rats to the CS in the novel context B. Before being confronted to the first CS, freezing behavior was low and not affected by the diet ($10\pm2\%$ for jCD, $13\pm3\%$ for jHFD; $t_{(21)}<1$; Figure 1F). Once the first CS occurred, freezing increased for both groups but jCD rats clearly froze less than jHFD group ($58\pm7\%$ for jCD and $79\pm4\%$ for jHFD; $t_{(21)}=2.73$, $p=0.012$) indicating a higher aversive memory. Then, freezing decreased during subsequent tone presentations and at the end of the session there was no diet effect ($60\pm7\%$ for jCD, $53\pm8\%$ for jHFD; $t_{(21)}<1$).

Concerning adult-exposed rats, during conditioning exploration behavior was present during the first 2min prior to CS/US pairings (freezing less than 10%, no diet effect: $t_{(23)}<1$, data not shown). After the first CS/US pairing, freezing increased with time until the end of conditioning session (Repeated measure's ANOVA: $F_{(1,5)}=8.65$, $p<0.001$ for time effect, no diet or interaction effects; $68\pm8\%$ for aCD and $54\pm10\%$ for aHFD at the end of the session). On the test day, freezing to the conditioning context was minimal and not different between aHFD and aCD groups (for the entire session: $15\pm1\%$ for aCD, $20\pm5\%$ for aHFD, $t_{(22)}<1$). In the novel context B, freezing behavior was low and not affected by diet prior to first CS ($13\pm2\%$ for aCD and $14\pm3\%$ for aHFD, $t_{(23)}<1$; Figure 1G). Once the first CS occurred, freezing increased for both groups but no diet effect was revealed ($73\pm5\%$ for aCD and $72\pm7\%$ for aHFD, $t_{(23)}<1$; Figure 1G). There was no group difference until the end of the session ($60\pm7\%$ for aCD, $53\pm8\%$ for aHFD).

Therefore, jHFD exposure enhanced long-term retention of AFC, another amygdala-dependent memory, without affecting its acquisition. Similar exposure at adulthood had no effect.

Juvenile HFD intake does not affect anxiety-like behaviors

In order to evaluate whether the enhancement of aversive memory after jHFD exposure results from heightened anxiety-like behaviors, we explored the effects of jHFD intake on two classical tests used to evaluate anxiety levels in rodents: the open-field and the elevated plus maze. In the 10min open-field, jHFD consumption did not modify the time spent and the distance travelled in the center compared to jCD (jHFD: 62 ± 5 sec versus jCD: 63 ± 9 sec, $t_{22}<1$; jHFD: 1067 ± 142 cm versus jCD: 1161 ± 219 cm, $t_{22}<1$). In the 5 min elevated plus maze, there was no diet effect on the time spent in open arms [jHFD: 23.7 ± 6.6 sec ($7.9\pm2.2\%$) versus jCD: 16.8 ± 4.5 sec ($5.6\pm1.5\%$), $t_{22}<1$] or on the index of open arms entry (jHFD: 18.7 ± 4.6 versus jCD: 17.3 ± 2.3 , $t_{22}<1$). Thus it appears that jHFD exposure induces specific enhancement of aversive memory without affecting anxiety-like behavior.

Juvenile HFD intake enhances long-term potentiation in the basolateral amygdala

Our results indicate that juvenile HFD intake leads to enhancement of amygdala-dependent memory. We then explored the effects of 3 months of exposure to juvenile HFD on long-term depression (LTP), a major form of synaptic plasticity related to memory, in basolateral amygdala (BLA). Baseline amplitude (i.e., before high frequency stimulation) did not differ between jHFD and jCD groups ($F \leq 1$ for diet, time and interaction effects). The high-frequency stimulation enhanced the fPSP amplitude for both groups (pre versus post stimulation: $t_{(5)}=2.9$ and $t_{(6)}=2.7$ for jCD and jHFD groups respectively, $p < 0.05$; Figure 2). After stimulation, the level of potentiation was different between groups ($F_{(1, 11)}=4.7$, $p=0.05$) and decreased with time ($F_{(6, 66)}=5.2$, $p < 0.001$) for both groups (interaction: $F < 1$). The higher level of potentiation in the jHFD group compared to the jCD group was still evident 60 min after stimulation ($139.6 \pm 9.4\%$ versus $106.2 \pm 3.8\%$, respectively; $t_{(11)}=3.1$, $p=0.01$; Figure 2), and was still different from baseline level in jHFD group ($t_{(6)}=3.9$, $p < 0.01$), but not anymore in jCD group ($t_{(5)}=1.6$, $p > 0.1$). These results show that jHFD is associated with increased LTP in the BLA.

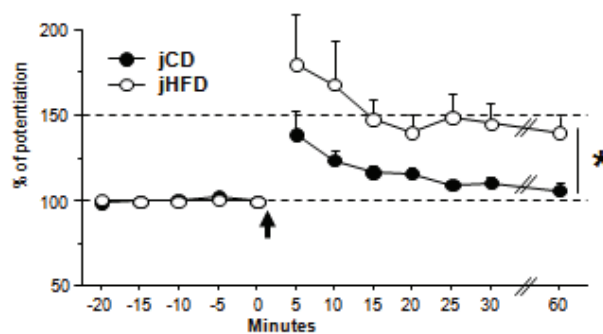


Figure 2. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on long term potentiation in the BLA induced by high frequency stimulation of entorhinal cortex stimulation (100 pulses at 200Hz, jHFD: $n=7$; jCD: $n=6$)
* $P < 0.05$: group difference.

Juvenile HFD intake induces protracted stress-induced glucocorticoid levels

Glucocorticoid hormones are known to modulate amygdala functioning. Thus, we explored if the release of corticosterone (the major glucocorticoid hormone in rodents) was affected by juvenile exposure to HFD. Since corticosterone level naturally fluctuates throughout the day according to a circadian rhythm, we first assessed conservation of this rhythm in jHFD-fed rats. Under basal (unstressed) conditions, there was no effects of jHFD on plasma corticosterone levels at the circadian trough ($t_{(21)} < 1$, beginning of the inactive phase) nor at circadian peak ($t_{(13)} < 1$, beginning of the active phase, Figure 3A). Both jHFD and jCD groups showed about 4 times higher levels of corticosterone at the peak compared to trough.

Because the HPA system reacts to stressful conditions by inducing corticosterone release, we submitted animals to different stressors and followed the increased corticosterone release, which dampens with time once stressful event has past. First we measured corticosterone release induced by psychogenic stressor (30 min of restraint stress), before (0'), immediately after the restraint stress (30'), one and 2.5 hours later (90' and 180'); Figure 3B). Following restraint condition, a strong increase of corticosterone levels was observed in both jHFD and jCD groups at 30 min. Corticosterone level decreased at 90 min for jCD group but not for jHFD groups. Both groups showed near to basal corticosterone levels 180 min after the stress began. This was confirmed by ANOVA with repeated measures indicating a significant effect of the time ($F_{(3, 39)}=135.6$, $p < 0.0001$), diet ($F_{(1, 13)}=24.5$, $p < 0.001$) and more importantly of diet x time interaction ($F_{(3, 39)}=3.4$, $p < 0.05$). Post-hoc analyses indicated no difference before and immediately after restraint stress (0 and 30 min, $p > 0.1$) but significantly higher corticosterone levels in jHFD group at 90 min and 180 min ($p < 0.004$ and $p < 0.02$,

respectively, Figure 3B). Similar results were obtained with the area under the curve (AUC) which was significantly higher for the jHFD group than for the jCD group (28932 ± 1136 and 19343 ± 1273 , respectively; $t_{(13)} = 5.3$, $p < 0.001$).

We performed a similar experiment but using a completely different systemic stressor, LiCl, first because it was used in previous behavioral experiments (to induce gastric-malaise) and second to evaluate if the effect of jHFD intake on psychogenic stress can be generalized to systemic stressors. Similar to restraint stress, i.p. injection of LiCl induced a strong increase of corticosterone levels in both jHFD and jCD groups 30 min after injection, which decreased 90 min after injection for jCD group only and both groups showed near basal levels 180 min after LiCl injection (Figure 3C). ANOVA with repeated measures indicated a significant effect of the time ($F_{(3, 36)} = 21.5$, $p < 0.0001$), and a high trend toward a significant effect of the group ($F_{(1, 12)} = 4.0$, $p = 0.06$), and of group x time interaction ($F_{(3, 36)} = 2.7$, $p = 0.06$). Higher corticosterone levels in jHFD group were revealed 90 min after LiCl injection only ($p = 0.05$; Figure 3C). Here again, the AUC was significantly higher for the jHFD group compared to the jCD group (32651 ± 5086 and 18909 ± 3789 , respectively; $t_{(12)} = 2.2$, $p = 0.05$). Altogether, these data indicate a protracted corticosterone release in response to psychogenic or systemic stressors, suggesting a disturbed feedback control of the HPA system in the jHFD group.

Another way to assess long-lasting stimulation of the HPA axis is by weighting adrenal glands. Chronic stress, which chronically activates the HPA axis, increases adrenal gland weight (Dubreucq *et al.*, 2012). However, jHFD exposure did not modify adrenal gland weight (ratio to bodyweight: 8.5 ± 0.4 and 8.8 ± 0.3 , jHFD and jCD groups, respectively, $t_{22} < 1$).

We then assessed corticosterone levels 90min after LiCl or saline injection in both juvenile and adult-exposed animals. A two-way ANOVA indicated a significant diet x LiCl interaction in juvenile ($F_{(1, 20)} = 4.8$, $p < 0.05$) but not in adult groups ($F > 1$). Post-hoc analyses revealed that jHFD group injected with LiCl had significantly higher corticosterone levels than jHFD group injected with saline ($p < 0.005$) and than jCD groups injected with either LiCl or saline ($p < 0.0001$), which did not differ from each other ($p > 0.1$). When only the juvenile and adult LiCl-injected groups were compared, the age x diet interaction was highly significant ($F_{(1, 20)} = 10.5$, $p < 0.005$), the jHFD group showing higher levels of corticosterone than the 3 other groups ($p < 0.0001$) which did not differ ($p > 0.1$; Figure 3D). No such effects were revealed in groups injected with saline (age x diet interaction: $F_{(1, 20)} = 1.9$, $p > 1$).

These results indicate that HFD exposure induced a protracted stress-induced corticosterone release specifically when exposure occurred during adolescence.

Juvenile HFD intake enhances stress-induced basolateral amygdala activation

The aversive stimulus used during COA, i.e. LiCl, is known to clearly activate the central nuclei of the amygdala (CEA) and to a lesser extend the basolateral amygdala (BLA; Ferreira *et al.*, 2006; Koh *et al.*, 2003; Yamamoto *et al.*, 1997). As aversive memory is highly dependent on amygdala activation, we asked if the higher aversive memory in jHFD-fed rats could be due to higher amygdala activation in response to LiCl. Therefore, we assessed neuronal activation by c-Fos labeling and Egr-1 labeling (a marker of neuronal activation and a molecular target of activated GR, Revest *et al.*, 2005) in the CeA and BLA of both juvenile- and adult-exposed animals 90min after saline or LiCl injection.

In the CEA, a clear LiCl effect appeared on the number of c-Fos and Egr-1 positive cells for juvenile groups ($F_{(1, 20)} = 62.4$ and $F_{(1, 20)} = 27.8$, $p < 0.001$, respectively) as well as adult groups ($F_{(1, 20)} = 24.1$ and $F_{(1, 20)} = 28.1$, $p < 0.001$, respectively) with no diet or interaction effects ($F < 1$ for all, Figure 3E for c-Fos, data not shown for Egr-1).

In the BLA, neuronal activation following LiCl injection was clearly influenced by the age of HFD exposure. In juvenile groups, the number of c-Fos and Egr-1 positive cells was affected by the injection (c-Fos: $F_{(1, 20)} = 8.9$, $p = 0.007$; Egr-1: $F_{(1, 20)} = 11.3$, $p = 0.003$ for), the diet (c-Fos: $F_{(1, 20)} = 10.8$,

p=0.004; Egr-1: $F_{(1, 20)}=10.6$, p=0.004) and more importantly by a injection x diet interaction (for c-Fos only: $F_{(1, 20)}=4.4$, p=0.05; Egr-1: $F_{(1, 20)}=1.6$, p>0.1). In contrast, for adult groups there was no effect of LiCl, diet or interaction for c-Fos or Egr-1 labeling ($F<2.5$, p>0.1). The effects in juvenile groups were due to higher labeling in jHFD-LiCl groups as compared to all the other groups (p<0.002 for c-Fos and p<0.005 for Egr-1) which did not differ from each other (p>0.1, Figure 3F).

When only the juvenile and adult LiCl-injected groups were compared, the age x diet interaction was highly significant for the BLA (c-Fos: $F_{(1, 19)}=7.6$, p=0.01; Egr-1: $F_{(1, 19)}=5.6$, p=0.03) but not for the CeA (c-Fos: $F<1$; Egr-1: $F_{(1, 19)}=1.4$, p>0.1; Figure 3E). The jHFD group showed higher number of c-Fos and Egr-1 positive cells than the 3 other groups (p<0.01) which did not differ (p>0.1; Figure 3F). No such effect was revealed with groups injected with saline ($F_{(1, 20)}=1.9$, p>1).

Then we wondered whether the stronger BLA activation of jHFD-fed rats could be related to a differential expression of GR in the BLA of these animals. However, the number of GR positive cells in BLA was not different between jCD and jHFD groups (no effects of diet, LiCl or interaction ($F\leq 3$, p≥0.1; jCD-saline: 30.9±3.7 cells/mm², jCD-LiCl: 36.6±3.3, jHFD-saline: 37.4±4.3 and jHFD-LiCl: 35.8±3.6).

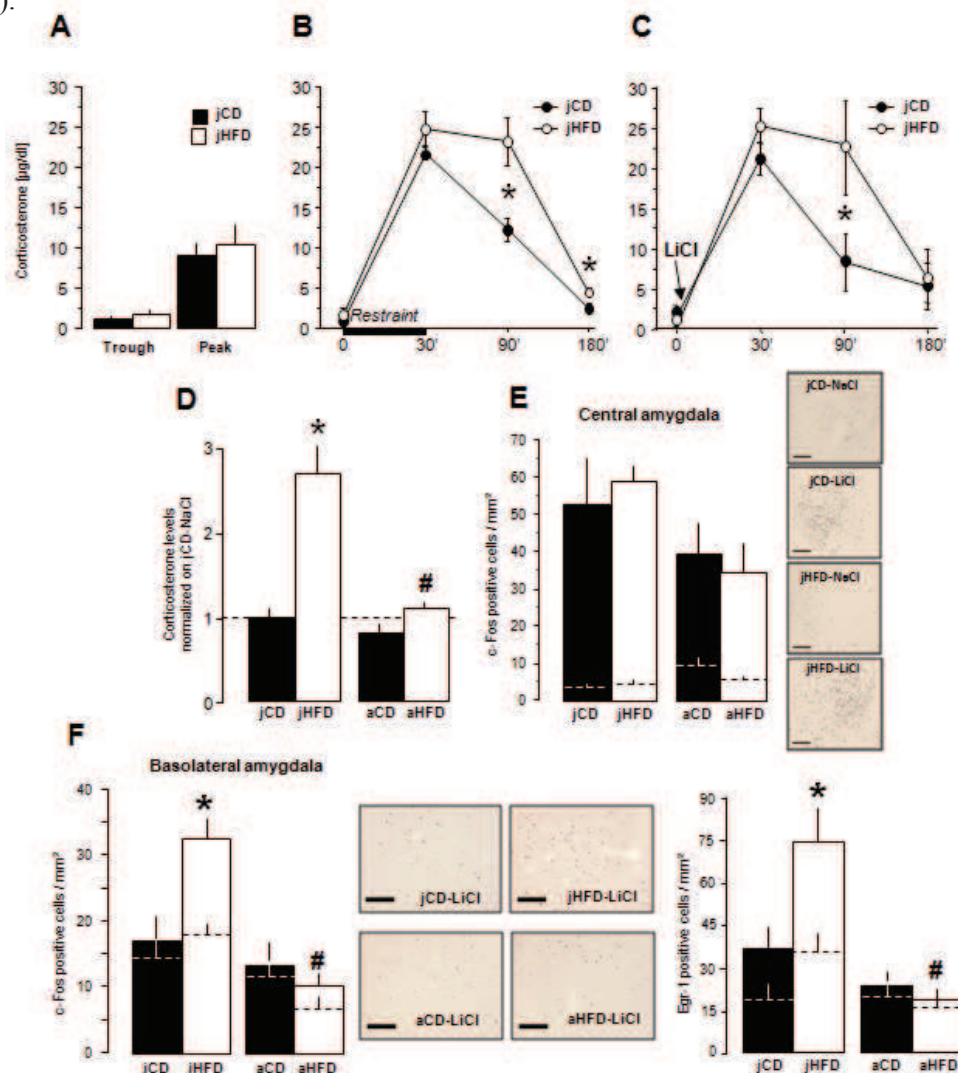


Figure 3. A. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on corticosterone secretion assessed at both trough and peak of the circadian rhythm (jHFD: n=13, jCD: n=10 for trough; jHFD: n=8, jCD: n=7 for peak). B. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on corticosterone secretion following a psychogenic stressor (30' restraint stress, jHFD: n=6; jCD: n=9). C. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on corticosterone secretion following a systemic stressor (i.p. LiCl injection, jHFD: n=7; jCD: n=7). D. Effects of juvenile or adult HFD consumption (3 months) on corticosterone secretion 90min following a systemic stressor (i.p. LiCl injection, n=6-7 for all groups). E. Effects of juvenile or adult HFD consumption (3 months) on Central amygdala activation measured by c-Fos labelling 90min following i.p. LiCl or saline (dash-lines) injection (n=6-7 for all groups). Representative pictures for c-Fos labelling following LiCl in each juvenile groups are presented aside. F. Effects of juvenile or adult HFD consumption (3 months) on Basolateral amygdala activation measured by c-Fos labeling (left panel) or Egr-1 labeling (right panel) 90min following i.p. LiCl or saline (dash-lines) injection (n=6-7 for all groups). Representative pictures for c-Fos labeling following LiCl in each group are presented between.
*P < 0.05 when compared to jCD group. #P < 0.05 when compared to jHFD group.

Since 90 min after LiCl injection was also the time-point by which corticosterone level were still increased only in jHFD-fed rats (Figures 3B, 3C and 3D), we searched for a correlation between plasmatic corticosterone level and the number of c-Fos positive cells in the BLA 90min after LiCl injection. Significant correlation appeared between corticosterone level and BLA activation in jHFD-fed group only ($Z_6=2.5$, $p=0.014$, whereas $Z<2$, $p>0.1$ for jCD, aHFD and aCD groups), suggesting the protracted corticosterone release after stress is directly linked to stronger BLA activation in jHFD rats.

GR activation mediates juvenile HFD-induced enhancement of amygdala function

Juvenile HFD-fed rats showed enhanced aversive memory and amygdala plasticity. Moreover stronger amygdala activation in these animals is correlated with protracted corticosterone levels in response to the aversive stimulus. As corticosterone affects BLA function mainly through activation of glucocorticoid receptors (GR; Roozendaal & McGaugh, 1997), we then assessed if blocking corticosterone action by specific blockade of GR in BLA with the antagonist mifepristone (RU486) could restore normal levels of both aversive memory and amygdala plasticity in jHFD-fed rats.

We first decided to assess if aversive memory enhancement seen in juvenile HFD-fed rats would be dampened when blocking GR activation by infusion of RU486 into the BLA. Two doses of RU486 infusion (1ng or 3ng) were assessed and compared to vehicle infusion. Since no difference due to RU486 dose was observed during the test, animals receiving RU486 were pooled into single groups (jCD-RU486 and jHFD-RU486). During the acquisition day (i.e. before mifepristone infusion), all animals drunk the almond-scented water, without any effect of the diet ($101\pm3\%$ and $93\pm3\%$ of water baseline for jCD and jHFD groups; $t_{(43)}=1.7$, $p=0.1$). BLA infusion was performed immediately before gastric malaise induction, making sure there were no differences in odorized water consumption prior to infusion ($F_{(1,41)}<1$ for diet and 'infusion effect' when considering animal to be infused with vehicle or RU486). During the test, assessed 3 days after odor-malaise association, all groups decreased odorized water consumption ($t\geq 3.8$, $p\leq 0.01$). However, the aversion strength was influenced by the diet ($F_{(1,41)}=17.8$, $p<0.001$), the drug treatment ($F_{(1,41)}=6.4$, $p=0.015$) and a strong tendency toward a drug x diet interaction appeared ($F_{(1,41)}=3.3$, $p=0.07$). jHFD-veh rats differed from jCD-veh rats ($p=0.001$), replicating previous data obtained with non-injected rats. More importantly, the GR antagonist clearly decreased the aversion in jHFD rats ($p<0.01$ jHFD-veh versus jHFD-RU; Figure 4B) whereas it did not affect the odor aversion in jCD rats ($p>0.1$, jCD-veh versus jCD-RU). Moreover, the GR antagonist reversed the aversion of jHFD rats back to the level of jCD-veh rats ($p>0.1$, jHFD-RU versus jCD-veh).

Finally, we assessed if the enhancement of LTP in juvenile HFD-fed rats was dependent on the GR activation. In other words, we examined if normal BLA plasticity was restored when blocking the GR using RU486 by comparing jHFD and jCD LTP when injected with RU486 (50mg/kg) or vehicle. Baseline amplitude before high frequency stimulation did not differ between groups ($F\leq 1$). Importantly, a two-way ANOVA with repeated measures on the post stimulation recording showed a significant effect of time ($F_{(6, 156)}=5.6$, $p<0.001$), of diet ($F_{(1, 26)}=7.1$ $p=0.01$), of drug treatment ($F_{(1, 26)}=13.0$ $p=0.001$), and importantly a diet x treatment interaction on the levels of potentiation in the BLA ($F_{(1, 26)}=3.9$ $p=0.05$; Figure 4C). Post-hoc analysis showed that the jHFD-veh group significantly differed from all the other groups ($P<0.001$). One hour after stimulation, the level of potentiation in the jHFD-veh group ($129.2\pm 4.1\%$) was still significantly higher than those of the other groups ($p<0.004$; $101.6\pm 5.8\%$, $96.7\pm 3.4\%$, $105.4\pm 4.4\%$ for jCD-veh, jCD-RU486 and jHFD-RU486; Figure 4D). This level was different from baseline level in jHFD-veh group ($t_{(6)}=4.6$, $p<0.01$), but not in the other groups ($t<1.7$, $p>0.1$). These results first replicate that jHFD increased LTP in the BLA and show evidence that this enhancement is dependent on GR activation.

