

Impact de la consommation précoce d'un régime hyperlipidique obésogène sur différents systèmes de mémoire

Yootana Janthakhin

► **To cite this version:**

Yootana Janthakhin. Impact de la consommation précoce d'un régime hyperlipidique obésogène sur différents systèmes de mémoire. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux, 2016. Français. NNT : 2016BORD0350 . tel-01552179

HAL Id: tel-01552179

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01552179>

Submitted on 1 Jul 2017

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.

THÈSE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

École doctorale des sciences de la vie et de la santé

Spécialité

NEUROSCIENCES

Soutenue publiquement le 13 Décembre 2016

Par

Yoottana JANTHAKHIN

**Impact de la consommation précoce d'un régime hyperlipidique
obésogène sur différents systèmes de mémoire**

Sous la direction du Dr. Guillaume FERREIRA

Membres du jury :

Dr. Giovanni MARSICANO, DR2 INSERM, Université de Bordeaux..... **Président**

Pr. Mouna MAROUN, Professeur, University of Haifa, Israel..... **Rapporteur**

Dr. Gaël MALLERET, CR1 INSERM, Université de Lyon..... **Rapporteur**

Dr. Guillaume FERREIRA, DR2 INRA, Université de Bordeaux..... **Directeur de Thèse**

Remerciements

Je tiens à remercier le Dr Giovanni Marsicano qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Je tiens à remercier également le Pr Mouna MAROUN et le Dr Gaël MALLERET pour avoir accepté d'être rapporteurs.

Je remercie le Dr Guillaume Ferreira de m'avoir encadré et pour son aide tout au long de ces trois années de thèse.

Je tiens à remercier le Dr Sophie Layé de m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

Je remercie également très chaleureusement tous les membres du laboratoire NutriNeuro.

Résumé

L'obésité est principalement due à la surconsommation d'aliments riches en énergie, en particulier les aliments hyperlipidiques (HL). En plus des comorbidités comme le diabète et les maladies cardiovasculaires, l'obésité est associée à des troubles émotionnels et cognitifs. La prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents augmente sans cesse et ceci est inquiétant car ce sont des périodes cruciales pour la maturation de structures cérébrales comme l'hippocampe et l'amygdale, indispensables à la mise en place des processus cognitifs et émotionnels pour le restant de la vie. Il est donc déterminant d'évaluer l'impact de la consommation d'un régime HL obésogène durant ces périodes développementales sur les processus cognitifs et émotionnels.

Dans une première étude nous mettons en évidence chez le rat que l'exposition à un régime HL durant la période périnatale (gestation et lactation) entraîne l'atrophie dendritique des neurones pyramidaux du CA1 de l'hippocampe et de l'amygdale basolatérale (BLA) des descendants adultes. Ces résultats sur l'hippocampe enrichissent les données comportementales déjà existantes indiquant des altérations de la mémoire dépendante de l'hippocampe suite au régime HL périnatal. Nous montrons également que les changements morphologiques du BLA s'accompagnent d'un déficit spécifique de la mémoire aversive olfactive, qui dépend fortement de l'intégrité du BLA. **Ceci démontre pour la première fois les effets délétères, cellulaires et comportementaux, d'un régime HL périnatal sur les fonctions amygdaliennes.**

La seconde étude se focalise sur les perturbations de la mémoire induites par la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence et vise à approfondir la compréhension des mécanismes impliqués. Dans un premier temps, nous montrons que la consommation d'un régime HL du sevrage à l'âge adulte (couvrant l'adolescence) chez la souris perturbe la consolidation de la mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) lorsque le contexte est nouveau lors de l'apprentissage. Ceci s'accompagne d'une libération plus importante de glucocorticoïdes au niveau circulant et d'endocannabinoïdes (eCB, anandamide en particulier) au niveau hippocampique chez les souris HL. Le blocage des récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) ou des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB₁R) juste après l'apprentissage améliore la MRO à long-terme des souris HL. Ces traitements normalisent également la sur-activation c-Fos de l'hippocampe suite à l'apprentissage chez les souris HL soulignant l'importance de cette structure. En effet, la délétion spécifique des CB₁R hippocampique améliore fortement la MRO à long-terme des souris HL et nous mettons en évidence que la plasticité synaptique *in vivo* de la voie CA3-CA1 hippocampique représente un mécanisme perturbé par l'activation des CB₁R suite à l'apprentissage chez ces souris. Enfin l'inactivation des neurones glutamatergiques hippocampiques par une approche pharmacogénétique (DREADD-Gi) améliore la MRO à long-terme chez les souris HL, de façon similaire au blocage ou à la délétion des CB₁R suggérant une levée d'inhibition de ces neurones par l'activation des CB₁R chez les souris HL qui conduirait à leur déficit de MRO à long-terme. Nos résultats indiquent que **la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence modifie le système eCB de l'hippocampe conduisant à des perturbations de la plasticité synaptique et de la consolidation de la mémoire.**

Dans leur ensemble ces données permettent d'améliorer notre compréhension des effets délétères de l'exposition précoces aux régimes HL obésogènes sur les fonctions mnésiques.

Mots clés : Enfance, Adolescence, Obésité, Régime Hyperlipidique, Hippocampe, Amygdale, Morphologie, Mémoire, Consolidation, Plasticité, Glucocorticoïde, Endocannabinoïde, Rat, Souris.

Abstract

Clinical and experimental studies have established that obesity, resulting mainly from consumption of energy-dense food such as high-fat diet (HFD), is associated with adverse cognitive and emotional outcomes. The prevalence of obesity during childhood and adolescence has reached epidemic levels. This is particularly worrisome since these periods are crucial for hippocampal and amygdala maturation, two brain structures necessary for shaping memory and emotional functions. It is thus critical to determine the impact of HFD exposure during these early developmental periods on memory and emotional processes.

First, we show that perinatal HFD exposure (throughout gestation and lactation), leads to dendritic shrinkage of pyramidal neurons in the CA1 of the hippocampus but also in the basolateral amygdala (BLA) in adult rats. These results add to the growing literature indicating changes in hippocampal-dependent memory after perinatal HFD exposure. Regarding amygdala, perinatal HFD exposure specifically impairs odor aversion memory, a task highly dependent on BLA function, without affecting olfactory or malaise processing. These results are the first to show that perinatal HFD exposure impairs amygdala functions, at cellular and behavioral levels.