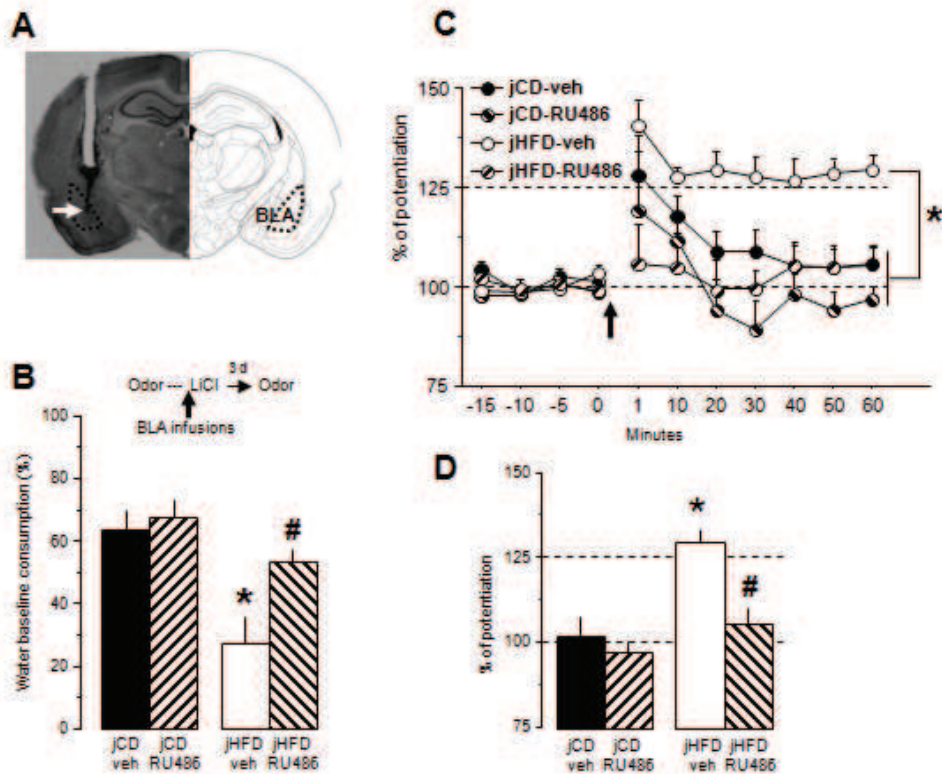


Figure 4. A. Histological examination of cannulae placement. Animals with one or two cannulae misplacement were discarded from analyses. B. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on COA memory assessed 3 days after acquisition during which RU486 (or vehicle, veh) was infused in the BLA (jCD-veh n=6, jCD-RU486 n=16; jHFD-veh n=6, jHFD-RU486 n=17). C. Effects of juvenile HFD consumption (3 months) on long-term potentiation in the BLA induced by high frequency stimulation of entorhinal cortex (100 pulses at 200Hz) following RU486 (or vehicle, veh) injection (jCD-veh n=10, jCD-RU486 n=7; jHFD-veh n=7, jHFD-RU486 n=6). D Details of long-term potentiation in the BLA one hour after high frequency stimulation. *P < 0.05 when compared to jCD-veh group. #P < 0.05 when compared to jHFD-veh group.

DISCUSSION

We demonstrated that juvenile consumption of HFD, from weaning to adulthood, enhances two aversive long-term memories (olfactory and auditory) and synaptic plasticity in BLA (long-term potentiation). We also found that juvenile HFD exposure prolongs the release of glucocorticoids after acute stress, which correlates with BLA c-Fos and Egr-1 activation. The same duration of HFD consumption restricted at adulthood did not yield such consequences on aversive memory, stress-induced corticosterone release and amygdala activity. Finally, blockade of GR activation in the BLA is sufficient to dampen the effects of juvenile HFD intake on increased aversive memory and synaptic plasticity.

If juvenile exposure to HFD enhances long-term aversive memory, it leaves acquisition (for fear) and short-term memory (for COA) unaffected. The absence of effect on these processes rules out an effect of jHFD on CS and US perception, for instance stronger malaise or shock perception, and rather suggests a specific memory effect. This specificity is also congruent with the absence of heightened anxiety-like behaviours after jHFD exposure.

Very few studies have investigated the effects of HFD on aversive memory and our study brings out new findings in this description. We first show that juvenile HFD consumption enhances COA. These results are in agreement with two previous studies investigating flavor aversion memory in genetic models of obesity (*ob/ob* and *db/db* mice respectively, Ohta *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 1993). Importantly, animals from these genetic models of obesity become obese rapidly after weaning thus resembling our jHFD-fed rats. We also found that juvenile, but not adult, HFD consumption enhances

cued fear memory. This is also in agreement with a recent study showing that HFD intake in adult mice had no effect on auditory fear memory (Heyward *et al.*, 2012). Yet our results seem contradictory to two other studies showing impaired fear memory after early exposure to HFD (Hwang *et al.*, 2010; Yamada-Goto *et al.*, 2012). Both studies used more drastic diet conditions than ours (60% Kcal from lipids instead of 45% Kcal) and this can critically influence the effect of HFD on cognitive processes (Pistell *et al.*, 2010). However, the discrepancy seems rather linked to a major procedural difference. In our conditions, fear conditioning leads to high fear response to the cue but not to the context (~60% freezing versus ~10% in jCD group). On the contrary, Hwang *et al.*, 2010 explored contextual fear conditioning and Yamada-Goto *et al.*, 2012 used a fear conditioning resulting in predominant contextual fear memory (~90% freezing). In contrast to auditory fear conditioning, contextual fear conditioning depends on hippocampal integrity (for review: Maren *et al.*, 2013; Rudy *et al.*, 2002). As we and others have shown clear deleterious effects of HFD on hippocampal-dependent memory (Boitard *et al.*, 2012 for review: Kanoski & Davidson, 2011), it seems logical that contextual fear memory is impaired. Altogether these data suggest that HFD induces a bidirectional effect, enhancing amygdala-dependent memory and impairing hippocampal-dependent memory.

The fact that long-term, but not short-term, aversive memory was enhanced following jHFD exposure indicates a specific effect on memory consolidation. This process requires protein synthesis (Dudai, 2004, Davis & Squire, 1984) and it has been demonstrated that inhibiting protein synthesis in the BLA specifically impairs long-term memory of COA and auditory fear conditioning without affecting short-term memory (Desgranges *et al.*, 2008; Schafe & LeDoux, 2000). Synaptic plasticity in BLA was also enhanced after jHFD exposure. In particular, only jHFD-fed animals showed evidence of late LTP (>30 min after high frequency stimulation), which also critically depends on protein synthesis (Abraham & Williams, 2008; Lynch *et al.*, 2007). Interestingly, consolidation of emotional memory and LTP in BLA are both exacerbated by stress via GR activation in BLA in lean animals (Miranda *et al.*, 2008; Roozendaal *et al.*, 2009; Sarabdjitsingh *et al.*, 2012). As chronic HFD exposure can alter stress-induced HPA axis activity (Legendre & Harris, 2006; Sharma & Fulton, 2013; Tannenbaum *et al.*, 1997) and since adolescence is a decisive period for maturation of both HPA system and amygdala (Foilib *et al.*, 2011; McCormick & Mathews, 2010; Spear, 2000) we explored HPA axis activity following juvenile HFD exposure. We found no effects of jHFD exposure on corticosterone levels either at baseline or 30 min following acute exposure to both systemic (gastric malaise) and psychogenic (restraint) stressors. However, we found a protracted corticosterone release 90 min after induction of both stressors in jHFD-fed animals. This protracted glucocorticoid release 90 min after gastric malaise induction was correlated with stronger BLA, but not CeA, activation (revealed using both c-Fos and Egr-1 labelings). Such changes in corticosterone release and amygdala activation were not found following adult HFD exposure. Finally, we explored if this prolonged corticosterone release after juvenile HFD exposure mediates the enhancement of both BLA synaptic plasticity and long-term aversive memory. Blockade of GR activation in the BLA, was able to restore normal aversive memory and synaptic plasticity in the BLA. This clearly indicates that the enhanced amygdala function following juvenile HFD exposure is mediated by a longer lasting GR activation.

The specific protracted release of corticosterone after stress suggests a disturbed feedback control of the HPA system in the jHFD group. After stressful event, the HPA axis reacts by inducing corticosterone release from adrenal glands which induces activation of GR receptors in hippocampus and prefrontal cortex. These brain areas indirectly inhibit the paraventricular nucleus and consequently decrease activation of the HPA axis (Lupien *et al.*, 2009). The maturation of this negative feedback of the HPA axis is completed during adolescence. Adolescent rats show a more prolonged corticosterone release to several types of stressors compared to adult rats, due to an incomplete maturation of structures like hippocampus and prefrontal cortex (Foilib *et al.*, 2011; McCormick & Mathews, 2010). It is therefore possible that HFD exposure since weaning leads to an impairment of the feedback

maturation leading to protracted corticosterone release at adulthood. A way to assess the functionality of HPA negative feedback is to assess corticosterone release after dexamethasone injection, a synthetic glucocorticoid that activates the feedback loop and thus decreases endogenous corticosterone release.

In our previous studies, we demonstrated the vulnerability of the juvenile period to the effect of HFD on hippocampal-dependent memory (Boitard *et al.*, 2012; Boitard *et al.* submitted). Here we generalized this notion of juvenile vulnerability to the effects of HFD exposure on another memory system. However, our previous studies demonstrated an impairment of hippocampal plasticity and memory whereas here we found an exacerbated amygdala plasticity and memory following juvenile HFD exposure. This bidirectional effect on hippocampal and amygdala function was previously reported in other situations like chronic stress (Lupien *et al.*, 2009; Sandi & Pinelo-Nava, 2007), normal aging (Lister & Barnes, 2009; Misanin *et al.*, 2002) or models of Alzheimer disease (España *et al.*, 2010). All these situations were characterized by deregulation of HPA axis activity which led to higher levels of corticosterone (Sapolsky *et al.*, 1986). Juvenile HFD exposure is clearly different from these situations as basal corticosterone levels, adrenal gland weight and anxiety levels were not affected in our condition. However, it remains to clearly investigate whether the impairment of hippocampal function seen in our animals (Boitard *et al.*, 2012; Boitard *et al.* submitted) could be linked to alteration of the HPA axis.

Taken together, these results indicate that the exacerbated BLA functioning, following juvenile HFD exposure, at both cellular and behavioral levels is mediated by GR activation. Our results indicates that juvenile HFD exposure induces a protracted corticosterone release, following an aversive event, which mediates longer lasting BLA activation, resulting in enhanced BLA plasticity and enhanced aversive memory consolidation. These results were obtained after juvenile, but not adult, exposure to HFD stressing adolescence as a vulnerable period to the effects of HFD exposure. Together with our previous studies on hippocampal function (Boitard *et al.*, 2012; Boitard *et al.* submitted), we show that juvenile exposure to HFD leads to a deregulation of HPA axis reactivity, impaired hippocampal function and enhanced amygdala function. Similar pattern of alteration was recently proposed in a mouse model of post-traumatic stress disorder (Kaouane *et al.*, 2012), suggesting that obesity during adolescence could predispose to this later maladaptive cognitive and emotional functions. This is a major concern as it could induce a significant impairment in life-quality for these individuals and considerably contribute to social and occupational dysfunctions.

Acknowledgements:

We thank Philippe Birac and Mathieu Cadet for technical assistance and for taking care of the animals. We also thank Claire Dawson for the English revision of the final text. Chloé Boitard was supported by a PhD grant from AXA. Guillaume Ferreira was supported by “Emergence de Jeune Equipe INRA 2010-2012”.

REFERENCES

- Abraham WC, Williams JM. 2008. LTP maintenance and its protein synthesis-dependence. *Neurobiol Learn Mem* 89(3):260-8.
- Andersen SL. 2003. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27(1-2):3-18.
- Berrino F. 2002. [Western diet and Alzheimer's disease]. *Epidemiol Prev* 26(3):107-15.
- Blanchard RJ, Blanchard DC. 1969. Crouching as an index of fear. *J Comp Physiol Psychol* 67(3):370-5.
- Boitard C, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, Laye S, Ferreira G. 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22(11):2095-100.
- Cserjesi R, Molnar D, Luminet O, Lenard L. 2007. Is there any relationship between obesity and mental flexibility in children? *Appetite* 49(3):675-8.
- Davis HP, Squire LR. 1984. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol. Bull.* 96:518-59
- Del Rosario A, McDermott MM, Panee J. 2012. Effects of a high-fat diet and bamboo extract supplement on anxiety- and depression-like neurobehaviours in mice. *Br J Nutr* 108(7):1143-9.
- Desgranges B, Levy F, Ferreira G. 2008. Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res* 1236:166-75.
- Dinel AL, Andre C, Aubert A, Ferreira G, Laye S, Castanon N. 2011. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS One* 6(9):e24325.
- Dixon JB, Dixon ME, O'Brien PE. 2003. Depression in association with severe obesity: changes with weight loss. *Arch Intern Med* 163(17):2058-65.
- Dubreucq S, Matias I, Cardinal P, Haring M, Lutz B, Marsicano G, Chaouloff F. 2012. Genetic dissection of the role of cannabinoid type-1 receptors in the emotional consequences of repeated social stress in mice. *Neuropsychopharmacology* 37(8):1885-900.
- Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Espana J, Gimenez-Llort L, Valero J, Minano A, Rabano A, Rodriguez-Alvarez J, LaFerla FM, Saura CA. 2010. Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol Psychiatry* 67(6):513-21.
- Fanselow MS, Gale GD. 2003. The amygdala, fear, and memory. *Ann N Y Acad Sci* 985:125-34.
- Ferreira G, Ferry B, Meurisse M, Levy F. 2006. Forebrain structures specifically activated by conditioned taste aversion. *Behav Neurosci* 120(4):952-62.
- Ferreira G, Gutierrez R, De La Cruz V, Bermudez-Rattoni F. 2002. Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *Eur J Neurosci* 16(6):1139-45.
- Foils AR, Lui P, Romeo RD. 2011. The transformation of hormonal stress responses throughout puberty and adolescence. *J Endocrinol* 210(3):391-8.
- Francis H, Stevenson R. 2013. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* 63:119-28.
- Hawkins MA, Stewart JC. 2012. Do negative emotional factors have independent associations with excess adiposity? *J Psychosom Res* 73(4):243-50.
- Heyward FD, Walton RG, Carle MS, Coleman MA, Garvey WT, Sweatt JD. 2012. Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobiol Learn Mem* 98(1):25-32.
- Hwang LL, Wang CH, Li TL, Chang SD, Lin LC, Chen CP, Chen CT, Liang KC, Ho IK, Yang WS and others. 2010. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity (Silver Spring)* 18(3):463-9.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103(1):59-68.
- Kaouane N, Porte Y, Vallee M, Brayda-Bruno L, Mons N, Calandrea L, Marighetto A, Piazza PV, Desmedt A. 2012. Glucocorticoids can induce PTSD-like memory impairments in mice. *Science* 335(6075):1510-3.
- Koh MT, Clarke SN, Spray KJ, Thiele TE, Bernstein IL. 2003. Conditioned taste aversion memory and c-Fos induction are disrupted in RIIbeta-protein kinase A mutant mice. *Behav Brain Res* 143(1):57-63.
- LeDoux J. 2003. The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol* 23(4-5):727-38.
- Legendre A, Harris RB. 2006. Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291(5):R1288-1294.

- Li Y, Dai Q, Jackson JC, Zhang J. 2008. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 16(8):1809-15.
- Lister JP, Barnes CA. 2009. Neurobiological changes in the hippocampus during normative aging. *Arch Neurol* 66(7):829-33.
- Lopresti AL, Hood SD, Drummond PD. 2013. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: diet, sleep and exercise. *J Affect Disord* 148(1):12-27.
- Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* 10(6):434-45.
- Lynch G, Rex CS, Gall CM. 2007. LTP consolidation: substrates, explanatory power, and functional significance. *Neuropharmacology* 52(1):12-23.
- Mahan AL, Ressler KJ. 2012. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci* 35(1):24-35.
- Maren S. 2005. Synaptic mechanisms of associative memory in the amygdala. *Neuron* 47(6):783-6.
- Maren S, Phan KL, Liberzon I. 2013. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nat Rev Neurosci* 14(6):417-28.
- McCormick CM, Mathews IZ. 2010. Adolescent development, hypothalamic-pituitary-adrenal function, and programming of adult learning and memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(5):756-65.
- Miranda MI, Quirarte GL, Rodriguez-Garcia G, McGaugh JL, Roozendaal B. 2008. Glucocorticoids enhance taste aversion memory via actions in the insular cortex and basolateral amygdala. *Learn Mem* 15(7):468-76.
- Misanin JR, Collins M, Rushanan S, Anderson MJ, Goodhart M, Hinderliter CF. 2002. Aging facilitates long-trace taste-aversion conditioning in rats. *Physiol Behav* 75(5):759-64.
- Nilsson LG, Nilsson E. 2009. Overweight and cognition. *Scand J Psychol* 50(6):660-7.
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. 2012. Prevalence of obesity and trends in body mass index among US children and adolescents, 1999-2010. *JAMA* 307(5):483-90.
- Ohta R, Shigemura N, Sasamoto K, Koyano K, Ninomiya Y. 2003. Conditioned taste aversion learning in leptin-receptor-deficient db/db mice. *Neurobiol Learn Mem* 80(2):105-12.
- Pagoto SL, Schneider KL, Bodenlos JS, Appelhans BM, Whited MC, Ma Y, Lemon SC. 2012. Association of post-traumatic stress disorder and obesity in a nationally representative sample. *Obesity (Silver Spring)* 20(1):200-5.
- Pasinetti GM, Eberstein JA. 2008. Metabolic syndrome and the role of dietary lifestyles in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 106(4):1503-14.
- Paxinos G. & Watson C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego : Academic USA
- Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, Bruce-Keller AJ. 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* 219(1-2):25-32.
- Revest JM, Di Blasi F, Kitchener P, Rouge-Pont F, Desmedt A, Turiault M, Tronche F, Piazza PV. 2005. The MAPK pathway and Egr-1 mediate stress-related behavioral effects of glucocorticoids. *Nat Neurosci* 8(5):664-72.
- Richard EM, Helbling JC, Tridon C, Desmedt A, Minni AM, Cador M, Pourtau L, Konsman JP, Mormede P, Moisan MP. 2010. Plasma transcortin influences endocrine and behavioral stress responses in mice. *Endocrinology* 151(2):649-59.
- Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. 2009. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci* 10(6):423-33.
- Roozendaal B, McGaugh JL. 1997. Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiol Learn Mem* 67(2):176-9.
- Rudy JW, Barrientos RM, O'Reilly RC. 2002. Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. *Behav Neurosci* 116(4):530-8.
- Sandi C, Pinelo-Nava MT. 2007. Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plast* 2007:78970.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. 1986. The adrenocortical axis in the aged rat: impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition. *Neurobiol Aging* 7(5):331-5.
- Sarabdjitsingh RA, Kofink D, Karst H, de Kloet ER, Joels M. 2012. Stress-induced enhancement of mouse amygdalar synaptic plasticity depends on glucocorticoid and ss-adrenergic activity. *PLoS One* 7(8):e42143.
- Schafe GE, LeDoux JE. 2000. Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *J Neurosci* 20(18):RC96.

- Sellbom KS, Gunstad J. 2012. Cognitive function and decline in obesity. *J Alzheimers Dis* 30 Suppl 2:S89-95.
- Sharma S, Fulton S. 2013. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes (Lond)* 37(3):382-9.
- Spear LP. 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24(4):417-63.
- Tannenbaum BM, Brindley DN, Tannenbaum GS, Dallman MF, McArthur MD, Meaney MJ. 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *Am J Physiol* 273(6 Pt 1):E1168-77.
- Thompson CI, Margules DL, Kreider JW, Boha SP, Rejer RE, Jr., Quirey RA, Reitz JA. 1993. Propensity to form conditioned taste aversions augments anorexia in obese (ob/ob) mice with B16 melanoma. *Behav Neurosci* 107(5):786-98.
- WHO reports, 201 <http://www.who.int/topics/obesity/en/index.html>
- Yamada-Goto N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, Nakao K. 2012. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *J Neuroendocrinol* 24(8):1120-5.
- Yamamoto T, Sako N, Sakai N, Iwafune A. 1997. Gustatory and visceral inputs to the amygdala of the rat: conditioned taste aversion and induction of c-fos-like immunoreactivity. *Neurosci Lett* 226(2):127-30.

Discussion générale

Dans les 2 chapitres de cette thèse, nous avons mis en évidence le fait que **l'adolescence apparaît comme une période de forte vulnérabilité aux effets de la consommation de régimes HL sur la cognition**. Pour ce faire, nous avons comparé les effets d'une exposition à un régime HL couvrant l'adolescence aux effets de la même exposition restreinte à l'âge adulte. Nous proposons ici un récapitulatif des effets du régime HL sur la fonction hippocampique et amygdalienne (voir Tableaux 4 et 5).

Nos premiers résultats montrent que dans nos conditions de régime (45% Kcal venant des lipides ; donné pendant 2 à 3 mois avant la réalisation des tests comportementaux), l'exposition couvrant l'adolescence va induire **des déficits des fonctions hippocampiques**, évalués au niveau comportemental (mémoires spatiales et relationnelles, articles 1 et 2), et cellulaire (neurogenèse, article 1). Si l'exposition au régime a lieu uniquement à l'âge adulte, ces fonctions ne sont pas affectées. Nous proposons que la potentialisation de la réponse neuro-inflammatoire dans l'hippocampe, obtenue suite à une stimulation du système immunitaire, soit un mécanisme pouvant expliquer ces effets délétères de la consommation du régime HL sur la fonction hippocampique (article 2).

Dans le 2^{ème} chapitre de cette thèse, nous avons investigué les mémoires aversives, impliquant l'amygdale. Dans nos conditions, la consommation du régime HL à l'adolescence engendre **une exacerbation de la fonction amygdalienne** au niveau comportemental (mémoire aversive) et synaptique (PLT, article 3). Suite à un stress, nous avons mis en évidence, chez les animaux soumis au régime HL à l'adolescence, une libération prolongée de GC liée à une activation plus importante du BLA. Le même régime consommé à l'âge adulte est sans effets sur les mémoires aversives et sur les réponses endocriniennes et neurobiologiques engendrées par un stress. Nous avons proposé que la consommation du régime HL à l'adolescence engendre une dérégulation de l'axe HPA et de la libération de GC, qui induiraient une exacerbation de la fonction amygdalienne. Ce lien causal a été mis en évidence par une approche pharmacologique, lors de laquelle nous avons bloqué l'action des GC sur leurs récepteurs GR. Nous avons ainsi restauré, chez les rats soumis au régime HL à l'adolescence, une plasticité synaptique dans le BLA et une mémoire aversive proche de celle des animaux contrôles.



Effets du régime	Période d'exposition au régime	
	Adolescence	Adulte
MWM apprentissage / court terme	0	0
MWM mémoire à long terme	↓	0
Lab. radiaire discriminations concurrentes	↓	0
Lab. radiare mémoire relationnelle	↓	0
Infla. hippocampe (basal)	0	0
Infla. hippocampe (post.stim)	↑	0
Neurogenèse GD	↓	0
PLT CA1	↑ puis ↓ *	?

Tableau 4 : Bilan des effets du régime HL sur la fonction hippocampique. '0' indique une absence d'effet du régime HL comparativement au régime C chez les animaux du même âge. Les flèches indiquent la présence d'un effet du régime HL et son sens (vers le bas : diminution et vers le haut : augmentation de la fonction suite à l'exposition au régime HL comparativement à l'exposition au régime C).



Effets du régime	Période d'exposition au régime	
	Adolescence	Adulte
Comportement de type anxieux	0	0
AOC mémoire à court terme	0	0
AOC mémoire à long terme	↑	0
Cond. de peur acquisition	0	0
Cond. de peur mémoire à long terme son	↑	0
Corticosterone (basal)	0	0
Corticosterone (post.stim)	↑	0
Activité CeA (post. stim.)	0	0
Activité BLA (post. stim.)	↑	0
Nombre GR BLA	0	0
PLT BLA	↑ *	?

Tableau 5 : Bilan des effets du régime HL sur la fonction amygdalienne. '0' indique une absence d'effet du régime HL comparativement au régime C chez les animaux du même âge. Les flèches indiquent la présence d'un effet du régime HL et son sens (vers le bas : diminution et vers le haut : augmentation de la fonction suite à l'exposition au régime HL comparativement à l'exposition au régime C).

* Nous reviendrons sur les effets du régime HL sur la PLT dans le CA1 (exacerbation suite à 3 mois, puis diminution suite à 6 mois d'exposition) plus tard dans cette discussion. Cependant, nous souhaitons informer dès à présent le lecteur que la PLT dans le BLA est exacerbée suite à ces deux durées d'exposition (3 et 6 mois de régime)

Vulnérabilité de la période adolescente

Dans nos travaux, nous mettons en évidence des perturbations de 2 systèmes fonctionnels sous-tendant des mémoires différentes. Si nous reviendrons au cours de cette discussion sur le fait que le régime HL affecte ces deux systèmes de manière bidirectionnelle, perturbant les fonctions hippocampiques et exacerbant les fonctions amygdaliennes, nous souhaitons attirer l'attention du lecteur sur le fait que la vulnérabilité de la période adolescente aux effets de ces régimes est présente quelque soit l'espèce (rat ou souris) et le système fonctionnel mnésique investigué.

A notre connaissance, la vulnérabilité de la période adolescente n'avait pas été investiguée dans le cadre des régimes HL et de leurs conséquences sur la cognition lors de l'initiation de ces travaux de thèse. En effet, si certaines des études précédemment réalisées (détaillées dans le tableau 2 du chapitre II.D.1. de l'introduction) débutent l'exposition aux régimes HL assez précocement (au début de l'adolescence), aucune n'a comparé les conséquences de la consommation du régime HL lors de l'adolescence à celles de la même exposition à l'âge adulte. Depuis le début des travaux de cette thèse, nous avons noté 3 études qui ont comparé les effets cognitifs de la consommation de régimes obésogènes à l'adolescence et à l'âge adulte (Labouesse *et al.*, 2013; Privitera *et al.*, 2011; Valladolid-Acebes *et al.*, 2013). Bien que ces études diffèrent entre-elles de part le modèle utilisé (type de régime, espèce) et le processus cognitif investigué, toutes mettent en évidence une plus forte vulnérabilité de la période adolescente (par rapport à la période adulte) aux effets des régimes HL sur la cognition.

Nous souhaitons attirer l'attention du lecteur sur le fait que notre exposition au régime HL à l'adolescence n'a pas été exclusive de cette période. En effet, l'adolescence chez le rongeur ne dure qu'environ un mois. Or nos travaux montrent que si cette durée d'exposition au régime HL (1 mois) suffit à engendrer certains effets sur la cognition, d'autres effets apparaissent uniquement suite à une exposition plus longue. Nous avons donc prolongé l'exposition de nos animaux au régime HL (2-3 mois) avant le début des tests comportementaux, dépassant ainsi l'adolescence *sensu stricto*. Néanmoins, nous mettons en évidence **une plus forte vulnérabilité aux effets des régimes HL de la période incluant l'adolescence comparativement à celle excluant l'adolescence.**

Nous pensons que la plus forte vulnérabilité de la période adolescente aux effets de la consommation de régimes HL sur le cerveau et le comportement peut s'expliquer par une plus grande sensibilité des structures cérébrales sous-tendant les mémoires que nous avons investigué. En effet, l'hippocampe et l'amygdale sont des structures qui ne sont pas matures à la naissance chez les mammifères. La maturation de ces structures perdure après la naissance et notamment lors de l'adolescence afin d'aboutir à un organisme adulte mature. Or on sait qu'une même stimulation aura des effets plus importants sur des systèmes immatures que sur des systèmes matures (Andersen, 2003). Nous reviendrons en détail sur les mécanismes que nous avons privilégiés afin de lier la consommation du régime HL aux perturbations structurelles et fonctionnelles au sein de ces structures, soit l'inflammation et la dérégulation de l'axe HPA. Il est notamment établi que le rétrocontrôle de l'axe HPA se met en place à l'adolescence (Foilb *et al.*, 2011; McCormick & Mathews, 2010; Romeo *et al.*, 2013). Cela se traduit par une sécrétion prolongée de GC suite à une stimulation chez les adolescents, alors que cette sécrétion est beaucoup plus transitoire à l'âge adulte. Nous mettons en évidence que l'exposition au régime HL dès le sevrage (couvrant l'adolescence) se traduit à l'âge adulte par une sécrétion prolongée de GC suite à l'activation de cet axe, probablement au travers de perturbations du rétrocontrôle. Le régime HL aurait ainsi bloqué la maturation du rétrocontrôle de l'axe HPA, qui fonctionnerait alors comme celui d'animaux immatures. L'organisme des animaux placés sous régime HL à l'adolescence va alors être exposé de manière prolongée à des stimulations par les GC, dont on connaît les effets délétères sur le cerveau (Lupien *et al.*, 2009, voir Figure 13). En particulier, l'action prolongée des GC sur l'hippocampe et l'amygdale lors de leur maturation engendrerait de plus importantes modifications fonctionnelles au sein de ces structures que lorsque les GC agissent sur des structures matures. Ces modifications seraient responsables de l'apparition des troubles mnésiques mis en évidence suite à l'exposition au régime HL.

Concernant l'inflammation, on sait que dans les situations d'obésité, les taux de cytokines périphériques et centraux sont augmentés (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010). Dans nos conditions, nous n'avons pas retrouvé cette augmentation au niveau basal, mais avons mis en évidence une potentialisation de la réponse neuro-inflammatoire hippocampique suite à une stimulation périphérique du système inflammatoire, indiquant des modifications de la sensibilité de l'hippocampe à un challenge immunitaire. Or d'une manière intéressante, il apparait que le retour à l'homéostasie inflammatoire est plus rapidement initié chez les animaux en début d'adolescence qu'à l'âge adulte (Goble *et al.*, 2011). Ce mécanisme

pourrait apparaître comme une protection de l'organisme aux effets délétères d'une inflammation périphérique et centrale prolongée sur le fonctionnement des structures cérébrales immatures et potentiellement hyper-sensibles à ces effets (Di Filippo *et al.*, 2013; Nelson *et al.*, 2012). Ainsi, nous faisons l'hypothèse que si la potentialisation de la réponse inflammatoire hippocampique apparaît précocement suite à l'ingestion du régime HL, à une période de la vie où la sensibilité de l'hippocampe à un environnement inflammatoire délétère est accrue, cette neuro-inflammation pourrait participer aux altérations que nous mettons en évidence au sein de l'hippocampe.

Une façon d'investiguer si la plus grande vulnérabilité aux effets de l'exposition au régime HL dès le sevrage s'explique par l'immaturation des structures cérébrales, et par leur hyper-sensibilité aux modifications induites par l'environnement hormonal et inflammatoire, serait d'étudier l'impact de la consommation d'un régime HL dès le sevrage chez des espèces dont les structures cérébrales sont plus matures lors de la naissance, comme les espèces nidifuges (cochon d'inde).

Enfin, nous nous demandons si l'adolescence apparaît être une période critique ou seulement une période sensible de vulnérabilité aux effets des régimes HL. Une façon de répondre à cette question résiderait en un retour sous un régime alimentaire standard suite à une exposition au régime HL à l'adolescence. Si l'adolescence est une période critique, alors les fonctions affectées par le régime HL seraient impactées à vie, même suite à un arrêt du régime. C'est le cas par exemple de l'exposition au sucre à l'adolescence qui altère les processus de motivation même plusieurs mois après l'arrêt de l'ingestion de sucre (Vendruscolo *et al.*, 2010a). À l'inverse, si l'adolescence est une période sensible aux perturbations induites par le régime HL (comparativement à l'âge adulte), alors le retour au régime standard induira une récupération des fonctions altérées.

Altérations hippocampiques et mécanismes impliqués

Dans le 1^{er} chapitre de cette thèse, nous mettons en évidence des perturbations de la fonction hippocampique, au niveau cellulaire et comportemental suite à la consommation du régime HL à l'adolescence.

Facteurs influençant les effets du régime HL sur la mémoire

Au niveau cognitif, des déficits d'apprentissage ont été rapportés en MWM suite à la consommation de régimes HL (voir Tableau 2). Or dans nos conditions, l'apprentissage spatial simple en MWM est préservé suite à la consommation du régime HL. Le fait que d'autres études obtiennent des déficits d'apprentissage dans ce paradigme peut s'expliquer par l'utilisation d'un régime plus drastique que le notre (plus riche en lipides, avec un ajout de sucres, et/ou donné pendant de plus longues durées, Farr *et al.*, 2008; Goldbart *et al.*, 2006; Molteni *et al.*, 2002; Molteni *et al.*, 2004; Pathan *et al.*, 2008; Stranahan *et al.*, 2008b). En effet, il a été démontré qu'un apprentissage spatial peut être préservé lorsque le régime HL consommé est semblable au notre (40% Kcal venant des lipides) mais perturbé si le régime est plus drastique (60% Kcal venant des lipides, Pistell *et al.*, 2010). Il y aurait donc **une gradation des effets délétères induits par la consommation des régimes HL sur l'apprentissage spatial, qui dépendrait de la durée et de la composition du régime**. Néanmoins, dans une autre épreuve spatiale, en labyrinthe radiaire, nous mettons en évidence des déficits d'apprentissage chez les animaux soumis au régime HL à l'adolescence. Or la réalisation de cet apprentissage, nécessitant 3 discriminations concurrentes de paires de bras est plus complexe que l'apprentissage d'un seul but, réalisé en MWM. Ainsi, il existerait également **une gradation des effets des régimes HL sur la cognition, selon la complexité de la tâche investiguée**.

D'une manière intéressante, 9 des 16 animaux sous régime HL depuis le sevrage (soit 55% des individus) ne parviennent pas à acquérir la tâche de discrimination concurrente en labyrinthe radiaire (Article 1). Si on catégorise les animaux selon leur sensibilité à la prise de poids induite par le régime HL, on remarque que 7 des 9 individus qui n'arrivent pas à effectuer l'apprentissage de la discrimination concurrente sont sensibles au régime HL (ils prennent du poids). A l'inverse, 6 des 7 souris qui acquièrent la discrimination sont résistantes au régime HL (elles ne prennent pas ou peu de poids). Ces résultats rejoignent ceux de la littérature indiquant que les animaux les plus résistants à la prise de poids lorsqu'ils sont placés sous régime obésogène sont aussi les moins perturbés dans les tâches dépendantes de

l'hippocampe (Davidson *et al.*, 2013; Davidson *et al.*, 2012; McNay *et al.*, 2010). Néanmoins, dans notre cas, les souris qui acquièrent la discrimination ne sont pas capables d'effectuer le second niveau de demande cognitive dans le labyrinthe radiaire, à savoir la tâche de flexibilité mnésique, permettant de mettre en évidence des perturbations plus subtiles de la fonction hippocampique (Etchamendy *et al.*, 2011; Marighetto *et al.*, 1999; Touzani *et al.*, 2003). Notons que de tels effets n'ont pas été obtenus dans la MWM, où l'ensemble des rats sous régime HL est perturbé, que les individus soient résistants ou sensibles à la prise de poids (Article 2). Ainsi, si **la prise de poids apparaît être un facteur prédisposant à l'apparition de troubles cognitifs, la consommation de régime HL *per se* peut aussi induire des déficits lorsque la tâche mnésique se complexifie.**

Enfin, nous mettons en évidence des perturbations de la fonction hippocampique suite à l'exposition au régime HL à l'adolescence, mais pas si l'exposition a lieu à l'âge adulte. Pourtant, de nombreuses études ayant exposé les animaux au régime HL à l'âge adulte uniquement obtiennent des déficits cognitifs (début du régime à 3-4 mois d'âge, comme dans nos conditions : Heyward *et al.*, 2012; Kanoski & Davidson, 2010; Kanoski *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2009; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). Si la majorité de ces études utilisent un régime différent du nôtre, ce qui peut expliquer les divergences avec nos travaux, nous avons tout de même souhaité explorer si, dans nos conditions, l'exposition au régime HL à l'âge adulte pouvait sous-tendre l'apparition de déficits mnésiques. Il apparaît qu'en complexifiant la demande cognitive en MWM, en augmentant le délai de rétention (mémoire testée 12 jours après l'apprentissage - 24h après un réentraînement), nous mettons en évidence un déficit mnésique suite à une exposition au régime HL restreinte à l'âge adulte. Ainsi dans nos conditions, **la consommation d'un régime HL à l'âge adulte n'est pas sans effets sur la cognition.** Cependant, le fait que **certaines tâches cognitives soient affectées uniquement chez des animaux exposés au régime HL à l'adolescence met en évidence la vulnérabilité de cette période aux effets délétères de ces régimes sur la cognition.** En parallèle de cette thèse, 2 études ont également comparé les conséquences d'une exposition au régime HL à l'adolescence ou à l'âge adulte sur la mémoire dépendante de l'hippocampe (mémoire de localisation d'un objet et préférence de place conditionnée). Dans ces travaux, seule l'exposition au régime HL couvrant l'adolescence engendre des déficits (Privitera *et al.*, 2011; Valladolid-Acebes *et al.*, 2013), rejoignant le fait que l'adolescence apparaît bien comme une période de plus forte vulnérabilité aux effets des régimes HL sur la fonction hippocampique.

Effets du régime HL sur les altérations cellulaires et la plasticité

Dans nos conditions, nous mettons en évidence des déficits de mémoire spatiale à long terme ainsi que des déficits de flexibilité spatiale suite à l'exposition au régime HL à l'adolescence. La réalisation de ces tâches repose respectivement sur la **consolidation et la flexibilité mnésique**. La consolidation mnésique nécessite la synthèse de nouvelles protéines (Dudai, 2004; Izquierdo *et al.*, 1999 ; Davis & Squire 1984). Par exemple l'augmentation de la synthèse de BDNF et de CREB ainsi que leur phosphorylation suite à un apprentissage est prépondérante pour la consolidation mnésique (Chen *et al.*, 2012; Monti *et al.*, 2005; Ou & Gean, 2007). Or il a été démontré que la consommation de régime HL diminue l'expression de ces protéines au sein de l'hippocampe (Goldbart *et al.*, 2006; Kanoski *et al.*, 2007; Molteni *et al.*, 2004; Stranahan *et al.*, 2008b; Wu *et al.*, 2004; Yamada-Goto *et al.*, 2012). La consommation de notre régime HL ne perturbe pas les niveaux de base de CREB ou de BDNF (données non-publiées). Cependant, il serait intéressant de quantifier ces protéines, et notamment leur phosphorylation, suite à un apprentissage dont la mémorisation à long terme est perturbée par le régime HL.

La flexibilité mnésique, investiguée dans le labyrinthe radial et en MWM dépend fortement de l'hippocampe, en interaction avec le CPF (Singer *et al.*, 2009). Or il apparaît que dans des tâches mettant en jeu ces deux structures, les animaux exposés au régime HL à l'adolescence sont déficitaires (exposition débutée à 1 mois d'âge, et d'une durée de 3 mois, Winocur & Greenwood, 2005). Chez l'Homme, l'obésité est aussi associée à des déficits de flexibilité et des fonctions exécutives, sous-tendues par le CPF, notamment chez les enfants et les adolescents (Cserjesi *et al.*, 2007; Jeong *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2008; Lokken *et al.*, 2009; Reinert *et al.*, 2013). D'une manière intéressante, en plus d'être une période de maturation du CPF et de l'hippocampe, l'adolescence apparaît aussi comme la période où le dialogue entre ces deux structures se met en place. Ainsi, il est possible que la consommation précoce de régimes HL influe sur la mise en place de ce dialogue, sous-tendant l'apparition de troubles de flexibilité comportementale.

La consolidation mnésique et la flexibilité spatiale font appel à la **plasticité hippocampique**. Ainsi une diminution de la neurogenèse hippocampique induit des perturbations de ces processus (Arruda-Carvalho *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2010; Dupret *et al.*, 2008; Garthe *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2010; Snyder *et al.*, 2005). De plus, une diminution de l'arborisation dendritique (Chen *et al.*, 2010; del Valle *et al.*, 2012) et de la PLT (Sacktor, 2008) sont reliées à l'apparition de perturbations de la mémoire à long terme. Nous avons mis

en évidence une diminution de la neurogenèse hippocampique suite à la consommation de régimes HL à l'adolescence chez nos animaux (article 1 chez la souris, données non-publiées chez le rat ; voir aussi Hwang *et al.*, 2008; Lindqvist *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2010), la consommation du régime HL à l'âge adulte étant sans effets (article 1 ; voir aussi Rivera *et al.*, 2011). Nous voulons préciser ici que tous les animaux étaient adultes lorsque la neurogenèse a été évalué (4 mois de régime, soit environ 5 mois ou 7 mois d'âge selon que le régime ait été consommé dès le sevrage ou une fois adulte). Cependant, il serait intéressant d'investiguer la neurogenèse hippocampique de manière plus précoce suite à la mise sous régime HL dès le sevrage. En effet, la neurogenèse étant plus importante à l'adolescence qu'à l'âge adulte (Cushman *et al.*, 2012), il serait intéressant de voir si la diminution de la neurogenèse a lieu dès l'adolescence, pouvant alors perturber la maturation de l'hippocampe et sous-tendre l'apparition de déficits.

En collaboration avec Rose-Marie Vouimba (INCIA, bordeaux) et Mouna Maroun (Université de Haifa, Israël), nous avons investigué la PLT dans l'hippocampe chez nos animaux (données non présentées dans les articles de cette thèse). De façon étonnante, nous avons observé une augmentation de la PLT dans le CA1 après 3 mois d'exposition au régime HL débutant au sevrage (voir Figure 15). Ce phénomène est transitoire, la PLT dans le CA1 étant diminuée après 6 mois de régime HL (voir Figure 15), rejoignant les données de la littérature indiquant qu'une exposition prolongée au régime HL (environ 10 mois), débutant au sevrage, s'accompagne d'une diminution de la PLT dans le CA1 (Hwang *et al.*, 2010). Ces résultats inattendus (augmentation suivie d'une diminution de la LTP) peuvent être mis en parallèle avec ceux concernant l'arborisation dendritique dans le CA1 hippocampique. En effet, une exposition de 2 mois à un régime HL donné dès le sevrage engendre une augmentation du nombre épines dendritiques dans le CA1, associée à des déficits de mémoire spatiale (Valladolid-Acebes *et al.*, 2013), alors qu'une exposition de 10 mois au régime HL (débutant au sevrage) s'accompagne d'une diminution du nombre d'épines dendritiques dans le CA1 (Teng *et al.*, 2011).

PLT dans l'hippocampe (CA1)

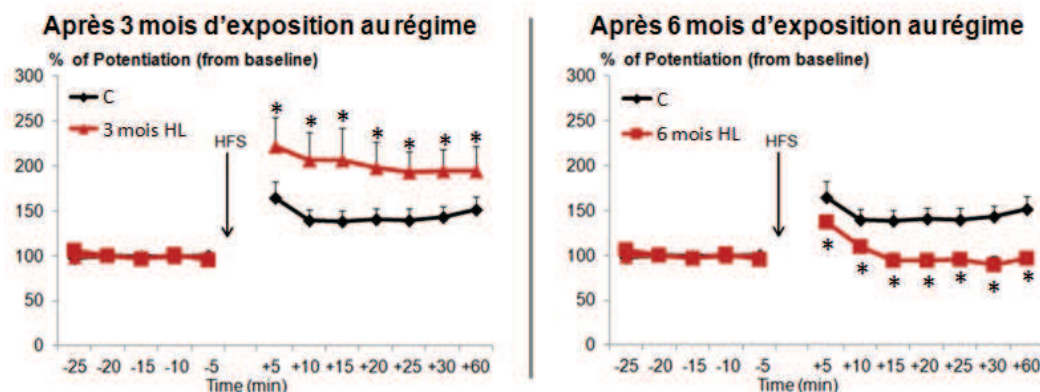


Figure 15 : Potentialisation à long terme dans l'hippocampe, après stimulation du cortex entorhinal (stimulation haute fréquence : 100 pulses à 200Hz) après 3 mois (gauche) ou 6 mois (droite) de régime HL.

Nous pensons qu'il serait intéressant d'évaluer la PLT dans le DG chez nos animaux. En effet, la diminution de la neurogenèse du DG est corrélée avec une diminution de la PLT dans cette région, mais pas dans le CA1 (Garthe *et al.*, 2009; Massa *et al.*, 2011; Snyder *et al.*, 2001). Ainsi, nous proposons que la diminution de neurogenèse induite par la consommation de régime HL se traduise par une perturbation précoce de la PLT dans le DG, et par la mise en place d'un phénomène compensatoire d'augmentation de la PLT dans le CA1. Ce phénomène ne permettrait pas de sauvegarder l'intégrité de la mémoire dépendante de l'hippocampe, les effets mnésiques étant visibles dès 1-2 mois d'exposition au régime HL débutant au sevrage. Puis la diminution de la PLT dans le CA1 se mettrait en place, participant à l'aggravation des troubles de la fonction hippocampique.

L'inflammation, un mécanisme potentiel des effets du régime HL

Si la diminution de neurogenèse et les perturbations de la plasticité synaptique sous-tendent certainement l'apparition des déficits de la mémoire hippocampique, reste à comprendre **comment la consommation d'un régime HL peut engendrer ces déficits des fonctions hippocampiques**. Dans des modèles non-obèses, le lien entre neuro-inflammation et perturbations de la fonction hippocampique a clairement été mis en évidence. Ainsi, l'augmentation d'IL-1 β dans l'hippocampe a pu être relié à une diminution de la neurogenèse hippocampique (Goshen *et al.*, 2008), mais aussi à une diminution de la PLT dans le CA1, le CA3 et le DG (Bellinger *et al.*, 1993; Katsuki *et al.*, 1990; O'Connor & Coogan, 1999; Yirmiya & Goshen, 2011), potentiellement via une perturbation de la synthèse et de l'action de BDNF et de CREB (Tong *et al.*, 2012). Enfin, des taux supra-physiologiques d'IL-1 β

perturbent les mémoires impliquant l'hippocampe, et notamment la phase de consolidation mnésique (Goshen *et al.*, 2007; Hein *et al.*, 2010; Rachal Pugh *et al.*, 2001).

Or, l'obésité est une situation d'inflammation chronique à bas bruit, au niveau périphérique ayant comme origine les adipocytes et le microbiote (Clement *et al.*, 2004; Cottam *et al.*, 2004; Everard & Cani, 2013). Au niveau cérébral, la consommation de régimes HL engendre une augmentation de la perméabilité de la BHE (Davidson *et al.*, 2013; Davidson *et al.*, 2012; Kanoski & Davidson, 2010). L'entrée de cytokines périphériques et l'infiltration de macrophages en provenance de la périphérie dans les organes circum-ventriculaires est alors facilitée, ce qui se traduit par une augmentation des taux de cytokines pro-inflammatoires et/ou de l'activation microgliale dans le cerveau et particulièrement dans l'hippocampe (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). Cela se traduirait par un 'priming microglial', ou sensibilisation, rendant la microglie plus réactive aux futures stimulations immunitaires. Dans nos conditions, nous ne retrouvons pas la neuro-inflammation basale décrite dans ces études, probablement car ces études utilisent soit des modèles d'obésité génétique (Dinel *et al.*, 2011) soit un régime HL plus riche en lipides que le nôtre (Pistell *et al.*, 2010; Thirumangalakudi *et al.*, 2008). Il est vraisemblable que dans notre cas, la consommation de régime HL à l'adolescence engendre un 'priming microglial' au niveau de l'hippocampe. La réponse inflammatoire suite à une stimulation physiologique ou pathologique du système immunitaire serait ainsi potentialisée, se traduisant par une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires, en particulier l'IL-1 β (Article 2). Néanmoins induire une diminution de la neurogenèse, voire de la plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe par cette neuro-inflammation suppose que les animaux soumis au régime HL à l'adolescence soient exposés très régulièrement à une augmentation de cytokines pro-inflammatoires. Il apparaît que l'ingestion d'un repas riche en lipides saturés (similaire au régime HL) est suivit d'une augmentation transitoire des taux de cytokines pro-inflammatoires plasmatiques chez des rats non-obèses (Magne *et al.*, 2010). Il serait donc intéressant d'évaluer si nos animaux présentent cette inflammation transitoire après avoir consommé le régime HL, et si cette inflammation périphérique engendre une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires au niveau de l'hippocampe. En effet, si la consommation du régime HL induit une élévation transitoire, mais répétée de la neuro-inflammation, cela pourrait sous-tendre les perturbations cellulaires et synaptiques observées dans l'hippocampe de ces animaux.