Next, we investigated the cellular mechanisms underlying memory impairment induced by adolescent HFD consumption. We first show that HFD consumption from weaning to adulthood (covering adolescence) impairs long-term, but not short-term, object recognition memory (ORM) in novel context condition which was associated with higher circulating corticosterone and enhanced hippocampal endocannabinoid levels (anandamide in particular) in HFD-fed mice. Systemic post-training blockade of glucocorticoid receptors (GR) or cannabinoid receptors type 1 (CB1R) prevented HFD-induced memory deficits. These treatments also normalized training-induced c-Fos over-activation specifically in hippocampus in HFD group stressing the importance of this structure. Indeed, hippocampal CB1R deletion improved memory in HFD-fed mice. Moreover, we identified changes of *in vivo* hippocampal synaptic plasticity after training as a potential mechanism impaired by HFD in a CB1R-dependent manner. Finally, chemogenetic inhibition of hippocampal glutamatergic cells improved memory in HFD group similarly to CB1R deletion or blockade suggesting CB1R-dependent disinhibition of these neurons in HFD-fed mice. These results indicate that high-fat diet consumption during adolescence alters the hippocampal eCB system leading to impairment of hippocampal synaptic plasticity and deficit in recognition memory consolidation.

Taken together, our results provide new evidences of how HFD consumption during early developmental periods exerts its deleterious effects on cognitive functions and identify the endocannabinoid system as a potential target for treating cognitive impairment associated with obesity.

Keywords : Perinatal, Adolescence, Obesity, High-fat diet, Hippocampus, Amygdala, Structural and Synaptic plasticity, Glucocorticoids, Endocannabinoids, CB₁R, Memory, Consolidation, Rat, Mice.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	11
I. Obésité et régimes hyper-lipidiques	11
A. Obésité chez l'Homme	11
1. Définition et caractérisation	11
2. Prévalence et causes	11
3. Co-morbidités associées à l'obésité	12
B. Modèles de l'obésité chez les rongeurs	13
1. Modèles génétiques	13
2. Modèles induits par l'alimentation	15
3. Choix du régime	16
II. Obésité, axe corticotrope et système endocannabinoïde	16
A. Physiologie de l'axe corticotrope	16
1. Activation de l'axe corticotrope	16
2. Circulation et actions des glucocorticoïdes	18
3. Rétrocontrôle négatif	18
B. Glucocorticoïdes	19
1. Définition	19
2. Biosynthèse des glucocorticoïdes	20
3. Récepteurs aux glucocorticoïdes	21
<i>a. Récepteurs intracellulaires</i>	22
<i>b. Récepteurs membranaires</i>	23
4. Actions des glucocorticoïdes et du stress sur le cerveau	23
<i>a. Action du stress et des GC sur le remodelage structural de l'hippocampe</i>	24
<i>b. Action du stress et des GC sur la plasticité synaptique de l'hippocampe</i>	28
<i>c. Action du stress et des GC sur le remodelage structural de l'amygdale</i>	31
<i>d. Action du stress et des GC sur la plasticité synaptique de l'amygdale</i>	32
C. Obésité et la dérégulation de l'axe corticotrope	33
1. Rôle des glucocorticoïdes dans la prise alimentaire et le poids	33
2. Surpoids entraîne des dérégulations de l'axe corticotrope	34
D. Système endocannabinoïde en condition physiologique	36
1. Historique et caractérisation	36
2. Récepteur des cannabinoïdes	37
<i>a. CB₁</i>	37
<i>b. CB₂</i>	39
<i>c. Autres récepteurs des cannabinoïdes</i>	39
3. Leur synthèse, transport, et voies de dégradation	40
<i>a. Synthèse des eCB</i>	40
<i>b. Transport des eCB</i>	44
<i>c. Dégradation des eCB</i>	44
4. Signalisation centrale du CB ₁ et la modulation des fonctions synaptiques	44
<i>a. Voies de signalisation du récepteur CB₁- dépendant</i>	45

<i>b. Inhibition de la libération des neurotransmetteurs</i>	46
<i>c. Régulation des changements morphologiques neuronaux</i>	47
<i>d. Contrôle de la plasticité synaptique</i>	47
E. Système endocannabinoïde en condition d'obésité	51
1. Rôle du système eCB dans la prise alimentaire et la masse corporelle	51
2. Surpoids, obésité et perturbation du système eCB	52
III. Périodes périnatales et adolescence : Développement et maturation du cerveau	53
A. Période périnatale : Développement du cerveau	53
B. Période périnatale : une période de vulnérabilité	54
1. Concept des origines développementales de la santé	55
2. Surnutrition maternelle et développement du cerveau chez l'enfant	55
C. Adolescence : Définition et caractérisation	56
1. Chez l'Homme	56
2. Chez l'animal	57
D. Adolescence, une période de maturation	58
1. Maturation du cerveau	58
<i>a. Cortex préfrontal et contrôle de cognition</i>	59
<i>b. Hippocampe et mémoire épisodique</i>	60
<i>c. Amygdale et gestion des émotions</i>	61
2. Maturation de l'axe corticotrope	61
3. Système endocannabinoïde et adolescence	62
<i>a. Changements à l'adolescence</i>	62
<i>b. Impact d'une exposition aux cannabinoïdes à l'adolescence</i>	63
IV. Obésité et mémoire	64
A. Mémoire en condition physiologique	64
1. Différents systèmes de mémoire	64
<i>a. Généralité</i>	64
<i>b. Machinerie cellulaire de la consolidation</i>	65
<i>c. Proposition de classification de différents systèmes de mémoire</i>	66
2. Système hippocampique	68
<i>a. Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions</i>	68
<i>b. Hippocampe et mémoire</i>	70
3. Système amygdalien	73
<i>a. Cytoarchitecture de l'amygdale et connexions</i>	74
<i>b. Amygdale et mémoire</i>	76
B. Stress, glucocorticoïdes et mémoire	78
1. Stress et glucocorticoïdes et mémoire chez l'Homme	78
2. Effets des glucocorticoïdes sur la mémoire chez l'animal	79
<i>a. Hippocampe, une cible potentiel des GC</i>	79
<i>b. Amygdale, l'une des cibles des GC</i>	80
<i>c. Mécanismes par lesquels les GR affectent la consolidation de la mémoire</i>	81