La potentialisation de la réponse inflammatoire hippocampique (après LPS ou flexibilité spatiale) est retrouvée uniquement chez les animaux qui présentent des déficits mnésiques spatiaux (ceux soumis au régime HL à l'adolescence). Cette potentialisation de la réponse inflammatoire (après LPS) n'est pas retrouvée chez les adultes, qui ne présentent pas de déficits cognitifs majeurs. Ce lien entre neuro-inflammation et déficits mnésiques a déjà été proposé dans des cas d'obésité génétique ou suite à la consommation de régimes HL plus riches en lipides que le nôtre (Dinel *et al.*, 2011; Pistell *et al.*, 2010). Nous suggérons donc que ces déficits de mémoire sont directement liés à l'inflammation hippocampique. Néanmoins notre démonstration d'un rôle causal *via* l'injection de LPS dans l'épreuve de flexibilité mnésique spatiale n'a pas été très concluante. Compte-tenu du retard d'acquisition et de la libération plus importante d'IL-1 β au niveau hippocampique lors d'une épreuve de flexibilité spatiale chez les rats soumis au régime HL à l'adolescence, il serait certainement plus approprié d'évaluer le rôle causal de l'inflammation hippocampique en bloquant localement cette cytokine. Nous pourrions par exemple évaluer si l'infusion d'IL-1ra (récepteur leurre endogène de l'IL-1 β) chez ces animaux améliore leurs performances spatiales.

Enfin, il apparaît que les taux de glucose et de triglycérides peuvent moduler la fonction hippocampique (Stranahan *et al.*, 2008a). L'insuline, la leptine et la ghréline, par leur actions sur leur récepteurs hippocampiques, modulent également les mémoires dépendantes de cette structure (Diano *et al.*, 2006; Harvey, 2007; McNay *et al.*, 2010). Or les régimes HL influent sur les niveaux de ces hormones et la sensibilité de leurs récepteurs (Hwang *et al.*, 2010; Myers *et al.*, 2010; Pathan *et al.*, 2008; Tschop *et al.*, 2001). Cependant, dans nos conditions, nous ne mettons pas en évidence de dérégulations des taux de glucose, de triglycéride, d'insuline et de leptine de manière spécifique chez les adolescents suite à la consommation de régimes HL (articles 1 et 2), ni de différence de sensibilité à l'insuline et au glucose (données non-publiées). En revanche, nous n'avons pas mesuré les taux de ghréline, ni la sensibilité des récepteurs hippocampiques à l'ensemble de ces acteurs métaboliques. De plus, il est possible qu'une même élévation de ces facteurs puisse impacter l'hippocampe immature des animaux à l'adolescence, tout en étant sans conséquences sur l'hippocampe mature de l'adulte. Il est également important de mentionner que la dérégulation de l'axe HPA peut également participer aux déficits hippocampiques induits par le régime HL pendant l'adolescence. Nous reviendrons sur ce point lors de la proposition d'un schéma général englobant les conséquences du régime HL sur la mémoire hippocampique et amygdalienne.

Pour conclure, nous proposons le schéma suivant (voir Figure 16). L'exposition au régime HL engendrerait une inflammation chronique périphérique à bas bruit ainsi qu'une augmentation de la perméabilité de la BHE. Ceci favoriserait l'entrée de cytokines périphériques et l'infiltration de macrophages en premier lieu au niveau de l'hippocampe, et se traduirait par un 'priming microglial' dans cette structure, chez les animaux adolescents, compte-tenu de l'immatunité de l'hippocampe et d'une potentielle plus grande fragilité de la BHE à ce stade (Stolp *et al.*, 2005). La réponse inflammatoire au niveau de l'hippocampe serait donc augmentée suite à une stimulation physiologique ou pathologique (Article 2). La libération accrue et répétée de cytokines pro-inflammatoires, en particulier l'IL-1 β , diminuerait alors la neurogenèse hippocampique (Article 1) et affecterait la plasticité synaptique (données non publiées) induisant des perturbations de la consolidation et de la flexibilité de la mémoire spatiale (Article 1 et 2). L'ensemble de ces phénomènes pourraient également apparaître après une exposition au régime HL à l'âge adulte mais prendraient plus de temps à se mettre en place, compte-tenu de la maturité de l'hippocampe voire de la BHE. Il serait intéressant de mieux comprendre pourquoi l'hippocampe immature est plus sensible à la neuro-inflammation, notamment en investiguant la perméabilité de la BHE chez les jeunes animaux.

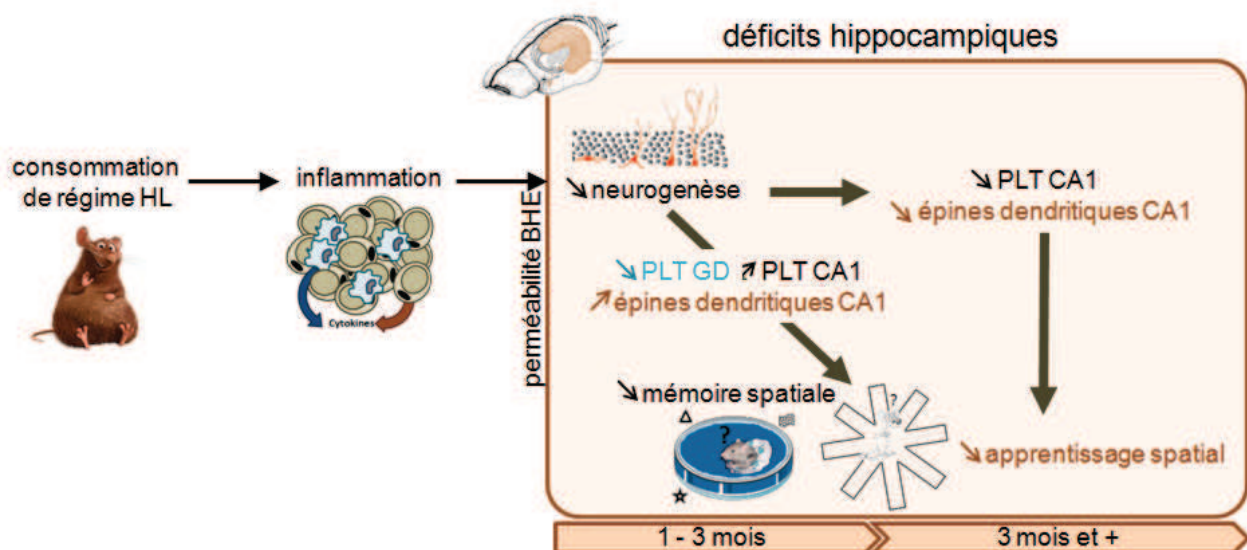


Figure I6 : Effets du régime HL sur la fonction hippocampique, hypothèse inflammatoire et décours temporel. Les déficits hippocampiques annotés sont obtenus dans nos conditions (en noir), proposés par la littérature (en marron) ou par notre hypothèse de travail (en bleu).

Altérations amygdaliennes et mécanismes impliqués

Le 2^{ème} chapitre de cette thèse concerne la mise en évidence d'une exacerbation de la fonction amygdalienne, au niveau cellulaire, synaptique et comportemental, liée à une dérégulation de l'axe HPA suite à la consommation du régime HL à l'adolescence.

Effets du régime HL sur les mémoires aversives

Au niveau cognitif, les mémoires émotionnelles impliquant l'amygdale sont peu étudiées dans le cadre de l'obésité. Dans nos conditions, nous trouvons une exacerbation de la mémoire à long terme de l'AOC si la consommation du régime HL a lieu à l'adolescence mais pas à l'âge adulte. Des études précédentes, portant sur des modèles génétiques d'obésité, démontrent une exacerbation de la mémoire à long-terme de l'AGC, une tâche très proche de l'AOC (Ohta *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 1993). Il est intéressant de noter que la prise de poids a lieu très rapidement après le sevrage dans ces modèles génétiques d'obésité, rejoignant l'idée d'une vulnérabilité plus importante des périodes développementales précoces aux effets de l'obésité. Ainsi, **la prise de poids précoce semble être un facteur prédisposant à l'exacerbation des mémoires aversives**. Néanmoins, il est possible que la consommation de régime HL *per se* puisse aussi sous-tendre l'apparition de cette exacerbation. Pour différencier les effets de la consommation du régime HL de ceux de la prise de poids, il serait intéressant d'effectuer une AOC sur des animaux ayant accès au régime HL de manière restreinte, de sorte que leur poids soit apparié à celui des animaux C (animaux 'pair fed').

Nous avons ensuite investigué une autre mémoire aversive impliquant fortement l'amygdale : la mémoire du conditionnement de peur au son. Dans nos conditions, nous retrouvons une exacerbation de cette mémoire suite à la consommation du régime HL à l'adolescence, mais pas à l'âge adulte. Si nos résultats chez l'adulte rejoignent ceux obtenus dans une autre étude (chez la souris, pas d'effet du régime HL donné à l'âge adulte sur le conditionnement de peur au son, Heyward *et al.*, 2012). Ils semblent toutefois contradictoires avec 2 autres études qui obtiennent des perturbations du conditionnement de peur suite à la consommation précoce de régime HL (Hwang *et al.*, 2010; Yamada-Goto *et al.*, 2012). Une importante différence de procédure pourrait expliquer cette contradiction. Dans notre étude le conditionnement induit une forte réponse de peur au son et une absence de réponse au contexte (~60% de réponse au son versus 10% de réponse au contexte chez les rats contrôles). Dans les 2 autres études, soit le conditionnement est contextuel (Hwang *et al.*, 2010), soit la procédure favorise un fort conditionnement au contexte (~90% de *freezing* au contexte, Yamada-Goto *et al.*, 2012). Le

conditionnement de peur au contexte impliquant l'hippocampe (Huff & Rudy, 2004; Maren, 2008) il est vraisemblable que la perturbation du conditionnement au contexte mise en évidence dans ces études soit à relier à la perturbation du fonctionnement de l'hippocampe induite par la consommation de régimes HL plus qu'à ses effets sur l'amygdale. L'utilisation de paradigmes de conditionnement de peur jouant sur la dominance du son par rapport au contexte et inversement permettrait de mettre cela en évidence (Desmedt *et al.*, 1999 Calandreau *et al.*, 2010). Ainsi nous faisons l'hypothèse que la consommation de régimes HL pendant l'adolescence exacerbe le conditionnement où le son prédomine tout en perturbant celui où le contexte prédomine.

Nous souhaitons néanmoins attirer l'attention du lecteur sur le fait que si le *freezing* est un comportement typiquement mesuré pour évaluer la rétention du conditionnement de peur (Fanselow, 1980), d'autres réponses comportementales sont observables dans ces situations (Metna-Laurent *et al.*, 2012). Ainsi, il serait intéressant d'évaluer ces autres comportements lors des tests de rétention afin de s'assurer que nos différences de *freezing* traduisent bien une différence de peur, et non un changement de stratégie comportementale. Enfin, pour poursuivre l'exploration de la fonctionnalité des mémoires dépendantes de l'amygdale, nous pensons qu'il serait intéressant de travailler sur des paradigmes non-aversifs, tels la préférence olfactive conditionnée ou la potentialisation de la prise alimentaire par un stimulus conditionné. Ces mémoires, qui impliquent des associations entre odeur et goût palatable ou son et nourriture,

sont appétitives et reposent sur le BLA (Desgranges *et al.*, 2010 ; Touzani & Sclafani, 2005 ; Holland & Petrovich, 2005). En investiguant ces mémoires, il serait possible de définir si l'exacerbation des mémoires dépendantes de l'amygdale suite à la consommation du régime HL est spécifique d'une composante aversive ou non.

Consolidation et glucocorticoïdes

La consommation de régimes HL lors de l'adolescence exacerbe la mémoire émotionnelle à long terme sans en affecter l'acquisition ni la mémorisation à court terme, suggérant un effet spécifique sur la consolidation de la mémoire. La plasticité synaptique du BLA, évaluée par la PLT, est également augmentée chez ces animaux. On remarque en particulier une persistance plus importante de la PLT 30 à 60 min après la stimulation, c'est-à-dire sur la phase tardive de la PLT, qui dépend, comme la consolidation de la mémoire, de la synthèse protéique (Abraham & Williams, 2008 ; Lynch *et al.*, 2007). La consolidation de la mémoire émotionnelle ainsi que la PLT dans le BLA sont exacerbées en situation de stress via l'action

des GC sur les GR du BLA chez des animaux non-obèses (Sarabdjitsingh *et al.*, 2012 ; Miranda *et al.*, 2008 ; Roozendaal *et al.*, 2009). Or la consommation de régimes HL est liée à des modifications de la libération de GC suite à un stress (Tannenbaum *et al.*, 1997 ; Sharma & Fulton, 2013). Nous avons donc exploré la réactivité de l'axe HPA en réponse à un stress dans nos conditions. Nous mettons en évidence, lorsque le régime HL est consommé à l'adolescence, que la libération de GC suite à un stress est prolongée et corrélée à une activation cellulaire plus forte du BLA (c-Fos et Egr-1). L'infusion d'un antagoniste des GR dans le BLA bloque la plus forte aversion des animaux sous régime HL, indiquant que l'action prolongée des GC au sein du BLA favorise la consolidation de cette mémoire aversive. De même, la plus forte LTP mise en évidence dans le BLA des animaux sous régime HL à l'adolescence est annulée par l'infusion d'un antagoniste des GR. Nous mettons donc en évidence que **l'exacerbation de la fonction amygdalienne suite à la consommation de régimes HL pendant l'adolescence passerait par une activation plus importante des GR.**

Nous pensons que cette sur-activation des GR est induite par la sécrétion prolongée des GC suite au stress. La prolongation de la sécrétion de GC par l'axe HPA peut témoigner d'un problème de rétrocontrôle. D'une manière intéressante, ce rétrocontrôle se mettant en place à l'adolescence (McCormick & Mathews, 2007), il est possible que la vulnérabilité de la période adolescente aux effets des régimes HL sur l'axe HPA et sur la fonction amygdalienne soit due à une **perturbation de la maturation du rétrocontrôle négatif**. La fonctionnalité de ce rétrocontrôle peut-être investiguée par le test de suppression à la dexaméthasone (Slamberova *et al.*, 2004). Le rétrocontrôle périphérique de l'axe (investigué suite à une injection périphérique de dexaméthasone) n'est pas modifié chez les animaux soumis au régime HL (données non publiées). En revanche, il reste maintenant à investiguer le rétrocontrôle central de l'axe HPA, notamment en infusant la dexaméthasone au niveau de l'hippocampe des animaux.

Médiateurs des effets des GC au niveau cellulaire

Au niveau du BLA, il reste maintenant à déterminer quels sont les autres acteurs participant aux effets de l'activation des GR. Deux autres médiateurs pourraient intervenir dans l'exacerbation de la fonction amygdalienne des animaux HL. Le premier est la noradrénaline, dont le rôle sur la consolidation de la mémoire aversive, et notamment dans l'AOC (Miranda *et al.*, 2007; Roozendaal *et al.*, 2009), mais aussi sur la PLT dans le BLA (Tully *et al.*, 2007) est clairement démontré. Un autre médiateur intéressant serait les endocannabinoïdes. En effet, au sein du BLA, l'effet promnésiant des GC passerait par

l'activation des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1 ; Campolongo *et al.*, 2009; pour revue : Atsak *et al.*, 2012; voir Figure 17). De façon intéressante, l'obésité est liée à une augmentation des taux d'endocannabinoïdes chez l'Homme, sans que les CB1 ne soient désensibilisés (Engeli, 2008). Chez l'animal, la consommation de régimes HL engendre une augmentation des niveaux d'endocannabinoïdes et de CB1 hippocampiques mais ces taux ne sont pas affectés au niveau amygdalien (Massa *et al.*, 2010; Rojo *et al.*, 2013). Néanmoins ces études ont commencé l'exposition au régime HL à l'âge adulte, et il serait intéressant au vu de nos résultats d'investiguer les taux et la fonctionnalité des CB1 hippocampiques et amygdaliens après l'exposition au régime HL à l'adolescence.

Enfin il nous semble intéressant de mentionner que les GC libérés lors d'un apprentissage stressant vont moduler l'expression des récepteurs AMPA au niveau synaptique, ce qui va sous-tendre l'exacerbation de la consolidation mnésique (Conboy & Sandi, 2010; Sandi, 2011) et de la PLT dans le BLA (Sah *et al.*, 2008). Les effets de la consommation du régime HL pendant l'adolescence sur l'expression des récepteurs AMPA du BLA restent à démontrer.

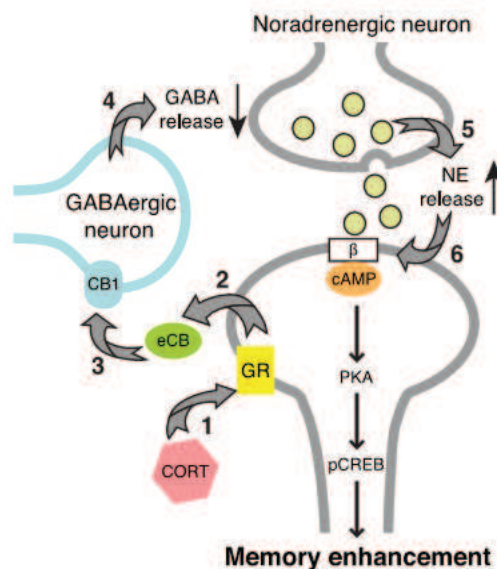


Figure 17 : Schéma représentant le rôle des récepteurs CB1 dans les effets promnésiants des GC. (Schéma tiré de la revue d'Atsak, *et al.*, 2012)

Vers un schéma général des effets du régime HL

Nous allons maintenant proposer un modèle général des effets du régime HL consommé à l'adolescence sur les systèmes de mémoire hippocampiques et amygdaliens que nous avons étudiés. Voici les points qui nous semblent importants de souligner : 1) l'effet bidirectionnel du régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale, 2) l'effet temporel différent sur l'hippocampe et l'amygdale et enfin 3) l'effet sur les interactions entre ces 2 systèmes.

Effet bidirectionnel du régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale

L'exposition à un régime HL à l'adolescence n'induit pas de perturbations générales des fonctions mnésiques, mais des effets bidirectionnels, avec d'un côté une diminution de la plasticité et de la mémoire hippocampique, et de l'autre une exacerbation de la plasticité et de la mémoire amygdalienne. Ce pattern bidirectionnel est décrit dans la littérature dans certaines conditions particulières, telles le stress chronique (pour revue : Lupien *et al.*, 2009; Sandi & Pinelo-Nava, 2007; Sapolsky, 2003), mais également le vieillissement normal (Lister & Barnes, 2009; Misanin *et al.*, 2002) ou pathologique (modèles de la maladie d'Alzheimer, Espana *et al.*, 2010).

Dans toutes ces conditions, comme dans l'obésité, nous notons une dérégulation chronique de l'axe HPA, se traduisant par une libération prolongée de GC lors d'un stress (stress chronique : Sandi & Pinelo-Nava, 2007; vieillissement : Lupien *et al.*, 1998; Sapolsky *et al.*, 1986; Alzheimer : Brureau *et al.*, 2013B ; Elgh *et al.*, 2006), mais aussi une neuro-inflammation chronique à bas bruit (stress chronique : Goshen *et al.*, 2008; Voorhees *et al.*, 2013; vieillissement : Bilbo *et al.*, 2012; Sardi *et al.*, 2011 ; Alzheimer : Bettcher & Kramer, 2013) ainsi qu'une altération de la BHE, qui faciliterait l'action de ces facteurs au niveau cérébral (Marques *et al.*, 2013; Northrop & Yamamoto, 2012 Gosselet *et al.*, 2013; Sardi *et al.*, 2011). De manière générale, si les conséquences de l'exposition transitoire aux GC sont favorables aux processus mnésiques dépendant de l'hippocampe et de l'amygdale, l'exposition prolongée aux GC module de façon bidirectionnelle ces systèmes, perturbant l'hippocampe et exacerbant la fonction amygdalienne (pour revue : Sandi & Pinelo-Nava, 2007; Sapolsky, 2003). Concernant l'inflammation, il est clairement établi qu'elle peut être favorable pour la plasticité et la mémoire lorsqu'elle est transitoire, mais devient délétère pour l'hippocampe lorsqu'elle est chronique (pour revue : Yirmiya & Goshen, 2011). On peut toutefois noter que très peu d'études ont investigué les effets de l'inflammation sur la fonction amygdalienne.

Néanmoins, il semblerait qu'une inflammation périphérique modifie la plasticité amygdalienne (Engler *et al.*, 2011).

Ainsi, il apparaît que les effets bidirectionnels sur les mémoires hippocampiques et amygdaliennes observés suite à l'exposition au régime HL à l'adolescence sont similaires à ceux mis en évidence dans d'autres situations (stress chronique et vieillissement normal ou pathologique), dans lesquelles des perturbations de la sécrétion de GC et de la neuro-inflammation sont décrites. L'ensemble de ces données souligne le rôle important de ces deux médiateurs dans ces phénomènes. Il est important de noter que les GC et les cytokines vont particulièrement moduler la mémoire à long-terme et le processus de consolidation. Par exemple, les GC vont favoriser la consolidation de la mémoire émotionnelle dépendante de l'amygdale (Miranda *et al.*, 2008; Roozendaal *et al.*, 2009) et perturber l'expression de la mémoire à long-terme hippocampique (de Quervain *et al.*, 1998; de Quervain *et al.*, 2000; Roozendaal *et al.*, 2004). De même des taux supra-physiologiques de cytokines perturbent la consolidation des mémoires impliquant l'hippocampe (Goshen *et al.*, 2007; Hein *et al.*, 2010; Rachal Pugh *et al.*, 2001). Dans les deux systèmes de mémoire que nous avons investigué, nous mettons en évidence que le régime HL lors de l'adolescence induit des altérations spécifiques de la mémoire à long terme (sans effet sur la mémoire à court terme). Nous montrons clairement l'importance des GC dans l'exacerbation de la mémoire à long terme amygdalienne et nous suggérons un rôle des cytokines dans les perturbations de mémoires à long-terme hippocampique. Il reste à identifier le rôle joué par les GC dans les déficits hippocampiques.

Effet sur les interactions entre les 2 systèmes.

De nombreuses données indiquent des interactions entre hippocampe et amygdale au niveau anatomique et fonctionnel. On peut donc se demander si dans nos conditions l'exacerbation de la mémoire amygdalienne et les perturbations de la mémoire hippocampique sont liées. En effet, chez des souris modèles d'Alzheimer, l'augmentation des performances de la mémoire émotionnelle est directement corrélée à la diminution des performances de mémoire spatiale (España *et al.*, 2010).

Chez nos animaux, la plus forte mémoire amygdalienne pourrait donc participer aux perturbations de la mémoire hippocampique. Des lésions de l'amygdale favorisent les stratégies d'apprentissage spatial (Kim *et al.*, 2001) suggérant qu'une sur-activation de l'amygdale est délétère pour les apprentissages et la mémoire spatiale. En conditions

stressantes, l'activation du BLA module l'implication relative des différents systèmes de mémoire au détriment de la mémoire spatiale hippocampique, notamment en redirigeant le choix d'une stratégie spatiale (impliquant l'hippocampe) vers une stratégie de type habitude (sous-tendue par le striatum, Goodman *et al.*, 2012). Pour finir, les effets délétères des GC sur la mémoire hippocampique sont annulés par la lésion du BLA (Roosendaal *et al.*, 2003; Roosendaal *et al.*, 2004), indiquant que la modulation de l'hippocampe par le BLA sous-tend ces effets. Dans nos conditions, il faudrait donc évaluer si la lésion du BLA lors de l'adolescence empêcherait les perturbations de mémoire spatiale par le régime HL.

Les perturbations de la mémoire hippocampique pourraient également participer à la plus forte mémoire amygdalienne chez nos animaux. En effet, des lésions hippocampiques facilitent l'acquisition de stratégies dépendantes de l'amygdale (McDonald & White, 1993). De même, dans des paradigmes de conditionnement de peur jouant sur la compétition entre son et contexte, des perturbations de la fonction hippocampique favorisent un conditionnement élémentaire impliquant l'amygdale au détriment du conditionnement au contexte (Calandreau *et al.*, 2010; Desmedt *et al.*, 1999; Kaouane *et al.*, 2012). De façon similaire, il a été démontré que l'inactivation de l'hippocampe augmente la mémoire aversive (AGC : Stone *et al.*, 2005). Il serait donc intéressant d'évaluer si la lésion de l'hippocampe participe à l'exacerbation de la mémoire amygdalienne chez nos animaux.

Effet temporel du régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale

Nous mettons en évidence des déficits de la mémoire hippocampique après 1 à 2 mois d'exposition au régime HL alors qu'il faut attendre 3 mois d'exposition pour voir apparaître des effets sur la mémoire dépendante de l'amygdale.

Ceci suggère que l'hippocampe est particulièrement sensible au régime HL. Cela peut s'expliquer par les effets du régime HL sur la perméabilité de la BHE, proche de l'hippocampe (Davidson *et al.*, 2013; Davidson *et al.*, 2012), mais aussi par le fait que l'hippocampe est très immature au sevrage (Spear, 2000) et que la neurogenèse y est importante pendant l'adolescence (Cushman *et al.*, 2012). Des études montrent en effet que la neurogenèse est diminuée dès 1 mois de régime HL (Hwang *et al.*, 2008; Lindqvist *et al.*, 2006), ce qui pourrait sous-tendre des effets rapides du régime HL sur la dérégulation du fonctionnement hippocampique. Enfin, il est à mentionner que l'inflammation cérébrale décrite dès 3 à 4 jours d'exposition au régime HL (Ji *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2011; Wiedemann *et al.*, 2013) pourrait impacter la neurogenèse hippocampique (Ekdahl *et al.*,

2009; Goshen *et al.*, 2008). Il serait donc intéressant d'évaluer, dans nos conditions, si des modifications de la neuro-inflammation hippocampique sont observables de manière précoce et reliées à la diminution de neurogenèse.

Les effets du régime HL sur l'amygdale apparaissent de manière plus tardive (après 3 mois d'exposition), le fonctionnement de l'amygdale, au moins au niveau mnésique, étant préservé après 1.5 mois d'exposition au régime.

Nous mettons en évidence que le régime HL perturbe le fonctionnement de l'axe HPA, probablement en altérant son rétrocontrôle. De plus, nous démontrons que les effets du régime HL sur l'amygdale dépendent de cette dérégulation de l'axe HPA. Les perturbations hippocampiques, et notamment la diminution de la neurogenèse, engendrent exactement ce type de dérégulations de l'axe HPA (Herman & Mueller, 2006; Snyder *et al.*, 2005). Compte-tenu que l'inflammation peut également induire des perturbations de l'axe HPA (Makhija & Karunakaran, 2013; Silverman & Sternberg, 2008), il est possible que dans nos conditions, l'inflammation combinée à la diminution de la neurogenèse hippocampique altère le rétrocontrôle de l'axe HPA, qui en conséquence affecterait la fonction amygdalienne. Il serait donc intéressant de suivre en parallèle la réactivité inflammatoire, la neurogenèse hippocampique, et la réponse de l'axe HPA après l'exposition au régime HL afin de mieux comprendre la chronologie de ces événements.

Néanmoins, dans nos conditions, l'exposition au régime HL n'induit pas d'inflammation périphérique quantifiable. Nous pensons en réalité qu'il est possible que cette inflammation apparaisse de façon précoce et transitoire comme rapporté dans la littérature. Il serait donc instructif d'investiguer la réponse inflammatoire basale et induite de manière très précoce, suite à la mise sous régime. Enfin, comme nous faisons l'hypothèse que cette inflammation est à la base des différents effets du régime HL, il serait primordial de bloquer les effets des cytokines afin de voir si cela restaure l'ensemble des autres perturbations engendrées par le régime HL.

Schéma général

Nous proposons un schéma synthétique général présentant les conséquences de la consommation d'un régime HL à l'adolescence (Figure 18). Suite à la consommation du régime HL, une inflammation périphérique à bas bruit se met en place. Cette inflammation va engendrer une augmentation de la perméabilité de la BHE et un 'priming microglial' au niveau hippocampique. Cela va sous-tendre la diminution de la neurogenèse puis la perturbation de la mémoire spatiale/relationnelle. Cette inflammation et la diminution de la neurogenèse hippocampique vont déréguler l'axe HPA, et en particulier son rétrocontrôle. La libération prolongée de GC suite à un stress va alors induire une exacerbation de la plasticité et de la mémoire amygdalienne. Enfin, nous ne pouvons pas clôturer ce chapitre proposant la mise en relation des différents effets du régime HL sans évoquer les interactions entre l'hippocampe et l'amygdale. En effet, ces systèmes rentrant en compétition, il est possible que la perturbation précoce du fonctionnement de l'hippocampe participe à l'exacerbation plus tardive des mémoires aversives dépendantes de l'amygdale. Puis, une fois présente, l'exacerbation amygdalienne renforcerait les perturbations hippocampiques. Enfin l'activation de l'axe HPA serait entretenue par la levée de l'inhibition hippocampique et la plus forte activation amygdalienne.

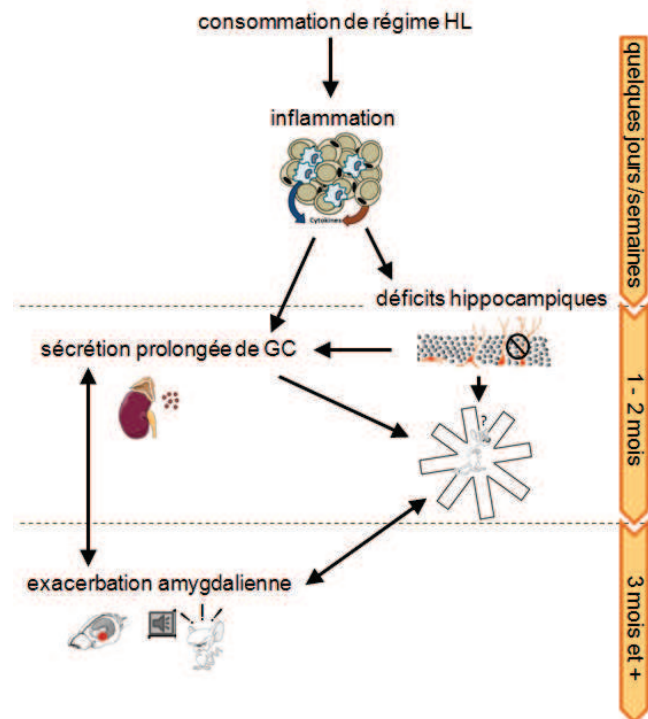


Figure 18 : Schéma hypothétique récapitulatif des effets de l'exposition au régime HL à l'adolescence mis en évidence par nos travaux. Mécanismes et interactions entre les différentes composantes proposés par notre hypothèse de travail.

Conclusion et résumé des principales perspectives

Au début de ces travaux de thèse, aucune étude n'avait évalué l'existence d'une spécificité de la période adolescente aux effets des régimes HL sur la cognition. Nous avons mis en évidence **la grande vulnérabilité de la période adolescente aux effets des régimes HL sur le fonctionnement de deux systèmes fonctionnels, l'hippocampe et l'amygdale.**

De plus, il apparait que les effets du régime HL sur ces systèmes sont bidirectionnels, avec d'un coté une diminution de la fonction hippocampique, et de l'autre une exacerbation de la fonction amygdalienne. Néanmoins, nous souhaitons attirer l'attention du lecteur sur le fait qu'en aucun cas nous ne considérons que l'exacerbation de la fonction amygdalienne soit bénéfique. A l'inverse, nous pensons que cette dérégulation bidirectionnelle des systèmes hippocampiques et amygdaliens se traduit par une mal-adaptation délétère pour l'organisme. En effet la dérégulation de la balance entre ces 2 systèmes de mémoire sous-tend l'apparition de mémoires non-adaptées, comme celles qui apparaissent suite à un stress post-traumatique (Kaouane *et al.*, 2012), avec une exacerbation des mémoires élémentaires dépendantes de l'amygdale au dépend des mémoires contextualisées dépendantes de l'hippocampe.

Etant donnée l'augmentation critique du nombre d'enfants et d'adolescents en situation d'obésité, nos résultats attirent l'attention sur les conséquences désastreuses qu'une telle pandémie peut avoir sur le développement neurocognitif des individus. Il serait donc important d'évaluer si ces altérations sont figées chez l'individu, ou si ces changements sont réversibles lorsqu'un régime alimentaire adéquat est proposé. Enfin, il nous paraît indispensable d'élargir l'investigation des effets de l'obésité à d'autres systèmes cognitifs que ceux dépendants de l'hippocampe et l'amygdale. Ainsi il serait par exemple intéressant d'évaluer les effets de régimes obésogènes consommés pendant l'adolescence sur les interactions fronto-striatales et sur les fonctions qui en dépendent (motivation, mémoire procédurale, actions dirigées vers un but...) dont on sait qu'elles se mettent en place à l'adolescence (Spear, 2013). Ceci nous permettrait d'avoir une meilleure vue d'ensemble des effets des régimes obésogènes consommés pendant l'adolescence sur la cognition.

Laboratoire d'accueil et collaborations

Cette thèse a été effectuée au laboratoire 'Nutrition et Neurobiologie Intégrée' (NutriNeuro, INRA UMR 1286 - Université de Bordeaux 2), dans l'équipe 'Psychoneuroimmunologie et Nutrition: Approches expérimentales et cliniques' dirigée par le Dr. Sophie Layé. Ce travail a été conduit sous l'encadrement du Dr. Guillaume Ferreira.



Ces travaux ont été financés par une bourse de thèse en provenance du fond AXA pour la recherche d'octobre 2010 à septembre 2013 (International Doctoral Fellowship), puis par une bourse de soudure du LabEx BRAIN de septembre 2013 à juillet 2014.



Enfin, certains aspects de ce travail de thèse ont été réalisés en étroite collaboration avec des personnes externes au laboratoire NutriNeuro :

- Mémoire relationnelle : A. Marighetto (Magendie, Bordeaux)
- Conditionnement instrumental: E. Coutureau, F. Naneix et A. Marchand (INCIA)
- Conditionnement de peur : E. Coutureau et A. Marchand (INCIA, Bordeaux)
- Neurogenèse: S. Tronel (Magendie, Bordeaux)
- Plasticité synaptique : R.M. Voiumba (INCIA, Bordeaux) et M. Maroun (Haifa, Israel)

Liste des Publications

- Boitard C**, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, Layé S & Ferreira G (2012). Juvenile, but not adult, exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22(11):2095-100.
- Boitard C**, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Layé S & Ferreira G. Impairment of Hippocampal-dependent Memory Induced by Juvenile High-Fat Diet Intake is Associated with Enhanced Hippocampal Inflammation in Rats. *Brain Behavior and Immunity*, En soumission.
- Boitard C**, Maroun M, Tantot F, Cavaroc A, Sauvant J, Coutureau E, Marchand A, Capuron L, Castanon N, Darnaudéry M, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G. Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. En preparation
- Boitard C**, Cavaroc A, Sauvant J, Layé S & Ferreira G. Shifting from juvenile high fat diet to control diet at adulthood restores memory dysregulations : possible mechanisms. En preparation
- Tantot F, **Boitard C**, Naneix F, De Smedt-Peyrusse V, Pape JR, Marchand A, Layé S, Coutureau E & Ferreira G. Effects of early high-fat diet on dopamine systems: behavioral evidence and potential role of glucocorticoids. En préparation

Communications orales

- Boitard C**. Modulation of memory by early high-fat diet consumption. 5^{ème} Symposium Nutrition & Neurosciences, Neurocentre Magendie, Bordeaux, France, 2 avril 2012.
- Boitard C**. L'adolescence : periode de vulnérabilité de certaines mémoires aux effets des régimes hyperlipidiques. GDR NeuroMem, Cargèse, France, 20-23 Mars 2012.

Présentations affichées

- Boitard C**, Maroun M, Tantot F, Cavaroc A, Sauvant J, Castanon N, Darnaudéry M, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2013). Juvenile high-fat diet consumption enhances amygdala plasticity and emotional memory: involvement of HPA axis dysregulation. Société Française des Neurosciences (Lyon, France, 22-24 Mai).
- Tantot F, **Boitard C**, Naneix F, De Smedt-Peyrusse V, Pape JR, Marchand A, Layé S, Coutureau E & Ferreira G (2013) Effect of early high-fat diet on dopamine systems : behavioral evidence and potential role of glucocorticoids. Société Française des Neurosciences (Lyon, France, 22-24 Mai).
- Boitard C**, Maroun M, Marchand A, Coutureau E, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2012). Modulation of memory and plasticity by early high-fat diet consumption: bidirectional effects on hippocampus and amygdala. *Frontiers in Stress and Cognition* (Ascona, Suisse, 23-26 Septembre).

- Boitard C**, Maroun M, Marchand A, Coutureau E, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2012). Modulation of memory and plasticity by early high-fat diet consumption: bidirectional effects on hippocampus and amygdala. Federation of European Neuroscience Societies (Barcelone, Espagne, 14-18 Juillet).
- Ferreira G, **Boitard C**, Naneix F, Dausse M, Marchand A, Layé S & Coutureau E (2012). Differential effect of early high-fat diet on mesocortical and mesolimbic dopamine systems: behavioral evidence. Federation of European Neuroscience Societies (Barcelone, Espagne, 14-18 Juillet).
- Boitard C**, Maroun M, Marchand A, Coutureau E, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2012). Modulation of memory and plasticity by early high fat diet consumption: bidirectional effects on hippocampus and amygdala. Journées SFR Bordeaux Neurosciences (Bordeaux, France, 29 Mai).
- Boitard C**, Maroun M, Marchand A, Coutureau E, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2012). Modulation of memory and plasticity by early high fat diet consumption: bidirectional effects on hippocampus and amygdala. 12ème journée scientifique de l'école doctorale science de la vie et de la santé (Arcachon, France, 28 mars).
- Boitard C**, Maroun M, Marchand A, Coutureau E, Layé S, Vouimba RM & Ferreira G (2012). Modulation of memory and plasticity by early high fat diet consumption: bidirectional effects on hippocampus and amygdala. GDR NeuroMem (Cargèse, France, 20-23 Mars).
- Boitard C**, Naneix F, Dausse M, Marchand A, Laye S, Coutureau E & Ferreira G (2012). Differential effect of early high-fat diet on mesolimbic and mesocortical dopamine systems: behavioral evidence. GDR NeuroMem (Cargèse, France, 20-23 Mars).
- Ferreira G, **Boitard C**, Gaillard A, Etchamendi N, Aubert A, Castanon N, Marighetto A & Layé S (2011). Consumption of high-fat diet during adolescence is more detrimental than adult consumption for spatial and relational memories. Society for Neuroscience (Washington, USA, 12-16 November).
- Boitard C**, Etchamendi N, Aubert A, Sauviant J, Castanon N, Tronel S, Marighetto A, Layé S & Ferreira G (2011). Consumption of high-fat diet during adolescence is more detrimental than adult consumption for spatial and relational memories. Molecular and Cellular Cognition Society (Washington, USA, 10-11 November).
- Boitard C**, Lopez-Bazan B, Etchamendi N, Sauviant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, Layé S & Ferreira G (2011). Early consumption of high fat diets is more detrimental than adult consumption for spatial relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. European Brain and Behavior Society (Seville, Espagne, 9-12 Septembre).
- Boitard C**, Etchamendi N, Marighetto A, Aubert A, Castanon N, Layé S & Ferreira G (2011). Early consumption of a high-fat diet is more detrimental than adult consumption for spatial and relational memories in rats and mice. Société Française des Neurosciences (Marseille, France, 24-27 Mai).
- Ferreira G, Sauviant J, Tronel S, Layé S & **Boitard C** (2011). Early consumption of high-fat diet enhances odor aversion memory in rats: is it related to hippocampal dysfunction? Société des Neurosciences (Marseille, France, 24-27 Mai).
- Boitard C**, Gaillard A, Etchamendi N, Marighetto A, Aubert A, Castanon N, Layé S & Ferreira G (2011). Early consumption of high-fat diet is more detrimental than consumption at adulthood for spatial memories in rats and mice. Axa talent days (Paris, France, 28-30 Mars).
- Boitard C**, Castanon N, Layé S & Ferreira G (2010). Early high-fat diet impairs spatial memory but enhances conditioned odor aversion in rats. GDR NeuroMem (Oléron, France, 17-19 Mai).

Liste des Abréviations

AGC	aversion gustative conditionnée
AgRP	<i>agouti-related protein</i>
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozol-4-propionate
AMPc	adénosine mono-phosphate cyclique
AOC	aversion olfactive conditionnée
ARNm	acide ribonucléique messenger
AVP	arginine vasopressine
BA	noyau basal de l'amygdale
BDNF	facteur neuro-trophique cérébral (<i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
BHE	barrière hémato-encéphalique
BLA	noyau basolatéral de l'amygdale
BNST	noyaux du lit de la strie terminale (<i>bed nucleus of the stria terminalis</i>)
C	contrôle
CA	corne d'Ammon de l'hippocampe
CB1	récepteurs endocannabinoïdes de type 1
CeA	noyau central de l'amygdale
CPF	cortex préfrontal
CPFm	cortex préfrontal médian
CREB	protéine se fixant aux CRE (<i>C-AMP Response Element-binding protein</i>)
CRH	corticolibérine (<i>corticotropin releasing hormone</i>)
CRP	protéine C-réactive (<i>C-reactive protein</i>)
DCX	doublecortine
DG	gyrus denté (<i>dentate gyrus</i>)
DIO	obésité induite par le régime alimentaire (<i>diet-induced obesity</i>)
EPM	labyrinthe en croix surélevé (<i>elevated plus maze</i>)
FST	test de la nage forcée (<i>forced swimming test</i>)
GABA	acide gamma-aminobutyrique
GC	glucocorticoïdes
GR	récepteur des glucocorticoïdes
HL	hyper-lipidique
HPA	axe corticotrope ou axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (<i>Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis</i>)
IFN	interferon
Il-	interleukine
IMC	indice de masse corporelle
Kcal	calories
LA	noyaux latéral de l'amygdale
LPS	lipopolysaccharide bactérien
LTD	dépression à long terme (<i>long term depression</i>)
LTP	potentialisation à long terme (<i>long term potentiation</i>)
MCP-1	protéine chimio-attractante des monocytes

	<i>(monocyte chemoattractant protein-1)</i>
MeA	noyau médian de l'amygdale
MR	récepteur des minéralocorticoïdes
MWM	piscine de Morris (<i>Morris water maze</i>)
NF-κB	facteur de transcription nucléaire κB (<i>transcription nuclear factor κB</i>)
NMDA	acide N-méthyl-D-aspartique
NPY	neuropeptide Y
NTS	noyau du tractus solitaire
OF	arène ouverte (<i>open field</i>)
OMS	organisation mondiale de la santé
P	jour post-natal
PKA	protéine, la kinase A
POMC	propiomélanocortine
PTSD	post-traumatiques (<i>post-traumatic stress disorder</i>)
PVN	noyaux para-ventriculaire
RTH	ratio taille/hanches
SC	stimulus conditionné (<i>conditioned stimulus</i>)
SI	stimulus inconditionné (<i>unconditioned stimulus</i>)
THC	tetrahydrocannabinol
TLR	récepteur de type toll (<i>toll-like receptor</i>)
TNF	facteur de nécrose tumorale
ZSV	zone sous ventriculaire

Liste des Figures et Tables

Figure 1 : Représentation mondiale du nombre d'adultes obèses.....	18
Figure 2 : Schéma de la régulation de la prise alimentaire.....	21
Tableau 1 : Composition des régimes C et HL.....	29
Figure 3 : Sécrétion d'adipokines et recrutement des macrophages par le tissu adipeux.....	36
Figure 4 : Fonctionnement simplifié de l'axe corticotrope.....	39
Figure 5 : Représentation des interactions entre système inflammatoire et axe HPA.....	45
Figure 6 : Classification des systèmes de mémoire selon Henke.....	51
Figure 7 : L'hippocampe et représentation du circuit tri-synaptique.....	52
Figure 8 : Dispositif du labyrinthe radiaire.....	58
Figure 9 : Dispositif de la piscine de Morris.....	59
Figure 10 : L'amygdale et connexions.....	61
Figure 11 : Paradigme comportemental de conditionnement aversif au choc électrique.....	62
Figure 12 : Paradigme comportemental de conditionnement aversif à l'odeur.....	63
Figure 13 : Synthèse des effets d'une action prolongée des GC sur le cerveau.....	70
Tableau 2 : Synthèse des études sur régime HL et mémoire hippocampique.....	74
Tableau 3 : Synthèse des études sur obésité et conditionnement aversif.....	76
Figure 14 : Les différentes périodes de la vie.....	85
Tableaux 4 et 5 : Bilan des effets du régime HL sur l'hippocampe et l'amygdale.....	159
Figure 15 : PLT dans l'hippocampe suite à l'exposition au régime HL.....	167
Figure 16 : Effets du régime HL sur l'hippocampe, hypothèse inflammatoire.....	170
Figure 17 : Rôle des CB1 dans les effets promnésiants des GC.....	174
Figure 18 : Schéma hypothétique récapitulatif des effets du régime HL.....	175

Références bibliographiques

A

- Abildgaard A, Solskov L, Volke V, Harvey BH, Lund S, Wegener G. 2011. A high-fat diet exacerbates depressive-like behavior in the Flinders Sensitive Line (FSL) rat, a genetic model of depression. *Psychoneuroendocrinology* 36(5):623-33.
- Abraham WC, Williams JM. 2008. LTP maintenance and its protein synthesis-dependence. *Neurobiol Learn Mem* 89(3):260-8.
- Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. 2005. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev* 85(2):523-69.
- Altman J. 1962. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135(3509):1127-8.
- Amaral DG & Witter MP. 1995. Hippocampal formation. In: *The rat nervous system* (Paxinos G, ed), pp 443-493. San Diego, CA: Academic Press.
- Andersen JR, Aasprang A, Bergsholm P, Sletteskog N, Vage V, Natvig GK. 2010. Anxiety and depression in association with morbid obesity: changes with improved physical health after duodenal switch. *Health Qual Life Outcomes* 8:52.
- Andersen SL. 2003. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27(1-2):3-18.
- Anderson SE, Cohen P, Naumova EN, Jacques PF, Must A. 2007. Adolescent obesity and risk for subsequent major depressive disorder and anxiety disorder: prospective evidence. *Psychosom Med* 69(8):740-7.
- Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, Frankland PW. 2011. Posttraining ablation of adult-generated neurons degrades previously acquired memories. *J Neurosci* 31(42):15113-27.
- Artinian J, McGauran AM, De Jaeger X, Mouldous L, Frances B, Rouillet P. 2008. Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J Neurosci* 27(11):3009-19.
- Atsak P, Roozendaal B, Campolongo P. 2012. Role of the endocannabinoid system in regulating glucocorticoid effects on memory for emotional experiences. *Neuroscience* 204:104-16.
- Auvinen HE, Romijn JA, Biermasz NR, Pijl H, Havekes LM, Smit JW, Rensen PC, Pereira AM. 2012. The effects of high fat diet on the basal activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in mice. *J Endocrinol* 214(2):191-7.
- Avital A, Richter-Levin G. 2005. Exposure to juvenile stress exacerbates the behavioural consequences of exposure to stress in the adult rat. *Int J Neuropsychopharmacol* 8(2):163-73.
- Azizi G, Mirshafiey A. 2012. The potential role of proinflammatory and antiinflammatory cytokines in Alzheimer disease pathogenesis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34(6):881-95.