C. Système endocannabinoïde et mémoire	83
1. Bases neuroanatomiques des effets des cannabinoïdes sur la mémoire	83
2. Signalisation intracellulaire, cannabinoïdes et mémoire	83
D. Rôle des eCB dans la modulation des effets du GC sur mémoire	84
E. Obésité, régime hyperlipidique et effets sur la mémoire	86
1. Altérations mnésiques	86
a. Chez l'Homme	86
b. Dans les modèles d'obésité chez le rongeur	86
c. Régimes HL à travers des périodes du développement	88
OBJECTIFS DE TRAVAUX DE THÈSE	93
Chapitre 1 : Impact de la consommation d'un régime HL maternel sur les fonctions hippocampiques et amygdaliennes	96
Article 1 : Perinatal high-fat diet exposure leads to alterations of neuronal morphology in the hippocampus and basolateral amygdala at adulthood.	
Chapitre 2 : Impact de la consommation d'un régime HL à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques et mécanismes impliqués	117
Article 1 : Adolescent high-fat diet intake impairs recognition memory consolidation through hippocampal endocannabinoid system.	
DISCUSSION GENERALE	149
Impact de la consommation d'un régime HL maternel sur les fonctions hippocampiques et amygdaliennes : mécanismes impliqués	150
Impact de la consommation d'un régime HL à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques : mécanismes impliqués	153
Laboratoire d'accueil et collaborations	159
Liste des publications	160
Liste des abréviations	162
Liste des figures et table	164
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	166

INTRODUCTION GENERALE

I. Obésité et régimes hyper-lipidiques

A. Obésité chez l'Homme

1. Définition et caractérisation

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit le surpoids et l'obésité comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé. L'indice de masse corporelle (IMC) est un moyen simple de mesurer l'obésité dans la population : il correspond au poids de la personne (en kilogrammes) divisé par le carré de sa taille (en mètres). Une personne ayant un IMC de 30 ou plus est généralement considérée comme obèse. Une personne dont l'IMC est égal ou supérieur à 25 est considérée comme étant en surpoids (OMS).

Bien que préconisé par l'OMS, car utile pour mesurer le surpoids et l'obésité dans une population, l'IMC reste un outil de mesure du rapport poids/taille qui ne reflète pas le degré d'adiposité (ou l'accumulation de graisse) de l'individu. En effet, alors qu'un poids excessif donnera un IMC élevé catégorisant l'individu comme obèse, il n'y a pas de strict équivalent entre poids et obésité vu que le poids de l'individu inclut sa masse grasse, le poids de ses tissus osseux, musculaires, ainsi que l'eau dans son organisme.

Il existe un autre indicateur de surpoids qui tient compte plus spécifiquement l'accumulation de graisse de l'individu. 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 est différent suivant le sexe de l'individu. 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) alors que les hommes ont un profil dit androïde, avec une 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 du tissu adipeux viscéral, représentent un facteur de risque important pour les co-morbidités associées à l'obésité. Au contraire, l'obésité gynoïde et l'accumulation de tissu adipeux sous cutané sont moins délétères (Blouin *et al*, 2008; Shi and Clegg, 2009).

2. Prévalence

L'obésité est maintenant considérée comme pandémique. En effet, sa prévalence ne cesse d'augmenter, notamment dans les zones urbaines des pays à revenus moyens. Les dernières

estimations de l’OMS, en 2014 font état de plus de 1,9 milliard d’adultes (plus de 18 ans) en surpoids, dont 600 millions d’obèses. En France, le nombre d’obèses a été multiplié par plus de 1,6 en 10 ans, et on recense actuellement plus de 30% de personnes en surpoids auxquels s’ajoutent 15% d’obèses dans la population française adulte.

Chez l’enfant, la prévalence du surpoids et l’obésité s’accroît de manière encore plus alarmante. En 2014, l’OMS estimait que 41 millions d’enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses. Or les enfants et les 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. La prévention de l’obésité chez les enfants et les adolescents apparaît comme l’un des plus grands défis pour la santé publique (OMS).

La cause fondamentale de l’obésité et du surpoids est un déséquilibre énergétique entre les calories consommées et dépensées. En effet, suite aux changements sociaux, économiques et culturels, les habitudes alimentaires ont évolué vers une consommation des aliments hyper-caloriques (riches en lipide et en sucre simple). Le mode de vie actuel favorise notamment la prise de repas de type ‘cafétaria’, ‘fast-food’ ou ‘à emporter’, surtout chez les adolescents, ainsi que la destruction des repas, avec la consommation d’aliments à forte valeur énergétique en dehors des repas (Jaworowska *et al.*, 2013).

Il est important de noter que la surconsommation n’est pas la seule cause d’augmentation du surpoids. La diminution de l’activité physique due à la sédentarisation et l’urbanisation de population entraîne une diminution de dépense énergétique (Oppert and Charreire, 2012) et ceci participe au surpoids. Par ailleurs, avec une même alimentation et une même pratique physique, la prise de poids varie selon individus et dépend notamment de leur métabolisme (flore microbienne, acteurs endocriniens...). La vulnérabilité au développement de l’obésité implique donc l’interaction entre plusieurs facteurs par exemple les facteurs génétiques et environnementaux (Speakman and O’Rahilly, 2012).

De plus, le rythme de vie dans les sociétés actuelles se traduit par une augmentation de stress. Le stress favorise la prise de poids, par son effet sur le métabolisme des hormones sécrétées, ainsi qu’en engendrant une réorientation alimentaire vers des aliments gras et sucrés (théorie de la *comfort food*).

3. Co-morbidités associées à l’obésité

La hausse de l’IMC est un facteur de risque majeur pour certaines maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires (principalement les cardiopathies et les accidents

vasculaires cérébraux), qui étaient la première cause de décès en 2012. L'hypercholestérolémie, l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie sont de facteurs de risque qui peuvent conduire au développement du diabète de type 2. Lorsqu'au moins 3 des 5 symptômes sont présents chez le même individu (surpoids, hypertension artérielle, hypercholestérolémie, hyperglycémie et hyperinsulinémie), on parle alors de syndrome métabolique. Le surpoids et l'obésité sont également responsables de certaines formes de cancers.

L'indice le plus prédictif du risque de manifester ces comorbidités associées au surpoids est le RTH (Dagenais *et al*, 2005; Yusuf *et al*, 2005). La possibilité de développer des complications secondaires à l'obésité est corrélée avec la distribution androïde de masse grasse et l'accumulation de tissu adipeux viscéral (Matsuzawa *et al*, 1995).