B

- Babb SJ, Crystal JD. 2006. Episodic-like memory in the rat. *Curr Biol* 16(13):1317-21.
- Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(44):15718-23.

- Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. 2007. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(3):979-84.
- Banks WA, Kastin AJ, Broadwell RD. 1995. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation* 2(4):241-8.
- Baskin DG, Figlewicz Lattemann D, Seeley RJ, Woods SC, Porte D, Jr., Schwartz MW. 1999. Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res* 848(1-2):114-23.
- Batchelor BR, Penner J, Hirsh J, Stern JS. 1976. Effects of hypophysectomy and acute growth hormone treatment upon glucose metabolism in adipose tissue and isolated adipocytes of rats. *Hormon-und Stoffwechselforschung* 8: 24-33.
- Baumann H, Gauldie J. 1994. The acute phase response. *Immunol Today* 15(2):74-80.
- Bellinger FP, Madamba S, Siggins GR. 1993. Interleukin 1 beta inhibits synaptic strength and long-term potentiation in the rat CA1 hippocampus. *Brain Res* 628(1-2):227-34.
- Belza A, Toubro S, Stender S, Astrup A. 2009. Effect of diet-induced energy deficit and body fat reduction on high-sensitive CRP and other inflammatory markers in obese subjects. *Int J Obes (Lond)* 33(4):456-64.
- Benoit SC, Davis JF, Davidson TL. 2010. Learned and cognitive controls of food intake. *Brain Res* 1350:71-6.
- Berrino F. 2002. [Western diet and Alzheimer's disease]. *Epidemiol Prev* 26(3):107-15.
- Bettcher BM, Kramer JH. 2013. Inflammation and clinical presentation in neurodegenerative disease: a volatile relationship. *Neurocase* 19(2):182-200.
- Bilbo SD, Smith SH, Schwarz JM. 2012. A lifespan approach to neuroinflammatory and cognitive disorders: a critical role for glia. *J Neuroimmune Pharmacol* 7(1):24-41.
- Bilbo SD, Tsang V. 2010. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *FASEB J* 24(6):2104-15.
- Blakemore SJ, Burnett S, Dahl RE. 2010. The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp* 31(6):926-33.
- Blanchard J, Martel G, Guillou JL, Nogues X, Micheau J. 2008. Impairment of spatial memory consolidation in APP(751SL) mice results in cue-guided response. *Neurobiol Aging* 29(7):1011-21.
- Blouin K, Boivin A, Tchernof A. 2008. Androgens and body fat distribution. *J Steroid Biochem Mol Biol* 108(3-5):272-80.
- Bogin B. 1994. Adolescence in evolutionary perspective. *Acta Paediatr Suppl* 406:29-35; discussion 36.
- Boitard C, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, Laye S, Ferreira G. 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22(11):2095-100.
- Bose M, Olivan B, Laferrere B. 2009. Stress and obesity: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in metabolic disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 16(5):340-6.
- Boukouvalas G, Antoniou K, Papalexi E, Kitraki E. 2008. Post weaning high fat feeding affects rats' behavior and hypothalamic pituitary adrenal axis at the onset of puberty in a sexually dimorphic manner. *Neuroscience* 153(2):373-82.
- Breuner CW, Orchinik M. 2002. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J Endocrinol* 175(1):99-112.
- Brinkworth GD, Buckley JD, Noakes M, Clifton PM, Wilson CJ. 2009. Long-term effects of a very low-carbohydrate diet and a low-fat diet on mood and cognitive function. *Arch Intern Med* 169(20):1873-80.

- Brooks GC, Blaha MJ, Blumenthal RS. 2010. Relation of C-reactive protein to abdominal adiposity. *Am J Cardiol* 106(1):56-61.
- Brouckaert P, Libert C, Everaerd B, Takahashi N, Cauwels A, Fiers W. 1993. Tumor necrosis factor, its receptors and the connection with interleukin 1 and interleukin 6. *Immunobiology* 187(3-5):317-29.
- Brown JP, Couillard-Despres S, Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Aigner L, Kuhn HG. 2003. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *J Comp Neurol* 467(1):1-10.
- Brureau A, Zussy C, Delair B, Ogier C, Ixart G, Maurice T, Givalois L. 2013. Deregulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis functions in an Alzheimer's disease rat model. *Neurobiol Aging* 34(5):1426-39.
- Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Scholmerich J, Bollheimer LC. 2006. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol* 36(3):485-501.

C

- Caballero A, Thomases DR, Flores-Barrera E, Cass DK, Tseng KY. 2013. Emergence of GABAergic-dependent regulation of input-specific plasticity in the adult rat prefrontal cortex during adolescence. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Calandreau L, Desgranges B, Jaffard R, Desmedt A. 2010. Switching from contextual to tone fear conditioning and vice versa: the key role of the glutamatergic hippocampal-lateral septal neurotransmission. *Learn Mem* 17(9):440-3.
- Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Hauer D, Schelling G, McGaugh JL, Cuomo V. 2009. Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(12):4888-93.
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C and others. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56(7):1761-72.
- Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. 2008. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 57(6):1470-81.
- Cani PD, Delzenne NM. 2007. Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10(6):729-34.
- Cannon W. 1935. Stresses and strains of homeostasis. *Amer J Med Sci*. 189:1-14
- Capuron L, Miller AH. 2004. Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. *Biol Psychiatry* 56(11):819-24.
- Capuron L, Miller AH. 2011. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol Ther* 130(2):226-38.
- Capuron L, Su S, Miller AH, Bremner JD, Goldberg J, Vogt GJ, Maisano C, Jones L, Murrain NV, Vaccarino V. 2008. Depressive symptoms and metabolic syndrome: is inflammation the underlying link? *Biol Psychiatry* 64(10):896-900.
- Chen DY, Bambah-Mukku D, Pollonini G, Alberini CM. 2012. Glucocorticoid receptors recruit the CaMKIIalpha-BDNF-CREB pathways to mediate memory consolidation. *Nat Neurosci* 15(12):1707-14.
- Chen Y, Rex CS, Rice CJ, Dube CM, Gall CM, Lynch G, Baram TZ. 2010. Correlated memory defects and hippocampal dendritic spine loss after acute stress involve corticotropin-releasing hormone signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(29):13123-8.

- Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Wakabayashi C, Kunugi H. 2012. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 39(1):112-9.
- Christiansen T, Richelsen B, Bruun JM. 2005. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int J Obes (Lond)* 29(1):146-50.
- Clayton NS, Dickinson A. 1998. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* 395(6699):272-4.
- Clement K, Viguerie N, Poitou C, Carette C, Pelloux V, Curat CA, Sicard A, Rome S, Benis A, Zucker JD and others. 2004. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J* 18(14):1657-69.
- Coll AP, Yeo GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. 2008. SnapShot: the hormonal control of food intake. *Cell* 135(3):572 e1-2.
- Conboy L, Sandi C. 2010. Stress at learning facilitates memory formation by regulating AMPA receptor trafficking through a glucocorticoid action. *Neuropsychopharmacology* 35(3):674-85.
- Conrad CD. 2010. A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(5):742-55.
- Cota D, Marsicano G. 2011. New fat and new neurons: endocannabinoids control neurogenesis in obesity (Commentary on Rivera et al.). *Eur J Neurosci* 33(9):1575-6.
- Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E, Eid G, Kuller L, Kelley DE, Schauer PR. 2004. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes Surg* 14(5):589-600.
- Counotte DS, Smit AB, Pattij T, Spijker S. 2011. Development of the motivational system during adolescence, and its sensitivity to disruption by nicotine. *Dev Cogn Neurosci* 1(4):430-43.
- Cournot M, Marquie JC, Ansiau D, Martinaud C, Fonds H, Ferrieres J, Ruidavets JB. 2006. Relation between body mass index and cognitive function in healthy middle-aged men and women. *Neurology* 67(7):1208-14.
- Couturier K, Batandier C, Awada M, Hininger-Favier I, Canini F, Anderson RA, Leverve X, Roussel AM. 2010. Cinnamon improves insulin sensitivity and alters the body composition in an animal model of the metabolic syndrome. *Arch Biochem Biophys* 501(1):158-61.
- Covar RA, Leung DY, McCormick D, Steelman J, Zeitler P, Spahn JD. 2000. Risk factors associated with glucocorticoid-induced adverse effects in children with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106(4):651-9.
- Cressman VL, Balaban J, Steinfeld S, Shemyakin A, Graham P, Parisot N, Moore H. 2010. Prefrontal cortical inputs to the basal amygdala undergo pruning during late adolescence in the rat. *J Comp Neurol* 518(14):2693-709.
- Crews F, He J, Hodge C. 2007. Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 86(2):189-99.
- Cserjesi R, Molnar D, Luminet O, Lenard L. 2007. Is there any relationship between obesity and mental flexibility in children? *Appetite* 49(3):675-8.
- Cunha CA, Lira FS, Rosa Neto JC, Pimentel GD, Souza GI, da Silva CM, de Souza CT, Ribeiro EB, Sawaya AC, Oller do Nascimento CM and others. 2013. Green tea extract supplementation induces the lipolytic pathway, attenuates obesity, and reduces low-grade inflammation in mice fed a high-fat diet. *Mediators Inflamm* 2013:635470.

Cushman JD, Maldonado J, Kwon EE, Garcia AD, Fan G, Imura T, Sofroniew MV, Fanselow MS. 2012. Juvenile neurogenesis makes essential contributions to adult brain structure and plays a sex-dependent role in fear memories. *Front Behav Neurosci* 6:3.

D

- Da Silva AS, Pauli JR, Ropelle ER, Oliveira AG, Cintra DE, De Souza CT, Velloso LA, Carnevali JB, Saad MJ. 2010. Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. *Med Sci Sports Exerc* 42(12):2180-8.
- Dagenais GR, Yi Q, Mann JF, Bosch J, Pogue J, Yusuf S. 2005. Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. *Am Heart J* 149(1):54-60.
- Dahl AK, Hassing LB, Fransson EI, Gatz M, Reynolds CA, Pedersen NL. 2013. Body mass index across midlife and cognitive change in late life. *Int J Obes (Lond)* 37(2):296-302.
- Dahl RE. 2004. Adolescent brain development: a period of vulnerabilities and opportunities. Keynote address. *Ann N Y Acad Sci* 1021:1-22.
- Dallman MF, Pecoraro NC, La Fleur SE, Warne JP, Ginsberg AB, Akana SF, Laugero KC, Houshyar H, Strack AM, Bhatnagar S and others. 2006. Glucocorticoids, chronic stress, and obesity. *Prog Brain Res* 153:75-105.
- Dallman MF. 2010. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends Endocrinol Metab* 21(3):159-65.
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. 2008. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 9(1):46-56.
- Davidson TL, Chan K, Jarrard LE, Kanoski SE, Clegg DJ, Benoit SC. 2009. Contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to energy and body weight regulation. *Hippocampus* 19(3):235-52.
- Davidson TL, Hargrave SL, Swithers SE, Sample CH, Fu X, Kinzig KP, Zheng W. 2013. Inter-relationships among Diet, Obesity and Hippocampal-dependent Cognitive Function. *Neuroscience*.
- Davidson TL, Monnot A, Neal AU, Martin AA, Horton JJ, Zheng W. 2012. The effects of a high-energy diet on hippocampal-dependent discrimination performance and blood-brain barrier integrity differ for diet-induced obese and diet-resistant rats. *Physiol Behav* 107(1):26-33.
- Davis HP, Squire LR. 1984. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol. Bull.* 96:518-59
- Daye AG, Ford AA, Cleaver KM, Yassaee M, Cameron HA. 2003. Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 460(4):563-72.
- De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. 2003. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappaB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. *Endocr Rev* 24(4):488-522.
- de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 6(6):463-75.
- de Kloet ER, Karst H, Joels M. 2008. Corticosteroid hormones in the central stress response: quick-and-slow. *Front Neuroendocrinol* 29(2):268-72.
- de Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL. 1998. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* 394(6695):787-90.

- de Quervain DJ, Roozendaal B, Nitsch RM, McGaugh JL, Hock C. 2000. Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nat Neurosci* 3(4):313-4.
- De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, Saad MJ, Velloso LA. 2005. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology* 146(10):4192-9.
- de Wit L, Luppino F, van Straten A, Penninx B, Zitman F, Cuijpers P. 2010. Depression and obesity: a meta-analysis of community-based studies. *Psychiatry Res* 178(2):230-5.
- Del Rey A, Balschun D, Wetzel W, Randolph A, Besedovsky HO. 2013. A cytokine network involving brain-borne IL-1beta, IL-1ra, IL-18, IL-6, and TNFalpha operates during long-term potentiation and learning. *Brain Behav Immun*.
- del Valle J, Bayod S, Camins A, Beas-Zarate C, Velazquez-Zamora DA, Gonzalez-Burgos I, Pallas M. 2012. Dendritic spine abnormalities in hippocampal CA1 pyramidal neurons underlying memory deficits in the SAMP8 mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 32(1):233-40.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH. 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11(5):339-50.
- Desgranges B, Levy F, Ferreira G. 2008. Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res* 1236:166-75.
- Desgranges B, Ramirez-Amaya V, Ricano-Cornejo I, Levy F, Ferreira G. 2010. Flavor preference learning increases olfactory and gustatory convergence onto single neurons in the basolateral amygdala but not in the insular cortex in rats. *PLoS One* 5(4):e10097.
- Desmedt A, Garcia R, Jaffard R. 1999. Vasopressin in the lateral septum promotes elemental conditioning to the detriment of contextual fear conditioning in mice. *Eur J Neurosci* 11(11):3913-21.
- D'Hooge R, De Deyn PP. 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev* 36(1):60-90.
- Di Filippo M, Chiasserini D, Gardoni F, Viviani B, Tozzi A, Giampa C, Costa C, Tantucci M, Zianni E, Boraso M and others. 2013. Effects of central and peripheral inflammation on hippocampal synaptic plasticity. *Neurobiol Dis* 52:229-36.
- Diano S, Farr SA, Benoit SC, McNay EC, da Silva I, Horvath B, Gaskin FS, Nonaka N, Jaeger LB, Banks WA and others. 2006. Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nat Neurosci* 9(3):381-8.
- Dias-Ferreira E, Sousa JC, Melo I, Morgado P, Mesquita AR, Cerqueira JJ, Costa RM, Sousa N. 2009. Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science* 325(5940):621-5.
- Dinarello CA, Ikejima T, Warner SJ, Orencole SF, Lonnemann G, Cannon JG, Libby P. 1987. Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro. *J Immunol* 139(6):1902-10.
- Dinel AL, Andre C, Aubert A, Ferreira G, Laye S, Castanon N. 2011. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS One* 6(9):e24325.
- Dixon JB, Dixon ME, O'Brien PE. 2003. Depression in association with severe obesity: changes with weight loss. *Arch Intern Med* 163(17):2058-65.
- Dixon JB, Hayden MJ, Lambert GW, Dawood T, Anderson ML, Dixon ME, O'Brien PE. 2008. Raised CRP levels in obese patients: symptoms of depression have an independent positive association. *Obesity (Silver Spring)* 16(9):2010-5.

- D'Mello C, Le T, Swain MG. 2009. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor- α signaling during peripheral organ inflammation. *J Neurosci* 29(7):2089-102.
- Doerrler W, Feingold KR, Grunfeld C. 1994. Cytokines induce catabolic effects in cultured adipocytes by multiple mechanisms. *Cytokine* 6(5):478-84.
- Duclos M, Gatta B, Corcuff JB, Rashedi M, Pehourcq F, Roger P. 2001. Fat distribution in obese women is associated with subtle alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and sensitivity to glucocorticoids. *Clin Endocrinol (Oxf)* 55(4):447-54.
- Dudai Y. 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55:51-86.
- Dupret D, Fabre A, Dobrossy MD, Panatier A, Rodriguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Olié SH, Piazza PV, Abrous DN. 2007. Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *PLoS Biol* 5(8):e214.
- Dupret D, Revest JM, Koehl M, Ichas F, De Giorgi F, Costet P, Abrous DN, Piazza PV. 2008. Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. *PLoS One* 3(4):e1959.

E

- Eacott MJ, Norman G. 2004. Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory? *J Neurosci* 24(8):1948-53.
- Eichenbaum H. 2004. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 44(1):109-20.
- Eichenbaum H. 2013. What H.M. taught us. *J Cogn Neurosci* 25(1):14-21.
- Eiland L, Romeo RD. 2013. Stress and the developing adolescent brain. *Neuroscience* 249:162-71.
- Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. 2009. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia. *Neuroscience* 158(3):1021-9.
- Eklund CM. 2009. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Adv Clin Chem* 48:111-36.
- Elgh E, Lindqvist Astot A, Fagerlund M, Eriksson S, Olsson T, Nasman B. 2006. Cognitive dysfunction, hippocampal atrophy and glucocorticoid feedback in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 59(2):155-61.
- Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB. 2003. Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27(2):260-8.
- Elmqvist JK, Elias CF, Saper CB. 1999. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron* 22(2):221-32.
- Elmqvist JK, Saper CB. 1996. Activation of neurons projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus by intravenous lipopolysaccharide. *J Comp Neurol* 374(3):315-31.
- Engeli S. 2008. Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *J Neuroendocrinol* 20 Suppl 1:110-5.
- Engler H, Doenlen R, Engler A, Riether C, Prager G, Niemi MB, Pacheco-Lopez G, Krugel U, Schedlowski M. 2011. Acute amygdaloid response to systemic inflammation. *Brain Behav Immun* 25(7):1384-92.
- Epp JR, Chow C, Galea LA. 2013. Hippocampus-dependent learning influences hippocampal neurogenesis. *Front Neurosci* 7:57.

- Espana J, Gimenez-Llort L, Valero J, Minano A, Rabano A, Rodriguez-Alvarez J, LaFerla FM, Saura CA. 2010. Intra-neuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol Psychiatry* 67(6):513-21.
- Etchamendy N, Desmedt A, Cortes-Torrea C, Marighetto A, Jaffard R. 2003. Hippocampal lesions and discrimination performance of mice in the radial maze: sparing or impairment depending on the representational demands of the task. *Hippocampus* 13(2):197-211.
- Etchamendy N, Konishi K, Pike GB, Marighetto A, Bohbot VD. 2011. Evidence for a virtual human analog of a rodent relational memory task: A study of aging and fMRI in young adults. *Hippocampus*.
- Evans DL, Charney DS, Lewis L, Golden RN, Gorman JM, Krishnan KR, Nemeroff CB, Bremner JD, Carney RM, Coyne JC and others. 2005. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol Psychiatry* 58(3):175-89.
- Everard A, Cani PD. 2013. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 27(1):73-83.
- Everson-Rose SA, Lewis TT, Karavolos K, Dugan SA, Wesley D, Powell LH. 2009. Depressive symptoms and increased visceral fat in middle-aged women. *Psychosom Med* 71(4):410-6.

F

- Fabio MC, Nizhnikov ME, Spear NE, Pautassi RM. 2013. Binge ethanol intoxication heightens subsequent ethanol intake in adolescent, but not adult, rats. *Dev Psychobiol*.
- Fanselow MS. 1980. Conditioned and unconditional components of post-shock freezing. *Pavlov J Biol Sci* 15(4):177-82.
- Farr SA, Yamada KA, Butterfield DA, Abdul HM, Xu L, Miller NE, Banks WA, Morley JE, editors. 2008. Obesity and hypertriglyceridemia produce cognitive impairment. 2008/02/16 ed. 2628-36 p.
- Florian C, Mons N, Roullet P. 2006. CREB antisense oligodeoxynucleotide administration into the dorsal hippocampal CA3 region impairs long- but not short-term spatial memory in mice. *Learn Mem* 13(4):465-72.
- Foilib AR, Lui P, Romeo RD. 2011. The transformation of hormonal stress responses throughout puberty and adolescence. *J Endocrinol* 210(3):391-8.
- Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. 2007. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes* 56(4):1010-3.
- Francis F, Koulakoff A, Boucher D, Chafey P, Schaar B, Vinet MC, Friocourt G, McDonnell N, Reiner O, Kahn A and others. 1999. Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* 23(2):247-56.
- Francis H, Stevenson R. 2013. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* 63:119-28.
- Frankland PW, Bontempi B. 2005. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6(2):119-30.
- French SA, Epstein LH, Jeffery RW, Blundell JE, Wardle J. 2012. Eating behavior dimensions. Associations with energy intake and body weight. A review. *Appetite* 59(2):541-9.

Frenois F, Moreau M, O'Connor J, Lawson M, Micon C, Lestage J, Kelley KW, Dantzer R, Castanon N. 2007. Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallel the expression of depressive-like behavior. *Psychoneuroendocrinology* 32(5):516-31.

G

- Garthe A, Behr J, Kempermann G. 2009. Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. *PLoS One* 4(5):e5464.
- Ghetti S, Bunge SA. 2012. Neural changes underlying the development of episodic memory during middle childhood. *Dev Cogn Neurosci* 2(4):381-95.
- Ghosh S, Laxmi TR, Chattarji S. 2013. Functional connectivity from the amygdala to the hippocampus grows stronger after stress. *J Neurosci* 33(17):7234-44.
- Gibson EL. 2006. Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways. *Physiol Behav* 89(1):53-61.
- Gilbert CA, Slingerland JM. 2013. Cytokines, obesity, and cancer: new insights on mechanisms linking obesity to cancer risk and progression. *Annu Rev Med* 64:45-57.
- Giusti V, Panchaud M. 2007. [Psychological profile of obese patients]. *Rev Med Suisse* 3(105):846-9.
- Goble KH, Bain ZA, Padow VA, Lui P, Klein ZA, Romeo RD. 2011. Pubertal-related changes in hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity and cytokine secretion in response to an immunological stressor. *J Neuroendocrinol* 23(2):129-35.
- Goehler LE, Gaykema RP, Nguyen KT, Lee JE, Tilders FJ, Maier SF, Watkins LR. 1999. Interleukin-1beta in immune cells of the abdominal vagus nerve: a link between the immune and nervous systems? *J Neurosci* 19(7):2799-806.
- Goldbart AD, Row BW, Kheirandish-Gozal L, Cheng Y, Brittian KR, Gozal D. 2006. High fat/refined carbohydrate diet enhances the susceptibility to spatial learning deficits in rats exposed to intermittent hypoxia. *Brain Res* 1090(1):190-6.
- Goodman J, Leong KC, Packard MG. 2012. Emotional modulation of multiple memory systems: implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Rev Neurosci* 23(5-6):627-43.
- Goodman T, Trouche S, Massou I, Verret L, Zerwas M, Roullet P, Rampon C. 2010. Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience* 171(3):769-78.
- Goossens GH, Blaak EE, Theunissen R, Duijvestijn AM, Clement K, Tervaert JW, Thewissen MM. 2012. Expression of NLRP3 inflammasome and T cell population markers in adipose tissue are associated with insulin resistance and impaired glucose metabolism in humans. *Mol Immunol* 50(3):142-9.
- Goran MI, Alderete TL. 2012. Targeting adipose tissue inflammation to treat the underlying basis of the metabolic complications of obesity. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 73:49-60; discussion p61-6.
- Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. 2008. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry* 13(7):717-28.
- Goshen I, Kreisel T, Ounallah-Saad H, Renbaum P, Zalzstein Y, Ben-Hur T, Levy-Lahad E, Yirmiya R. 2007. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology* 32(8-10):1106-15.