B. Modèles de l'obésité chez les rongeurs

1. Modèles génétiques

a. les souris KK-A^y

La souche de souris KK est un modèle de résistance à l'insuline et d'intolérance au glucose au niveau périphérique, qui se traduit par une obésité modérée et le développement de diabète. Les origines du développement de l'obésité et diabète chez les souris KK sont considérées comme polygéniques. Cependant lorsque la mutation du gène d'Agouti (A^y) est introduite chez la souche KK, le développement du diabète est plus prononcé. Le gène A^y est exprimé d'une manière ubiquitaire chez les souris KK-A^y et la protéine agouti se comporte comme un antagoniste des récepteurs mélanocortines 4 et donc inhibe les signaux de l'hormone alpha-melanocyte stimulating (α -MSH) qui régule la balance énergétique. Le poids corporel de ces souris se stabilise à l'âge de 4-5 mois avec le poids moyen de 50-60 g. A cet âge là, la masse grasse représente approximativement 33% du poids total. Vu que l'obésité est partialement causée par hyperphagie, la restriction alimentaire permet d'établir le poids normal. Cependant les souris KK-A^y présentent un phénotype incluant l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'intolérance au glucose, ce qui en fait plutôt un modèle du diabète de type 2 (Butler and Gerritsen, 1970).

b. les souris ob/ob

La souris ob/ob est un modèle d'étude de l'obésité monogénique et du diabète. Ces souris n'expriment pas de la leptine, hormone anorexigène, ce qui engendre une absence de satiété et donc une augmentation de la prise alimentaire. L'obésité observée chez ces souris est due à une augmentation de la lipogenèse, suivi du développement d'une hyperinsulinémie, puis d'une résistance à l'insuline, ce qui est en effet un bon modèle d'étude d'état pré-diabétique et du diabète. Cependant, l'obésité chez l'homme est caractérisé par une hyper-sécrétion de la leptine et/ou une résistance à la leptine, et non par une absence de leptine.

c. les souris db/db

Les souris db/db portent une mutation des récepteurs de la leptine (Hummel *et al*, 1966). Elles présentent des phénotypes similaires à ceux des souris ob/ob mais avec la prise du poids et l'apparition de l'obésité plus importante. Les co-morbidités associées sont une hyperglycémie sévère, une résistance à l'insuline, un diabète de type 2 mais aussi des troubles cardiovasculaires. Par ailleurs, ces souris sont résistantes aux traitements par la leptine. Elles sont par conséquent, un modèle plus proche de l'obésité chez l'Homme.

d. les rats Zucker

Les rats Zucker sont communément utilisés comme modèle d'obésité chez les rats. Ces rats présentent une mutation récessive autosomique du gène *fa* (fatty-gene). La mutation homologue de ce gène entraîne une apparition de l'obésité d'une manière précoce due à la désensibilisation des récepteurs à la leptine. Les rats Zucker obèses sont hyperphagiques et ont une diminution de la dépense énergétique conduisant à un développement de l'obésité très précoce dans leur vie. Malgré la présence des taux élevés en leptine circulante, ces rats sont hyperphagiques. D'autres peptides orexigéniques comme la neuropeptide Y, la galanine, et l'orexine sont également sur-régulés chez ces rats. En plus d'une obésité, ces rats développent une résistance à l'insuline mais les taux glycémiques restent normaux et ils ne développent pas de diabète. En considérant cet aspect là, les rats Zucker présentent de fortes similarités avec la majorité de la population obèse chez l'Homme.

e. les limites des modèles génétiques

Les modèles génétiques sont utiles pour la compréhension des mécanismes de la mise en place de l'obésité et des co-morbidités associées. Toutefois, l'obésité génétique représente seulement moins de 1% des cas d'obésité chez l'homme. De plus, l'obésité actuelle dépend d'une interaction entre facteurs génétiques et environnementaux (Nilsson *et al*, 2012).

Par ailleurs, dans la plupart de ces modèles génétiques, l'obésité est accompagnée du syndrome métabolique, pouvant aller jusqu'au développement du diabète de type 2. Par conséquent, il est difficile de dissocier les effets de l'obésité elle-même de ceux des comorbidités, en particulier ceux du diabète dont on connaît les effets sur la cognition.

2. Modèles induits par l'alimentation

Les modèles d'obésité monogénique chez les rongeurs sont utiles car l'obésité (et l'adiposité) engendrée est souvent sévère. Cependant les modèles monogéniques en particulier le modèle de la déficience du système de la leptine n'est pas représentatif de l'obésité humaine. Ainsi, les modèles de l'obésité induite par le régime alimentaire (DIO pour *diet-induced obesity*) représentent un modèle plus proche de l'obésité chez humain. En effet, chez l'Homme le surpoids est principalement la conséquence de la dérégulation de la balance énergétique, induit notamment par la consommation d'un régime hypercalorique.

Lors d'une exposition aux divers régimes, il apparaît que, chez les rongeurs, certains individus prennent du poids suite à la consommation d'un régime proposé, d'autres se maintiennent à un poids normal, présentant donc une résistance à l'induction de l'obésité par le régime. Par exemple, chez les souris, la souche C57BL6/J est généralement considérée comme une souche vulnérable alors que les souches A/J et SWR/J présentent un phénotype résistant au régime obésogène (Surwit *et al*, 1995; West *et al*, 1995). Il y a également, chez les rats, des souches considérées résistantes à l'obésité induite par le régime hyperlipidique comme les rats S5B/PI et Lou/C alors que d'autres sont sensible au régime comme les rats Wistar, Sprague-Dawley et Long Evans (Schemmel *et al*, 1972). Donc il est évident que le fond génétique joue un rôle dans la prise du poids suite à la consommation d'un régime hypercalorique.

Le régime occidental (*western diet*) contient de forts taux en lipides et carbohydrate. L'induction de l'obésité par le régime varie en fonction de la provenance et la quantité des calories apportées. Par exemple, pour le régime contenant 42% des calories (kcal) provenant des lipides, si la source de lipides proviennent du lard, l'obésité et la résistance à l'insuline sont plus prononcées qu'en utilisant de l'huile de coco ou de poisson (Buettner *et al*, 2006).