- Gosselet F, Saint-Pol J, Candela P, Fenart L. 2013. Amyloid-beta Peptides, Alzheimer's Disease and the Blood-Brain Barrier. *Curr Alzheimer Res*.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. 1999. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2(3):260-5.
- Graciarena M, Roca V, Mathieu P, Depino AM, Pitossi FJ. 2013. Differential vulnerability of adult neurogenesis by adult and prenatal inflammation: Role of TGF-beta1. *Brain Behav Immun*.
- Granholt AC, Bimonte-Nelson HA, Moore AB, Nelson ME, Freeman LR, Sambamurti K. 2008. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat. *J Alzheimers Dis* 14(2):133-45.
- Greenwood CE, Winocur G. 1996. Cognitive impairment in rats fed high-fat diets: a specific effect of saturated fatty-acid intake. *Behav Neurosci* 110(3):451-9.
- Greenwood CE, Winocur G. 2005. High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1:42-5.
- Groesz LM, McCoy S, Carl J, Saslow L, Stewart J, Adler N, Laraia B, Epel E. 2012. What is eating you? Stress and the drive to eat. *Appetite* 58(2):717-21.
- Gross CG. 2000. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* 1(1):67-73.
- Gross PM. 1992. Circumventricular organ capillaries. *Prog Brain Res* 91:219-33.
- Gu W, Chen C, Zhao KN. 2013. Obesity-associated endometrial and cervical cancers. *Front Biosci (Elite Ed)* 5:109-18.
- Gunstad J, Lhotsky A, Wendell CR, Ferrucci L, Zonderman AB. 2010. Longitudinal examination of obesity and cognitive function: results from the Baltimore longitudinal study of aging. *Neuroepidemiology* 34(4):222-9.
- Gunstad J, Paul RH, Cohen RA, Tate DF, Gordon E. 2006. Obesity is associated with memory deficits in young and middle-aged adults. *Eat Weight Disord* 11(1):e15-9.
- Gunstad J, Strain G, Devlin MJ, Wing R, Cohen RA, Paul RH, Crosby RD, Mitchell JE. 2011. Improved memory function 12 weeks after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 7(4):465-72.
- Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K, Steen B, Skoog I. 2003. An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 163(13):1524-8.

H

- Hansen D, Dendale P, Beelen M, Jonkers RA, Mullens A, Corluy L, Meeusen R, van Loon LJ. 2010. Plasma adipokine and inflammatory marker concentrations are altered in obese, as opposed to non-obese, type 2 diabetes patients. *Eur J Appl Physiol* 109(3):397-404.
- Harrison N. 2013. Inflammation and mental illness. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84(9):e1.
- Harvey J. 2007. Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. *Curr Opin Pharmacol* 7(6):643-7.
- Hashmi AM, Butt Z, Umair M. 2013. Is depression an inflammatory condition? A review of available evidence. *J Pak Med Assoc* 63(7):899-906.
- Hawkins MA, Stewart JC. 2012. Do negative emotional factors have independent associations with excess adiposity? *J Psychosom Res* 73(4):243-50.
- Hayden MJ, Dixon JB, Dixon ME, Shea TL, O'Brien PE. 2011. Characterization of the improvement in depressive symptoms following bariatric surgery. *Obes Surg* 21(3):328-35.
- He J, Crews FT. 2007. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacol Biochem Behav* 86(2):327-33.

- Hein AM, Stasko MR, Matousek SB, Scott-McKean JJ, Maier SF, Olschowka JA, Costa AC, O'Banion MK. 2010. Sustained hippocampal IL-1 β overexpression impairs contextual and spatial memory in transgenic mice. *Brain Behav Immun* 24(2):243-53.
- Heitmann BL, Westerterp KR, Loos RJ, Sorensen TI, O'Dea K, McLean P, Jensen TK, Eisenmann J, Speakman JR, Simpson SJ and others. 2012. Obesity: lessons from evolution and the environment. *Obes Rev* 13(10):910-22.
- Henderson YO, Smith GP, Parent MB. 2013. Hippocampal neurons inhibit meal onset. *Hippocampus* 23(1):100-7.
- Henke K. 2010. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nat Rev Neurosci* 11(7):523-32.
- Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 24(3):151-80.
- Herman JP, McKlveen JM, Solomon MB, Carvalho-Netto E, Myers B. 2012. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. *Braz J Med Biol Res* 45(4):292-8.
- Herman JP, Mueller NK. 2006. Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behav Brain Res* 174(2):215-24.
- Hermida AP, McDonald WM, Steenland K, Levey A. 2012. The association between late-life depression, mild cognitive impairment and dementia: is inflammation the missing link? *Expert Rev Neurother* 12(11):1339-50.
- Heyward FD, Walton RG, Carle MS, Coleman MA, Garvey WT, Sweatt JD. 2012. Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobiol Learn Mem* 98(1):25-32.
- Higgs S. 2005. Memory and its role in appetite regulation. *Physiol Behav* 85(1):67-72.
- Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. 2012. Energy balance and obesity. *Circulation* 126(1):126-32.
- Holland PC, Petrovich GD. 2005. A neural systems analysis of the potentiation of feeding by conditioned stimuli. *Physiol Behav* 86(5):747-61.
- Holmes C. 2013. Review: systemic inflammation and Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 39(1):51-68.
- Horovitz O, Tsoory MM, Hall J, Jacobson-Pick S, Richter-Levin G. 2012. Post-weaning to pre-pubertal ('juvenile') stress: a model of induced predisposition to stress-related disorders. *Neuroendocrinology* 95(1):56-64.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/index.html>
<http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/fr/index.html>
- Huff NC, Rudy JW. 2004. The amygdala modulates hippocampus-dependent context memory formation and stores cue-shock associations. *Behav Neurosci* 118(1):53-62.
- Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL. 1966. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153(3740):1127-8.
- Hwang IK, Kim IY, Kim DW, Yoo KY, Kim YN, Yi SS, Won MH, Lee IS, Yoon YS, Seong JK. 2008. Strain-specific differences in cell proliferation and differentiation in the dentate gyrus of C57BL/6N and C3H/HeN mice fed a high fat diet. *Brain Res* 1241:1-6.
- Hwang LL, Wang CH, Li TL, Chang SD, Lin LC, Chen CP, Chen CT, Liang KC, Ho IK, Yang WS and others. 2010. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity (Silver Spring)* 18(3):463-9.

I

- Illan Gomez F. 2012. Response to letter to the editor from Maureen McCormick: Obesity and inflammation: change in adiponectin, C-reactive protein, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 after bariatric surgery. *Obes Surg* 22(12):1925.
- Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. 1950. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 41(12):317-8.
- Insausti R, Cebada-Sanchez S, Marcos P. 2010. Postnatal development of the human hippocampal formation. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 206:1-86.
- INSERM Expertise. 2011. Stress au travail et Santé - Situation chez les indépendants, Les éditions INSERM Edition.
- Isaacson RL. 1974. *The Limbic System*. New York: Plenum Press.
- Izquierdo I, Medina JH, Vianna MR, Izquierdo LA, Barros DM. 1999. Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res* 103(1):1-11.

J

- Janeway CA, Jr., Medzhitov R. 2002. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 20:197-216.
- Jarrard LE. 1993. On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav Neural Biol* 60(1):9-26.
- Jaworowska A, Blackham T, Davies IG, Stevenson L. 2013. Nutritional challenges and health implications of takeaway and fast food. *Nutr Rev* 71(5):310-8.
- Jeong SK, Nam HS, Son MH, Son EJ, Cho KH. 2005. Interactive effect of obesity indexes on cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord* 19(2-3):91-6.
- Ji Y, Sun S, Xia S, Yang L, Li X, Qi L. 2012. Short term high fat diet challenge promotes alternative macrophage polarization in adipose tissue via natural killer T cells and interleukin-4. *J Biol Chem* 287(29):24378-86.
- Joels M. 2007. Role of corticosteroid hormones in the dentate gyrus. *Prog Brain Res* 163:355-70.
- Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. 2012. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev* 249(1):218-38.

K

- Kaisari P, Yannakoulia M, Panagiotakos DB. 2013. Eating frequency and overweight and obesity in children and adolescents: a meta-analysis. *Pediatrics* 131(5):958-67.
- Kalarchian MA, Marcus MD. 2012. Psychiatric comorbidity of childhood obesity. *Int Rev Psychiatry* 24(3):241-6.
- Kalin NH, Weiler SJ, Shelton SE. 1982. Plasma ACTH and cortisol concentrations before and after dexamethasone. *Psychiatry Res* 7(1):87-92.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2010. Different patterns of memory impairments accompany short- and longer-term maintenance on a high-energy diet. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 36(2):313-9.
- Kanoski SE, Davidson TL. 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103(1):59-68.
- Kanoski SE, Meisel RL, Mullins AJ, Davidson TL. 2007. The effects of energy-rich diets on discrimination reversal learning and on BDNF in the hippocampus and prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res* 182(1):57-66.

- Kaouane N, Porte Y, Vallee M, Brayda-Bruno L, Mons N, Calandreau L, Marighetto A, Piazza PV, Desmedt A. 2012. Glucocorticoids can induce PTSD-like memory impairments in mice. *Science* 335(6075):1510-3.
- Kaplan RJ, Greenwood CE. 1998. Dietary saturated fatty acids and brain function. *Neurochem Res* 23(5):615-26.
- Katsuki H, Nakai S, Hirai Y, Akaji K, Kiso Y, Satoh M. 1990. Interleukin-1 beta inhibits long-term potentiation in the CA3 region of mouse hippocampal slices. *Eur J Pharmacol* 181(3):323-6.
- Kent S, Bluthé RM, Kelley KW, Dantzer R. 1992. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 13(1):24-8.
- Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M, Verkhratsky A. 2011. Physiology of microglia. *Physiol Rev* 91(2):461-553.
- Kim JJ, Lee HJ, Han JS, Packard MG. 2001. Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *J Neurosci* 21(14):5222-8.
- Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kareholt I, Winblad B, Helkala EL, Tuomilehto J, Soininen H, Nissinen A. 2005. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 62(10):1556-60.
- Koehl M, Abrous DN. 2011. A new chapter in the field of memory: adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* 33(6):1101-14.
- Konsman JP, Parnet P, Dantzer R. 2002. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends Neurosci* 25(3):154-9.
- Kwon H, Pessin JE. 2013. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)* 4:71.
- Kyrou I, Tsigos C. 2009. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr Opin Pharmacol* 9(6):787-93.

L

- la Fleur SE, Houshyar H, Roy M, Dallman MF. 2005. Choice of lard, but not total lard calories, damps adrenocorticotropin responses to restraint. *Endocrinology* 146(5):2193-9.
- Labouesse MA, Stadlbauer U, Langhans W, Meyer U. 2013. Chronic high fat diet consumption impairs sensorimotor gating in mice. *Psychoneuroendocrinology*.
- Labrousse VF, Costes L, Aubert A, Darnaudey M, Ferreira G, Amedee T, Laye S. 2009. Impaired interleukin-1beta and c-Fos expression in the hippocampus is associated with a spatial memory deficit in P2X(7) receptor-deficient mice. *PLoS One* 4(6):e6006.
- Ladeby R, Wirenfeldt M, Garcia-Ovejero D, Fenger C, Dissing-Olesen L, Dalmau I, Finsen B. 2005. Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system. *Brain Res Brain Res Rev* 48(2):196-206.
- Lakshminarasimhan H, Chattarji S. 2012. Stress leads to contrasting effects on the levels of brain derived neurotrophic factor in the hippocampus and amygdala. *PLoS One* 7(1):e30481.
- Lau JY, Britton JC, Nelson EE, Angold A, Ernst M, Goldwin M, Grillon C, Leibenluft E, Lissek S, Norcross M and others. 2011. Distinct neural signatures of threat learning in adolescents and adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(11):4500-5.
- LeDoux J. 2007. The amygdala. *Curr Biol* 17(20):R868-74.
- Lee YS, Li P, Huh JY, Hwang IJ, Lu M, Kim JI, Ham M, Talukdar S, Chen A, Lu WJ and others. 2011. Inflammation is necessary for long-term but not short-term high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 60(10):2474-83.

- Legendre A, Harris RB. 2006. Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291(5):R1288-1294.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444(7122):1022-3.
- Li H, Liang A, Guan F, Fan R, Chi L, Yang B. 2013. Regular treadmill running improves spatial learning and memory performance in young mice through increased hippocampal neurogenesis and decreased stress. *Brain Res* 1531:1-8.
- Li XL, Aou S, Oomura Y, Hori N, Fukunaga K, Hori T. 2002. Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience* 113(3):607-15.
- Li Y, Dai Q, Jackson JC, Zhang J. 2008. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 16(8):1809-15.
- Libert C, Brouckaert P, Shaw A, Fiers W. 1990. Induction of interleukin 6 by human and murine recombinant interleukin 1 in mice. *Eur J Immunol* 20(3):691-4.
- Lindqvist A, Mohapel P, Bouter B, Frielingsdorf H, Pizzo D, Brundin P, Erlanson-Albertsson C. 2006. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol* 13(12):1385-8.
- Lindstrom P. 2010. beta-cell function in obese-hyperglycemic mice [ob/ob Mice]. *Adv Exp Med Biol* 654:463-77.
- Lister JP, Barnes CA. 2009. Neurobiological changes in the hippocampus during normative aging. *Arch Neurol* 66(7):829-33.
- Lokken KL, Boeka AG, Austin HM, Gunstad J, Harmon CM. 2009. Evidence of executive dysfunction in extremely obese adolescents: a pilot study. *Surg Obes Relat Dis* 5(5):547-52.
- Lopresti AL, Hood SD, Drummond PD. 2013. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: diet, sleep and exercise. *J Affect Disord* 148(1):12-27.
- Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. 1998. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394(6696):897-901.
- Lu A, Steiner MA, Whittle N, Vogl AM, Walser SM, Ableitner M, Refojo D, Ekker M, Rubenstein JL, Stalla GK and others. 2008. Conditional mouse mutants highlight mechanisms of corticotropin-releasing hormone effects on stress-coping behavior. *Mol Psychiatry* 13(11):1028-42.
- Lu NZ, Cidlowski JA. 2006. Glucocorticoid receptor isoforms generate transcription specificity. *Trends Cell Biol* 16(6):301-7.
- Luchsinger JA, Gustafson DR. 2009. Adiposity and Alzheimer's disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12(1):15-21.
- Lupien SJ, de Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NP, Thakur M, McEwen BS, Hauger RL, Meaney MJ. 1998. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nat Neurosci* 1(1):69-73.
- Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* 10(6):434-45.
- Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, Zitman FG. 2010. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry* 67(3):220-9.
- Lykouras L. 2008. Psychological profile of obese patients. *Dig Dis* 26(1):36-9.
- Lynch G, Rex CS, Gall CM. 2007. LTP consolidation: substrates, explanatory power, and functional significance. *Neuropharmacology* 52(1):12-23.

M

- Maachi M, Pieroni L, Bruckert E, Jardel C, Fellahi S, Hainque B, Capeau J, Bastard JP. 2004. Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNFalpha, leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28(8):993-7.
- Maes M. 1995. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 19(1):11-38.
- Magne J, Mariotti F, Fischer R, Mathe V, Tome D, Huneau JF. 2010. Early postprandial low-grade inflammation after high-fat meal in healthy rats: possible involvement of visceral adipose tissue. *J Nutr Biochem* 21(6):550-5.
- Makhija K, Karunakaran S. 2013. The role of inflammatory cytokines on the aetiopathogenesis of depression. *Aust N Z J Psychiatry*. Maloine.
- Malter Cohen M, Tottenham N, Casey BJ. 2013. Translational developmental studies of stress on brain and behavior: Implications for adolescent mental health and illness? *Neuroscience* 249:53-62.
- Maniam J, Morris MJ. 2010. Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: role of hippocampus. *Psychoneuroendocrinology* 35(10):1553-64.
- Maren S. 2008. Pavlovian fear conditioning as a behavioral assay for hippocampus and amygdala function: cautions and caveats. *Eur J Neurosci* 28(8):1661-6.
- Marighetto A, Etchamendy N, Touzani K, Torrea CC, Yee BK, Rawlins JN, Jaffard R. 1999. Knowing which and knowing what: a potential mouse model for age-related human declarative memory decline. *Eur J Neurosci* 11(9):3312-22.
- Marques F, Sousa JC, Sousa N, Palha JA. 2013. Blood--brain-barriers in aging and in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 8(1):38.
- Martel G, Blanchard J, Mons N, Gastambide F, Micheau J, Guillou JL. 2007. Dynamic interplays between memory systems depend on practice: the hippocampus is not always the first to provide solution. *Neuroscience* 150(4):743-53.
- Martin B, Pearson M, Kebejian L, Golden E, Keselman A, Bender M, Carlson O, Egan J, Ladenheim B, Cadet JL and others. 2007. Sex-dependent metabolic, neuroendocrine, and cognitive responses to dietary energy restriction and excess. *Endocrinology* 148(9):4318-33.
- Massa F, Koehl M, Wiesner T, Grosjean N, Revest JM, Piazza PV, Abrous DN, Olier SH. 2011. Conditional reduction of adult neurogenesis impairs bidirectional hippocampal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(16):6644-9.
- Massa F, Mancini G, Schmidt H, Steindel F, Mackie K, Angioni C, Olier SH, Geisslinger G, Lutz B. 2010. Alterations in the hippocampal endocannabinoid system in diet-induced obese mice. *J Neurosci* 30(18):6273-81.
- Matsuzawa Y, Nakamura T, Shimomura I, Kotani K. 1995. Visceral fat accumulation and cardiovascular disease. *Obes Res* 3 Suppl 5:645S-647S.
- Mattu HS, Randeve HS. 2013. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol* 216(1):T17-36.
- McCormick CM, Mathews IZ. 2007. HPA function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enduring consequences of exposure to stressors. *Pharmacol Biochem Behav* 86(2):220-33.

- McCormick CM, Mathews IZ. 2010. Adolescent development, hypothalamic-pituitary-adrenal function, and programming of adult learning and memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(5):756-65.
- McDonald RJ, White NM. 1993. A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav Neurosci* 107(1):3-22.
- McDonald RJ, White NM. 1995. Information acquired by the hippocampus interferes with acquisition of the amygdala-based conditioned-cue preference in the rat. *Hippocampus* 5(3):189-97.
- McEwen BS. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 87(3):873-904.
- McNay EC, Ong CT, McCrimmon RJ, Cresswell J, Bogan JS, Sherwin RS. 2010. Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance. *Neurobiol Learn Mem* 93(4):546-53.
- Mendel CM. 1989. The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. *Endocr Rev* 10(3):232-74.
- Merali Z, Brennan K, Brau P, Anisman H. 2003. Dissociating anorexia and anhedonia elicited by interleukin-1beta: antidepressant and gender effects on responding for "free chow" and "earned" sucrose intake. *Psychopharmacology (Berl)* 165(4):413-8.
- Metna-Laurent M, Soria-Gomez E, Verrier D, Conforzi M, Jego P, Lafenetre P, Marsicano G. 2012. Bimodal control of fear-coping strategies by CB(1) cannabinoid receptors. *J Neurosci* 32(21):7109-18.
- Mielke JG, Nicolitch K, Avellaneda V, Earlam K, Ahuja T, Mealing G, Messier C. 2006. Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. *Behav Brain Res* 175(2):374-82.
- Milanski M, Degasperis G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, Tsukumo DM, Anhe G, Amaral ME, Takahashi HK and others. 2009. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci* 29(2):359-70.
- Mingaud F, Le Moine C, Etchamendy N, Mormede C, Jaffard R, Marighetto A. 2007. The hippocampus plays a critical role at encoding discontinuous events for subsequent declarative memory expression in mice. *Hippocampus* 17(4):264-70.
- Minino A. 2010. Mortality among teenagers aged 12-19 years: United States, 1999-2006. *NCHS Data Brief(37)*:1-8.
- Miranda MA, Ferry B, Ferreira G. 2007. Basolateral amygdala noradrenergic activity is involved in the acquisition of conditioned odor aversion in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 88(2):260-3.
- Miranda MI, Quirarte GL, Rodriguez-Garcia G, McGaugh JL, Roozendaal B. 2008. Glucocorticoids enhance taste aversion memory via actions in the insular cortex and basolateral amygdala. *Learn Mem* 15(7):468-76.
- Misanin JR, Collins M, Rushanan S, Anderson MJ, Goodhart M, Hinderliter CF. 2002. Aging facilitates long-trace taste-aversion conditioning in rats. *Physiol Behav* 75(5):759-64.
- Misiak B, Leszek J, Kiejna A. 2012. Metabolic syndrome, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease--the emerging role of systemic low-grade inflammation and adiposity. *Brain Res Bull* 89(3-4):144-9.
- Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T. 2003. Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 119(3):887-97.

- Molteni R, Barnard RJ, Ying Z, Roberts CK, Gomez-Pinilla F. 2002. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience* 112(4):803-14.
- Molteni R, Wu A, Vaynman S, Ying Z, Barnard RJ, Gomez-Pinilla F. 2004. Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience* 123(2):429-40.
- Monti B, Berteotti C, Contestabile A. 2005. Dysregulation of memory-related proteins in the hippocampus of aged rats and their relation with cognitive impairment. *Hippocampus* 15(8):1041-9.
- Moreira AP, Texeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C. 2012. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr* 108(5):801-9.
- Moroki T, Yoshikawa Y, Yoshizawa K, Tsubura A, Yasui H. 2013. Morphological Characterization of Systemic Changes in KK-Ay Mice as an Animal Model of Type 2 Diabetes. *In Vivo* 27(4):465-72.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297(5868):681-3.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS. 2006. The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 16(2):179-90.
- Moser MB, Moser EI. 1998. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8(6):608-19.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 5(1):25-44.
- Murray AJ, Knight NS, Cochlin LE, McAleese S, Deacon RM, Rawlins JN, Clarke K. 2009. Deterioration of physical performance and cognitive function in rats with short-term high-fat feeding. *FASEB J* 23(12):4353-60.
- Myers MG, Jr., Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. 2010. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab* 21(11):643-51.

N

- Nakamura Y. 2002. Regulating factors for microglial activation. *Biol Pharm Bull* 25(8):945-53.
- Neal MD, Leaphart C, Levy R, Prince J, Billiar TR, Watkins S, Li J, Cetin S, Ford H, Schreiber A and others. 2006. Enterocyte TLR4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier. *J Immunol* 176(5):3070-9.
- Nelson TE, Olde Engberink A, Hernandez R, Puro A, Huitron-Resendiz S, Hao C, De Graan PN, Gruol DL. 2012. Altered synaptic transmission in the hippocampus of transgenic mice with enhanced central nervous systems expression of interleukin-6. *Brain Behav Immun* 26(6):959-71.
- Nilsson C, Raun K, Yan FF, Larsen MO, Tang-Christensen M. 2012. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin* 33(2):173-81.
- Nilsson LG, Nilsson E. 2009. Overweight and cognition. *Scand J Psychol* 50(6):660-7.
- Northrop NA, Yamamoto BK. 2012. Persistent neuroinflammatory effects of serial exposure to stress and methamphetamine on the blood-brain barrier. *J Neuroimmune Pharmacol* 7(4):951-68.

Northstone K, Joinson C, Emmett P, Ness A, Paus T. 2012. Are dietary patterns in childhood associated with IQ at 8 years of age? A population-based cohort study. *J Epidemiol Community Health* 66(7):624-8.

O

O'Connor JJ, Coogan AN. 1999. Actions of the pro-inflammatory cytokine IL-1 beta on central synaptic transmission. *Exp Physiol* 84(4):601-14.

Oh DY, Morinaga H, Talukdar S, Bae EJ, Olefsky JM. 2012. Increased macrophage migration into adipose tissue in obese mice. *Diabetes* 61(2):346-54.

Ohta R, Shigemura N, Sasamoto K, Koyano K, Ninomiya Y. 2003. Conditioned taste aversion learning in leptin-receptor-deficient db/db mice. *Neurobiol Learn Mem* 80(2):105-12.

O'Keefe J, Conway DH. 1978. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp Brain Res* 31(4):573-90.

Olszanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Zurakowski A. 2004. Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)-alpha and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity. *Metabolism* 53(10):1268-73.