Un autre type de régime utilisé pour induire le surpoids et l'obésité chez le rongeur est le régime dit « cafétaria », qui consiste à exposer les animaux à un mélange d'aliments palatables (chocolat, biscuits, fromage,...). Ce type de régime présente l'avantage d'être très palatable et plus semblable à la situation d'alimentation humaine. Cependant, ce régime est critiquable par rapport à la standardisation des contenus nutritionnels.

Aussi, les régimes les plus souvent utilisés pour induire l'obésité chez les rongeurs sont les régimes D12451 et D12492 de chez Research Diet dont 45% et 60% des kcals proviennent de lipides saturés issus du lard. Il y a également des apports en sucres (en particulier 17% de sucrose pour le D12451).

3. choix du régime

Dans ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés aux effets de la consommation d'un régime hyperlipidique D12451 qui a pour avantage d'apporter des calories provenant des lipides et essentiellement du lard mais aussi des glucides simples (sucrose) modélisant plus fidèlement les apports caloriques actuels chez l'Homme, sans pour autant induire de diabète de type 2. Par ailleurs, ce régime induit une obésité modérée, ce qui permet d'être représentatif d'une plus grande partie de la population actuelle, et s'accompagne de modification de l'axe du stress et de troubles cognitifs qui font l'objet de cette thèse.

II. Obésité, axe corticotrope et système endocannabinoïde

A. Physiologie de l'axe corticotrope

1. Activation de l'axe corticotrope

Quand le cerveau détecte un signal de danger, l'ensemble des réponses physiologiques impliquant des composants du système autonome, neuroendocrinien, métabolique, et immunitaire est activé. Un système clé dans la réponse au stress est l'axe corticotrope (axe HPA pour *hypothalamus-pituitary-adrenal*) qui est composée de 3 structures principales : l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales (Lupien *et al*, 2009) (Figure 1). Le point de départ de l'activation de l'axe HPA a lieu au niveau de l'hypothalamus et plus précisément dans le noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus. L'hypothalamus est le centre intégrateur de l'axe et reçoit des afférences provenant des centres supérieurs comme le cortex préfrontal, l'hippocampe et l'amygdale (Herman *et al*, 2003). Au niveau physiologique, l'axe HPA s'active de manière autonome en suivant un rythme circadien, mais aussi suite à certaines stimulations induisant des modifications de l'homéostasie (sommeil, prise alimentaire). Par ailleurs, un stress systémique (stress provenant de stimuli interne comme une hémorragie ou une hypoxie) ou un stress psychologique (nécessitant une

intégration des stimuli sensoriels externes comme un stress social, la contention) provoque une forte activation de l'axe HPA.

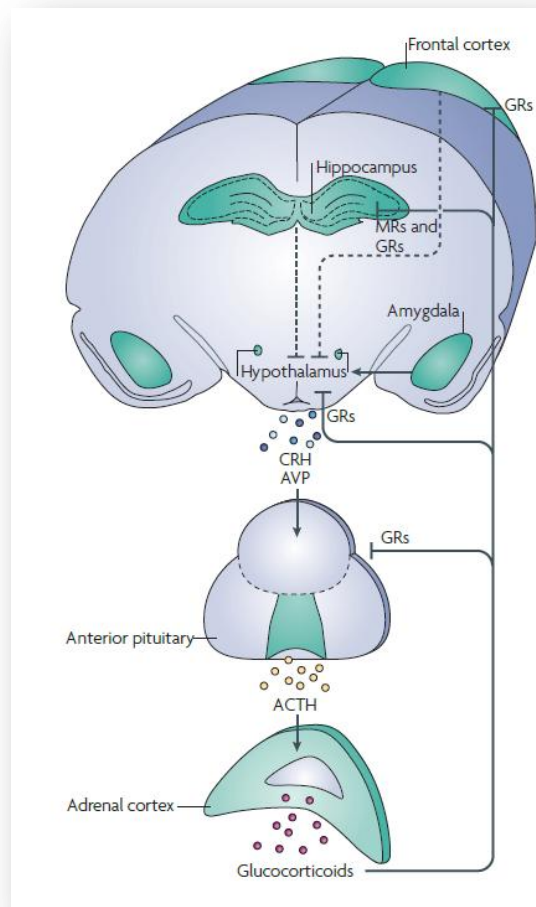


Figure 1. Organisation fonctionnelle de l'axe corticotrope. L'activation de l'axe corticotrope est initiée au niveau du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) par la réception d'information provenant en particulier de l'amygdale. Le PVN répond par la libération de la corticolibérine (CRH) et de l'arginine vasopressine (AVP) qui vont alors stimuler la sécrétion d'adrénocorticotropine (ACTH) dans l'hypophyse antérieure. L'ACTH va agir au niveau du cortex des glandes surrénales et induire la synthèse et la libération des glucocorticoïdes (GC, le cortisol chez l'Homme et la corticostérone chez le rongeur), de l'adrénaline et de la noradrénaline dans la circulation sanguine. Ces hormones vont induire la réponse adaptative de l'organisme au stress, en augmentant la vigilance, 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 ou flight). Des mécanismes rétrocontrôles négatifs sont ensuite mis en place pour assurer la régulation de l'axe corticotrope impliquant des actions des GC au niveau de l'hypophyse, l'hypothalamus, l'hippocampe ainsi qu'au niveau du cortex frontal (Adapté de Lupien et al., 2009.)

2. Circulation et actions des glucocorticoïdes

Une fois libérée dans la circulation sanguine, 80-90% des GC se lient à la transcortine (ou CBG pour corticosteroid binding globulin) qui présente une forte affinité mais faible capacité de rétention des GC. Environ 15% des GC se fixent à l'albumine avec une faible affinité. Cette forme liée des GC est inactive, mais constitue une réserve plasmatique bio-disponible de l'hormone. Les 5-10% restants des GC restent libres, et représentent une forme active de l'hormone (Breuner and Orchinik, 2002).

Ce sont les GC libres qui vont agir sur leurs récepteurs. Les récepteurs aux GC sont les récepteurs mineralocorticoïdes (MR) et les récepteurs glucocorticoïdes (GR). Les GR ont une faible affinité pour la corticostérone et ils sont occupés seulement pendant le stress ou au moment du pic circadien, où les taux des GC sont élevés. Au contraire, les MR ont une forte affinité pour la corticostérone (10 fois supérieure par rapport aux récepteurs GR) et ils sont saturés en condition basale (Reul and de Kloet, 1985). Les actions découlant de l'activation de l'axe HPA suite à un stress implique donc les GR, tandis que les MR sont impliqués dans les conséquences de l'activation basale de l'axe corticotrope (de Kloet *et al*, 2005).

3. Rétrocontrôle négatif

Les GC sont capables de contrôler leur propre sécrétion en exerçant un rétrocontrôle négatif sur la production de CRH et d'ACTH (Figure 1). Ce rétrocontrôle négatif implique à la fois des actions rapides non-génomiques et actions génomiques au niveau de l'hypophyse et de multiples sites dans le cerveau permettant de limiter la production d'hormone par cet axe, donc réduisant la durée d'exposition des tissus cibles aux GC. En effet, une exposition prolongée aux GC, comme dans le cadre d'un stress chronique, est délétère pour l'organisme.

Le premier niveau du rétrocontrôle négatif se fait par l'ACTH, qui inhibe la libération de l'arginine vasopressine (AVP), et donc inhibe sa propre libération. Le second niveau du rétrocontrôle se fait par l'action des GC libres sur les GR présents au niveau de l'hypophyse, de l'hypothalamus et des structures cérébrales du système limbique (l'amygdale, le cortex préfrontal médian (CPFm) et l'hippocampe).

Ainsi un implant de corticostérone dans l'hippocampe diminue la libération d'ACTH (Kova'cs and Makara, 1988). Par ailleurs, l'infusion de dexaméthasone (GC synthétique) dans l'hippocampe ou le CPFm diminue la libération des GC par l'axe HPA (Mizoguchi *et al*, 2003). Au contraire, les études des lésions de l'hippocampe montrent une hypersécrétion des

GC au niveau basal (Fendler *et al*, 1961; Knigge and Hays, 1963), mais aussi suite à un stress (Ulrich-Lai and Herman, 2009). Les effets inhibiteurs de l'hippocampe sur le PVN seraient indirects et transmis par les neurones glutamatergiques en provenance du subiculum ventral de l'hippocampe qui projettent sur des neurones GABAergiques innervant le PVN.

A l'inverse de l'hippocampe du CPFm, la stimulation de l'amygdale augmente la biosynthèse (Saito *et al*, 1989) et la libération des GC (Redgate and Fahringer, 1973). Inversement, des lésions de l'amygdale diminuent la sécrétion des GC suite à des stimuli stressants (Feldman and Conforti, 1981; Knigge, 1961). Par ailleurs, les GC vont agir sur les GR de l'amygdale et provoquer une sécrétion de CRH, qui se traduira par le maintien de l'activation de l'axe HPA et la libération des GC. En effet, le blocage des GR de l'amygdale par l'injection de mifepristone (antagoniste de GR) diminue la libération des GC (Herman *et al*, 2012). L'ensemble de ces mécanismes induits par les GC permettent donc de réguler l'activation de l'axe HPA.

B. Glucocorticoïdes

1. Définition

Les GC sont des hormones stéroïdiennes dérivées du cholestérol et synthétisés par les glandes corticosurrénales. Le GC majoritaire est le cortisol chez l'Homme et la corticostérone chez le rongeur (Figure 2).

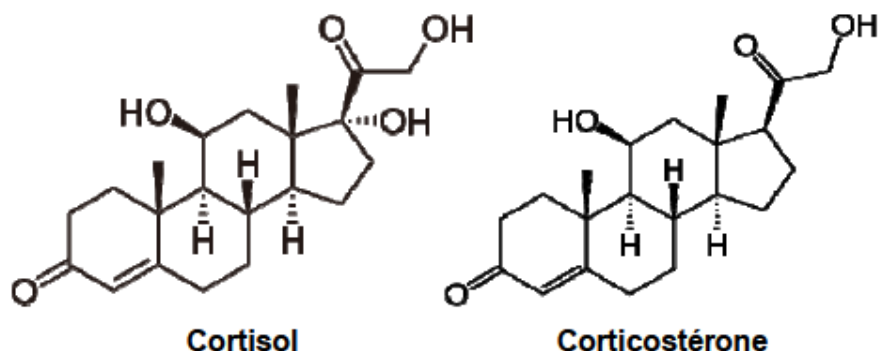


Figure 2. Structure chimique du cortisol et de la corticostérone.

Comme toutes hormones, les GC une fois libérés diffusent dans l'ensemble de l'organisme par la circulation sanguine pour agir à distance de leur site de production en se fixant sur leurs récepteurs. Les GC font partie de la classe des hormones dérivées des lipides et sont donc lipophiles. Cette propriété leur confère la capacité de traverser la bicouche lipidique des cellules, de ne pas être stockées au sein de la cellule mais d'être immédiatement libérées après leur synthèse, ainsi que d'entrer facilement dans le cerveau en passant la barrière hémato-encéphalique.

2. Biosynthèse des glucocorticoïdes

La synthèse des GC a lieu dans les cellules de la zone fasciculée des glandes surrénales. Des réactions enzymatiques successives permettent de transformer le cholestérol en cortisol/corticostérone (Figure 3). Cette voie de biosynthèse des GC est activée par l'ACTH en se fixant sur des récepteurs spécifiques surrénaux.