OMS. 2013, Aide mémoire n°311, mars 2013.

Oppert JM, Charreire H. 2012. The importance of the food and physical activity environments. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 73:113-21.

Ou LC, Gean PW. 2007. Transcriptional regulation of brain-derived neurotrophic factor in the amygdala during consolidation of fear memory. *Mol Pharmacol* 72(2):350-8.

P

Packard MG, McGaugh JL. 1996. Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 65(1):65-72.

Packard MG, Wingard JC. 2004. Amygdala and "emotional" modulation of the relative use of multiple memory systems. *Neurobiol Learn Mem* 82(3):243-52.

Painsipp E, Kofer MJ, Sinner F, Holzer P. 2011. Prolonged depression-like behavior caused by immune challenge: influence of mouse strain and social environment. *PLoS One* 6(6):e20719.

Pariante CM, Lightman SL. 2008. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 31(9):464-8.

Pariante CM. 2003. Depression, stress and the adrenal axis. *J Neuroendocrinol* 15(8):811-2.

Pariante CM. 2004. Glucocorticoid receptor function in vitro in patients with major depression. *Stress* 7(4):209-19.

Park HR, Park M, Choi J, Park KY, Chung HY, Lee J. 2010. A high-fat diet impairs neurogenesis: involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett* 482(3):235-9.

Parnet P, Kelley KW, Bluthé RM, Dantzer R. 2002. Expression and regulation of interleukin-1 receptors in the brain. Role in cytokines-induced sickness behavior. *J Neuroimmunol* 125(1-2):5-14.

Pasinetti GM, Eberstein JA. 2008. Metabolic syndrome and the role of dietary lifestyles in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 106(4):1503-14.

Pasquali R, Vicennati V, Cacciari M, Pagotto U. 2006. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1083:111-28.

- Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A. 2013. The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J Obes* 2013:616193.
- Pathan AR, Gaikwad AB, Viswanad B, Ramarao P. 2008. Rosiglitazone attenuates the cognitive deficits induced by high fat diet feeding in rats. *Eur J Pharmacol* 589(1-3):176-9.
- Patterson ZR, Abizaid A. 2013. Stress induced obesity: lessons from rodent models of stress. *Front Neurosci* 7:130.
- Pavlov I. 1927. *Conditioned reflex*. Oxford: Oxford University Press.
- Phillips MS, Liu Q, Hammond HA, Dugan V, Hey PJ, Caskey CJ, Hess JF. 1996. Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nat Genet* 13(1):18-9.
- Phillips RG, LeDoux JE. 1992. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* 106(2):274-85.
- Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, Bruce-Keller AJ. 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* 219(1-2):25-32.
- Pitkanen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A. 2000. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann N Y Acad Sci* 911:369-91.
- Poulain JP. 2004. *Dimensions sociales de l'obésité*. INSERM
- Privitera GJ, Zavala AR, Sanabria F, Sotak KL. 2011. High fat diet intake during pre and periadolescence impairs learning of a conditioned place preference in adulthood. *Behav Brain Funct* 7:21.

Q

- Quan N, Banks WA. 2007. Brain-immune communication pathways. *Brain Behav Immun* 21(6):727-35.

R

- Raber J. 1998. Detrimental effects of chronic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. From obesity to memory deficits. *Mol Neurobiol* 18(1):1-22.
- Rachal Pugh C, Fleshner M, Watkins LR, Maier SF, Rudy JW. 2001. The immune system and memory consolidation: a role for the cytokine IL-1beta. *Neurosci Biobehav Rev* 25(1):29-41.
- Rafnsson SB, Deary IJ, Smith FB, Whiteman MC, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. 2007. Cognitive decline and markers of inflammation and hemostasis: the Edinburgh Artery Study. *J Am Geriatr Soc* 55(5):700-7.
- Ragozzino ME, Detrick S, Kesner RP. 1999. Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *J Neurosci* 19(11):4585-94.
- Ramon y Cajal S. 1911. *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*. Paris:
- Reinert KR, Po'e EK, Barkin SL. 2013. The relationship between executive function and obesity in children and adolescents: a systematic literature review. *J Obes* 2013:820956.
- Reul JM, de Kloet ER. 1985. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117(6):2505-11.
- Revest JM, Di Blasi F, Kitchener P, Rouge-Pont F, Desmedt A, Turiault M, Tronche F, Piazza PV. 2005. The MAPK pathway and Egr-1 mediate stress-related behavioral effects of glucocorticoids. *Nat Neurosci* 8(5):664-72.

- Rhen T, Cidlowski JA. 2005. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med* 353(16):1711-23.
- Richardson LP, Davis R, Poulton R, McCauley E, Moffitt TE, Caspi A, Connell F. 2003. A longitudinal evaluation of adolescent depression and adult obesity. *Arch Pediatr Adolesc Med* 157(8):739-45.
- Ridder S, Chourbaji S, Hellweg R, Urani A, Zacher C, Schmid W, Zink M, Hortnagl H, Flor H, Henn FA and others. 2005. Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions. *J Neurosci* 25(26):6243-50.
- Rivera P, Romero-Zerbo Y, Pavon FJ, Serrano A, Lopez-Avalos MD, Cifuentes M, Grondona JM, Bermudez-Silva FJ, Fernandez-Llebrez P, de Fonseca FR and others. 2011. Obesity-dependent cannabinoid modulation of proliferation in adult neurogenic regions. *Eur J Neurosci* 33(9):1577-86.
- Rajo ML, Soderstrom I, Olsson T, Fowler CJ. 2013. Changes in cannabinoid CB(1) receptor functionality in the female rat prefrontal cortex following a high fat diet. *Life Sci* 92(13):757-62.
- Romeo RD, Kaplowitz ET, Ho A, Franco D. 2013. The influence of puberty on stress reactivity and forebrain glucocorticoid receptor levels in inbred and outbred strains of male and female mice. *Psychoneuroendocrinology* 38(4):592-6.
- Romeo RD. 2010. Adolescence: a central event in shaping stress reactivity. *Dev Psychobiol* 52(3):244-53.
- Rook GA. 1999. Glucocorticoids and immune function. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 13(4):567-81.
- Roosendaal B, Griffith QK, Buranday J, De Quervain DJ, McGaugh JL. 2003. The hippocampus mediates glucocorticoid-induced impairment of spatial memory retrieval: dependence on the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(3):1328-33.
- Roosendaal B, Hahn EL, Nathan SV, de Quervain DJ, McGaugh JL. 2004. Glucocorticoid effects on memory retrieval require concurrent noradrenergic activity in the hippocampus and basolateral amygdala. *J Neurosci* 24(37):8161-9.
- Roosendaal B, McEwen BS, Chattarji S. 2009. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci* 10(6):423-33.
- Rosi S, Vazdarjanova A, Ramirez-Amaya V, Worley PF, Barnes CA, Wenk GL. 2006. Memantine protects against LPS-induced neuroinflammation, restores behaviorally-induced gene expression and spatial learning in the rat. *Neuroscience* 142(4):1303-15.
- Rosini TC, Silva AS, Moraes C. 2012. Diet-induced obesity: rodent model for the study of obesity-related disorders. *Rev Assoc Med Bras* 58(3):383-7.
- Rothwell NJ, Luheshi G, Toulmond S. 1996. Cytokines and their receptors in the central nervous system: physiology, pharmacology, and pathology. *Pharmacol Ther* 69(2):85-95.

S

- Sabia S, Kivimaki M, Shipley MJ, Marmot MG, Singh-Manoux A. 2009. Body mass index over the adult life course and cognition in late midlife: the Whitehall II Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 89(2):601-7.
- Sacktor TC. 2008. PKMzeta, LTP maintenance, and the dynamic molecular biology of memory storage. *Prog Brain Res* 169:27-40.
- Sah P, Westbrook RF, Luthi A. 2008. Fear conditioning and long-term potentiation in the amygdala: what really is the connection? *Ann N Y Acad Sci* 1129:88-95.

- Salehi B, Cordero MI, Sandi C. 2010. Learning under stress: the inverted-U-shape function revisited. *Learn Mem* 17(10):522-30.
- Salim S, Chugh G, Asghar M. 2012. Inflammation in anxiety. *Adv Protein Chem Struct Biol* 88:1-25.
- Samra JS, Clark ML, Humphreys SM, MacDonald IA, Bannister PA, Frayn KN. 1998. Effects of physiological hypercortisolemia on the regulation of lipolysis in subcutaneous adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 83(2):626-31.
- Sandi C, Pinelo-Nava MT. 2007. Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plast* 2007:78970.
- Sandi C. 2011. Glucocorticoids act on glutamatergic pathways to affect memory processes. *Trends Neurosci* 34(4):165-76.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. 1986. The adrenocortical axis in the aged rat: impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition. *Neurobiol Aging* 7(5):331-5.
- Sapolsky RM. 2003. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem Res* 28(11):1735-42.
- Sarabdjitsingh RA, Kofink D, Karst H, de Kloet ER, Joels M. 2012. Stress-induced enhancement of mouse amygdalar synaptic plasticity depends on glucocorticoid and ss-adrenergic activity. *PLoS One* 7(8):e42143.
- Sardi F, Fassina L, Venturini L, Inguscio M, Guerriero F, Rolfo E, Ricevuti G. 2011. Alzheimer's disease, autoimmunity and inflammation: The good, the bad and the ugly. *Autoimmun Rev* 11(2):149-53.
- Sasaki A, de Vega WC, St-Cyr S, Pan P, McGowan PO. 2013. Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. *Neuroscience* 240:1-12.
- Saul ML, Helmreich DL, Callahan LM, Fudge JL. 2013. Differences in amygdala cell proliferation between adolescent and young adult rats. *Dev Psychobiol*.
- Schag K, Schonleber J, Teufel M, Zipfel S, Giel KE. 2013. Food-related impulsivity in obesity and binge eating disorder--a systematic review. *Obes Rev* 14(6):477-95.
- Schapiro S, Geller E, Eiduson S. 1962. Neonatal adrenal cortical response to stress and vasopressin. *Proc Soc Exp Biol Med* 109:937-41.
- Scherf KS, Smyth JM, Delgado MR. 2013. The amygdala: An agent of change in adolescent neural networks. *Horm Behav*.
- Schwabe L, Oitzl MS, Philippson C, Richter S, Bohringer A, Wippich W, Schachinger H. 2007. Stress modulates the use of spatial versus stimulus-response learning strategies in humans. *Learn Mem* 14(1):109-16.
- Scoville WB, Milner B. 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20(1):11-21.
- Sellbom KS, Gunstad J. 2012. Cognitive function and decline in obesity. *J Alzheimers Dis* 30 Suppl 2:S89-95.
- Sevelinges Y, Desgranges B, Ferreira G. 2009. The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn Mem* 16(4):235-42.
- Sharma S, Fulton S. 2013. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes (Lond)* 37(3):382-9.
- Shi H, Clegg DJ. 2009. Sex differences in the regulation of body weight. *Physiol Behav* 97(2):199-204.
- Shield J, Summerbell C. 2008. Obesity in childhood. In Williams G. & Frühbeck (Eds.), *Obesity, science and practice* (p559-552). Chichester : Wiley-Blackwell.

- Shin AC, MohanKumar SM, Sirivelu MP, Claycombe KJ, Haywood JR, Fink GD, MohanKumar PS. 2010. Chronic exposure to a high-fat diet affects stress axis function differentially in diet-induced obese and diet-resistant rats. *Int J Obes (Lond)* 34(7):1218-26.
- Shu CJ, Benoist C, Mathis D. 2012. The immune system's involvement in obesity-driven type 2 diabetes. *Semin Immunol* 24(6):436-42.
- Siervo M, Arnold R, Wells JC, Tagliabue A, Colantuoni A, Albanese E, Brayne C, Stephan BC. 2011. Intentional weight loss in overweight and obese individuals and cognitive function: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 12(11):968-83.
- Silverman MN, Sternberg EM. 2008. Neuroendocrine-immune interactions in rheumatoid arthritis: mechanisms of glucocorticoid resistance. *Neuroimmunomodulation* 15(1):19-28.
- Silverman MN, Sternberg EM. 2012. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 1261:55-63.
- Singer P, Boison D, Mohler H, Feldon J, Yee BK. 2009. Deletion of glycine transporter 1 (GlyT1) in forebrain neurons facilitates reversal learning: enhanced cognitive adaptability? *Behav Neurosci* 123(5):1012-27.
- Slamberova R, Rimanoczy A, Riley MA, Vathy I. 2004. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis-regulated stress response and negative feedback sensitivity is altered by prenatal morphine exposure in adult female rats. *Neuroendocrinology* 80(3):192-200.
- Slopen N, Kubzansky LD, McLaughlin KA, Koenen KC. 2013a. Childhood adversity and inflammatory processes in youth: a prospective study. *Psychoneuroendocrinology* 38(2):188-200.
- Slopen N, McLaughlin KA, Dunn EC, Koenen KC. 2013b. Childhood adversity and cell-mediated immunity in young adulthood: does type and timing matter? *Brain Behav Immun* 28:63-71.
- Slotnick BM, Westbrook F, Darling FMC. 1997. What the rat's nose tells the rat's mouth: long delay aversion conditioning with aqueous and potentiation of taste by odors. *Animal learning and behavior* 25:357-69.
- Smith AW, Baum A, Wing RR. 2005. Stress and weight gain in parents of cancer patients. *Int J Obes (Lond)* 29(2):244-50.
- Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, Wojtowicz JM. 2005. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 130(4):843-52.
- Snyder JS, Kee N, Wojtowicz JM. 2001. Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* 85(6):2423-31.
- Sorrells SF, Caso JR, Munhoz CD, Sapolsky RM. 2009. The stressed CNS: when glucocorticoids aggravate inflammation. *Neuron* 64(1):33-9.
- Sousa N, Cerqueira JJ, Almeida OF. 2008. Corticosteroid receptors and neuroplasticity. *Brain Res Rev* 57(2):561-70.
- Speaker KJ, Fleshner M. 2012. Interleukin-1 beta: a potential link between stress and the development of visceral obesity. *BMC Physiol* 12:8.
- Speakman JR, O'Rahilly S. 2012. Fat: an evolving issue. *Dis Model Mech* 5(5):569-73.
- Spear LP. 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24(4):417-63.
- Spear LP. 2013. Adolescent neurodevelopment. *Journal of Adolescent Health*. 52 S7-13.
- Squire LR. 2004. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82(3):171-7.
- Stanley S, Wynne K, McGowan B, Bloom S. 2005. Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev* 85(4):1131-58.

- Starkman MN, Gebarski SS, Berent S, Schteingart DE. 1992. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol Psychiatry* 32(9):756-65.
- Stolp HB, Dziegielewska KM, Ek CJ, Potter AM, Saunders NR. 2005. Long-term changes in blood-brain barrier permeability and white matter following prolonged systemic inflammation in early development in the rat. *Eur J Neurosci* 22(11):2805-16.
- Stone ME, Grimes BS, Katz DB. 2005. Hippocampal inactivation enhances taste learning. *Learn Mem* 12(6):579-86.
- Stranahan AM, Arumugam TV, Cutler RG, Lee K, Egan JM, Mattson MP. 2008a. Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons. *Nat Neurosci* 11(3):309-17.
- Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann RS, Egan JM, Mattson MP. 2008b. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus* 18(11):1085-8.
- Stunkard AJ, Faith MS, Allison KC. 2003. Depression and obesity. *Biol Psychiatry* 54(3):330-7.
- Swartz JR, Carrasco M, Wiggins JL, Thomason ME, Monk CS. 2013. Age-related changes in the structure and function of prefrontal cortex-amygdala circuitry in children and adolescents: A multi-modal imaging approach. *Neuroimage*.

T

- Tannenbaum BM, Brindley DN, Tannenbaum GS, Dallman MF, McArthur MD, Meaney MJ. 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *Am J Physiol* 273(6 Pt 1):E1168-77.
- Tchernof A, Despres JP. 2013. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev* 93(1):359-404.
- Teng SF, Lee LJ, Chen CP, Hwang LL, Chen CT, Ho IK, Chiou LC. 2011. Sex difference in high-fat diet-induced lesions in the dendritic morphology of mouse hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Society for Neuroscience, Abstract, 2011*
- Thewissen MM, Damoiseaux JG, Duijvestijn AM, van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, Feskens EJ, Blaak EE, Schalkwijk CG, Stehouwer CD, Cohen Tervaert JW and others. 2011. Abdominal fat mass is associated with adaptive immune activation: the CODAM Study. *Obesity (Silver Spring)* 19(8):1690-8.
- Thirumangalakudi L, Prakasam A, Zhang R, Bimonte-Nelson H, Sambamurti K, Kindy MS, Bhat NR. 2008. High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. *J Neurochem* 106(1):475-85.
- Thomas EA, Bechtell JL, Vestal BE, Johnson SL, Bessesen DH, Tregellas JR, Cornier MA. 2013. Eating-related behaviors and appetite during energy imbalance in obese-prone and obese-resistant individuals. *Appetite* 65:96-102.
- Thompson CI, Margules DL, Kreider JW, Boha SP, Rejer RE, Jr., Quirey RA, Reitz JA. 1993. Propensity to form conditioned taste aversions augments anorexia in obese (ob/ob) mice with B16 melanoma. *Behav Neurosci* 107(5):786-98.
- Tilg H, Moschen AR. 2006. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 6(10):772-83.
- Tirelli E, Laviola G, Adriani W. 2003. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 27(1-2):163-78.
- Tomlinson DR, Gardiner NJ. 2008. Glucose neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci* 9(1):36-45.

- Tong L, Prieto GA, Kramar EA, Smith ED, Cribbs DH, Lynch G, Cotman CW. 2012. Brain-derived neurotrophic factor-dependent synaptic plasticity is suppressed by interleukin-1beta via p38 mitogen-activated protein kinase. *J Neurosci* 32(49):17714-24.
- Torres SJ, Nowson CA. 2007. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 23(11-12):887-94.
- Touzani K, Marighetto A, Jaffard R. 2003. Fos imaging reveals ageing-related changes in hippocampal response to radial maze discrimination testing in mice. *Eur J Neurosci* 17(3):628-40.
- Touzani K, Sclafani A. 2005. Critical role of amygdala in flavor but not taste preference learning in rats. *Eur J Neurosci* 22(7):1767-74.
- Tranel D, Hyman BT. 1990. Neuropsychological correlates of bilateral amygdala damage. *Arch Neurol* 47(3):349-55.
- Tronel S, Fabre A, Charrier V, Oliet SH, Gage FH, Abrous DN. 2010. Spatial learning sculpts the dendritic arbor of adult-born hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(17):7963-8.
- Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. 2001. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50(4):707-9.
- Tully K, Li Y, Tsvetkov E, Bolshakov VY. 2007. Norepinephrine enables the induction of associative long-term potentiation at thalamo-amygdala synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(35):14146-50.
- Tulving E, Schacter DL, McLachlan DR, Moscovitch M. 1988. Priming of semantic autobiographical knowledge: a case study of retrograde amnesia. *Brain Cogn* 8(1):3-20.

U

- Uematsu A, Matsui M, Tanaka C, Takahashi T, Noguchi K, Suzuki M, Nishijo H. 2012. Developmental trajectories of amygdala and hippocampus from infancy to early adulthood in healthy individuals. *PLoS One* 7(10):e46970.
- Ulrich-Lai YM, Herman JP. 2009. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 10(6):397-409.

V

- Valkanova V, Ebmeier KP, Allan CL. 2013. CRP, IL-6 and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord*.
- Valladolid-Acebes I, Fole A, Martin M, Morales L, Victoria Cano M, Ruiz-Gayo M, Olmo ND. 2013. Spatial memory impairment and changes in hippocampal morphology are triggered by high-fat diets in adolescent mice. Is there a role of leptin? *Neurobiol Learn Mem* 106C:18-25.
- Van Hoesen GW. 1995. Anatomy of the medial temporal lobe. *Magn Reson Imaging* 13(8):1047-55.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH. 1999. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 2(3):266-70.
- Velloso LA, Araujo EP, de Souza CT. 2008. Diet-induced inflammation of the hypothalamus in obesity. *Neuroimmunomodulation* 15(3):189-93.
- Vendruscolo LF, Gueye AB, Darnaudery M, Ahmed SH, Cador M. 2010a. Sugar overconsumption during adolescence selectively alters motivation and reward function in adult rats. *PLoS One* 5(2):e9296.

- Vendruscolo LF, Gueye AB, Vendruscolo JC, Clemens KJ, Mormede P, Darnaudery M, Cador M. 2010b. Reduced alcohol drinking in adult rats exposed to sucrose during adolescence. *Neuropharmacology* 59(6):388-94.
- Vidrih B, Karlovic D, Pasic MB, Uremovic M, Mufic AK, Matosic A. 2012. A review of the psychoneuroimmunologic concepts on the etiology of depressive disorders. *Acta Clin Croat* 51(3):403-9.
- Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. 1999. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282(22):2131-5.
- Voorhees JL, Tarr AJ, Wohleb ES, Godbout JP, Mo X, Sheridan JF, Eubank TD, Marsh CB. 2013. Prolonged restraint stress increases IL-6, reduces IL-10, and causes persistent depressive-like behavior that is reversed by recombinant IL-10. *PLoS One* 8(3):e58488.
- Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22(15):6810-8.

W

- Wang H, Storlien LH, Huang XF. 2002. Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282(6):E1352-9.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. 2003. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 112(12):1785-8.
- West DB, Boozer CN, Moody DL, Atkinson RL. 1992. Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am J Physiol* 262(6 Pt 2):R1025-32.
- White CL, Pistell PJ, Purpera MN, Gupta S, Fernandez-Kim SO, Hise TL, Keller JN, Ingram DK, Morrison CD, Bruce-Keller AJ. 2009. Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: contributions of maternal diet. *Neurobiol Dis* 35(1):3-13.
- White NM, McDonald RJ. 2002. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiol Learn Mem* 77(2):125-84.
- Wiedemann MS, Wueest S, Item F, Schoenle EJ, Konrad D. 2013. Adipose tissue inflammation contributes to short-term high-fat diet-induced hepatic insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 305(3):E388-95.
- Winocur G, Greenwood CE. 2005. Studies of the effects of high fat diets on cognitive function in a rat model. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1:46-9.
- Wu A, Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. 2003. A saturated-fat diet aggravates the outcome of traumatic brain injury on hippocampal plasticity and cognitive function by reducing brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience* 119(2):365-75.
- Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. 2004. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci* 19(7):1699-707.

Y

- Yabaluri N, Bashyam MD. 2010. Hormonal regulation of gluconeogenic gene transcription in the liver. *J Biosci* 35(3):473-84.
- Yamada N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, Nakao K. 2011. Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity. *Endocrinology* 152(7):2634-43.

- Yamada-Goto N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, Nakao K. 2012. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *J Neuroendocrinol* 24(8):1120-5.
- Yang W, Kelly T, He J. 2007. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Rev* 29:49-61.
- Yates KF, Sweat V, Yau PL, Turchiano MM, Convit A. 2012. Impact of metabolic syndrome on cognition and brain: a selected review of the literature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(9):2060-7.
- Yirmiya R, Goshen I. 2011. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun* 25(2):181-213.
- Yoshihara F, Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Kangawa K. 2002. Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5(4):391-5.
- Yu H, Bi Y, Ma W, He L, Yuan L, Feng J, Xiao R. 2010. Long-term effects of high lipid and high energy diet on serum lipid, brain fatty acid composition, and memory and learning ability in mice. *Int J Dev Neurosci* 28(3):271-6.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, Lang CC, Rumboldt Z, Onen CL, Lisheng L and others. 2005. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* 366(9497):1640-9.

Z

- Zhao G, Ford ES, Li C, Tsai J, Dhingra S, Balluz LS. 2011. Waist circumference, abdominal obesity, and depression among overweight and obese U.S. adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *BMC Psychiatry* 11:130.