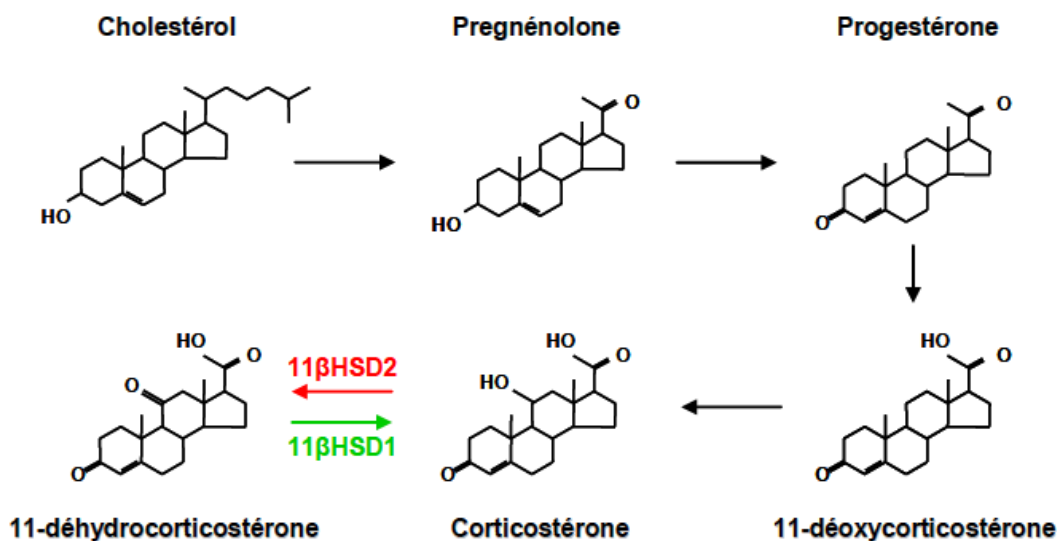


Figure 3. Biosynthèse de la corticostérone. La corticostérone est synthétisée à partir du cholestérol via une modification de la chaîne latérale et des réactions d'oxydoréduction successives. La corticostérone est en état d'équilibre avec son métabolite inactif (11-déhydrocorticostérone) par les actions des isoenzymes 11-β hydroxydésydrogénases de type 1 et 2 (Adapté de de Boeck, 2008).

La forme active (cortisol ou corticostérone) est en équilibre avec son métabolite inactif (cortisone ou 11-déhydrocorticostérone, respectivement) qui a subi une déshydrogénation sur le carbone 11 de la molécule. Deux isoformes de l'enzyme 11-β hydroxydésydrogénase (11 βHSD) catalyse les réactions d'interconversion entre ces formes actives et inactives (Figure

3). L'isoenzyme 11 β HSD de type 1 (11 β HSD1) possède une activité réductase qui est capable de catalyser la conversion de la forme inactive en forme active. Elle est présente dans de nombreux tissus cibles des GC, tels que le foie, le tissu adipeux, les muscles et le système nerveux central. Au contraire, l'isoenzyme 11 β HSD de type 2 (11 β HSD2) possède une activité déshydrogénase, conduisant à la forme inactive de l'hormone. Cette enzyme est présente dans les tissus périphériques (rein, côlon et glandes salivaires) mais pas dans certaines structures cérébrales telles que l'hippocampe.

3. Récepteurs aux glucocorticoïdes

a. Récepteurs intracellulaires

Les GC agissent sur leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. Deux types de récepteurs intracellulaires distincts ont été identifiés dans les tissus cibles périphériques ainsi que dans le cerveau : le récepteur aux minéralocorticoïdes (MR, ou récepteur de type I) et le récepteur aux glucocorticoïdes (GR, ou récepteur de type II) ;(De Kloet *et al*, 1998; Reul and de Kloet, 1985). Ces récepteurs ont une demi-vie relativement longue par rapport à celle des GC (90min) : environ 20 à 30h en absence de ligand.

Dans le cerveau, l'expression des MR est confinée au niveau du système limbique notamment dans l'hippocampe, l'amygdale et l'hypothalamus. Par contre, la distribution des GR est ubiquitaire avec une forte densité dans l'hippocampe, l'hypothalamus et l'amygdale. Les deux types de récepteurs se retrouvent alors co-localisés dans des neurones des structures du système limbique et surtout dans l'hippocampe. C'est notamment le cas des neurones du CA1 et du gyrus denté (Joëls, 2007). Il y a aussi une différence de répartition des récepteurs le long de l'axe dorso-ventral de l'hippocampe : les MR sont deux fois plus nombreux dans l'hippocampe ventral que dans l'hippocampe dorsal, alors que les GR sont trois fois plus nombreux dans l'hippocampe dorsal que dans l'hippocampe ventral (Robertson *et al*, 2005).

Les GC exercent leurs actions en se fixant sur leurs récepteurs cytoplasmiques qui possèdent plusieurs domaines fonctionnels incluant un domaine de fixation au ligand, un domaine de fixation à l'ADN et deux domaines impliqués dans l'activation des gènes, une fois que la fixation à l'ADN a eu lieu, via une association avec d'autres protéines (Karin, 1998). Les GR et MR sont donc des facteurs de transcription. Dans un état inactif, les GR et MR sont fixés à un complexe protéique composant de protéines chaperonnes HSP. Ces complexes protéiques empêchent la localisation nucléaire des ces récepteurs qui ne sont pas occupés par le GC. En revanche, la liaison de l'hormone GC à son récepteur induit la

phosphorylation et un changement conformationnel du récepteur, entraînant la dissociation du récepteur avec ses protéines chaperonnes. Les récepteurs sont donc actifs et peuvent être transférés dans le noyau, où ils se fixent directement sur l'ADN au niveau d'une séquence GRE ou nGRE et interagissent avec d'autres facteurs de transcription nucléaire afin de réguler la transcription de gènes cibles (Figure 4).

Les GC peuvent également transférer les GR avec la protéine anti-apoptotique (Bcl-2) vers la mitochondrie où le complexe GC-GR-Bcl-2 favorise la séquestration du calcium, régule l'oxydation mitochondriale et la formation des radicaux libres. A noter que les taux élevés de GC causent une défaillance de ce mécanisme entraînant une augmentation de la formation des radicaux libres (Du *et al*, 2009). La localisation du GR joue un rôle important dans plusieurs mécanismes physiologiques, le niveau d'expression du GR est également important dans tels mécanismes. Les modèles génétiques animaux induisant une surexpression du GR dans la télencéphale provoque des troubles émotionnels (Wei *et al*, 2004) alors que les animaux déficients en GR ont des effets opposés (Jacobson, 2014).

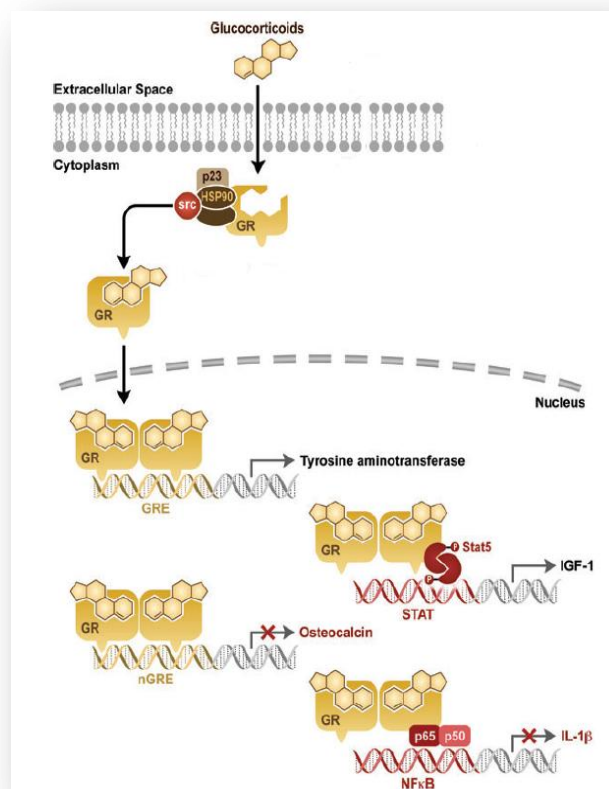


Figure 4. Mécanismes d'action des récepteurs au GC : exemple du GR. Les GC se fixent sur leurs récepteurs cytoplasmiques GR qui se transfèrent dans le noyau, où ils se fixent directement sur l'ADN au niveau d'une séquence GRE ou nGRE ou interagissent avec d'autres facteurs de transcription

nucléaire afin de réguler la transcription de ces gènes cibles (Adapté de Revollo and Cidlowski, 2009).

b. Récepteurs membranaires

Récemment, des récepteurs aux GC ont été mis en évidence au niveau membranaire (mGR et mMR). Ce type de récepteur appartient aux récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Ils sont responsables des effets rapides non-génomiques des GC sur différents types de cellules et tissus aussi bien que sur les réponses comportementales dans différentes espèces de vertébrés. Les tissus et les systèmes cibles des effets rapides non-génomiques des GC sont le muscle, le pancréas, le cœur, le tissu adipeux, le système immunitaire et le cerveau. Dans ce travail de thèse, nous nous concentrons sur les effets cellulaires rapides des GC sur le cerveau chez les vertébrés.

Il a été démontré que les effets rapides non-génomiques des GC au niveau du PVN sont dépendants de l'activation de la protéine Gs, suggérant la régulation positive de la production de l'AMPC par les GC (Malcher-Lopes *et al*, 2006). De récentes études montrent que les GC peuvent induire, via leurs récepteurs membranaires, la synthèse et la libération des endocannabinoïdes (eCB) de cellules neuroendocriniennes du PVN (Di *et al*, 2003; Malcher-Lopes *et al*, 2006). Dans l'hippocampe, certaines évidences ont montré que les GC, via leurs effets rapides non-génomiques, augmentent la transmission glutamatergique (Karst *et al*, 2005a), régulent le trafic membranaire des récepteurs AMPA (Chaouloff and Groc, 2011; Groc *et al*, 2008; Krugers *et al*, 2010), augmentant ainsi la transmission et la plasticité synaptique dans l'hippocampe.

4. Actions des glucocorticoïdes et du stress sur le cerveau

Il y a 2 moyens de répondre au stress. D'un côté, le corps répond face à des événements stressants en libérant des médiateurs chimiques, par exemple, les catécholamines qui augmentent la pression sanguine et les battements du cœur. Ces médiateurs chimiques nous permettent de nous adapter de manière appropriée selon les situations avec des actes simples comme grimper l'escalier ou sortir du lit le matin. D'un autre côté, une élévation chronique de ces médiateurs, provoquant entre autres une augmentation chronique de la pression sanguine et des battements du cœur, pourrait induire des effets délétères.

A cause des actions paradoxales de ces médiateurs chimiques (protecteur de l'organisme mais aussi capable d'engendrer des dommages), le mot *stress* présente des ambiguïtés et des connotations qui ne facilite pas son utilisation précise. Le terme *allostasie* a alors été introduit par Sterling et Eyer, référant à un processus actif avec lequel le corps répond à des événements quotidiens pour maintenir l'homéostasie. Seulement quand l'allostasie s'active de manière chronique, celle-ci pourrait conduire à la physiopathologie ou à la *charge allostatique*.

Le cerveau est considéré comme une cible du stress et des hormones du stress. L'hippocampe, possédant la plus forte densité de GR, est l'une des structures cérébrales les plus vulnérables aux effets du stress et des GC. Une meilleure compréhension des effets du stress et des GC sur l'hippocampe dans les conditions physiologiques permettrait de mieux expliquer les mécanismes physiopathologiques liés au stress et aux hormones du stress.

a. Action du stress et des GC sur le remodelage structural de l'hippocampe

En plus des effets rapides via les récepteurs, les hormones de stress peuvent également agir en changeant la morphologie des neurones. Comme déjà mentionné au-dessus, l'hippocampe est une des régions cérébrales les plus sensibles et vulnérables aux effets du stress et des GC. Au sein de l'hippocampe, les neurones du gyrus denté (DG) reçoivent des afférences en provenance du cortex entorhinal. Une cellule granulaire du DG innerve en moyenne 12 neurones du CA3 et chaque neurone du CA3 innerve approximativement 50 autres neurones pyramidaux du CA3 ainsi que les cellules inhibitrices. Les cellules du CA3 projettent alors sur le CA1. Le résultat de ce phénomène est une amplification de 600 fois de la transmission excitatrice et de 300 fois de la transmission inhibitrice, fournissant un certain degré de contrôle du système (McEwen, 1999).

L'équilibre du système DG-CA3-CA1 dépend d'une régulation structurale de chaque sous-région de l'hippocampe; alors que de nouveaux neurones naissent encore à l'âge adulte dans le DG (voir ci-dessous), les neurones pyramidaux du CA3 et CA1 subissent un remodelage réversible de leurs dendrites face à des conditions particulières comme le stress chronique, la restriction alimentaire et une augmentation importante de l'activité physique.

La couche sous-granulaire du DG contient des cellules qui partagent certaines propriétés des astrocytes et donnent naissances aux neurones granulaires (Kempermann and Gage, 1999; Seri *et al*, 2001). Chez le rat adulte, 9000 nouveaux neurones sont produits chaque jour dont la moitié environ survit au-delà de 28 jours (Cameron and McKay, 2001). La production de

nouveaux neurones dans le DG est nommée la neurogenèse adulte. Il existe plusieurs modulateurs hormonaux, neurochimiques et comportementaux de la neurogenèse dans le DG incluant l'estradiol, l'IGF-1, les anti-dépresseurs, l'exercice volontaire et l'apprentissage dépendant de l'hippocampe (Aberg *et al*, 2000; Czéh *et al*, 2001; Trejo *et al*, 2001). Différents systèmes neurochimiques peuvent réguler la neurogenèse comme les acides aminés excitateurs (principalement le glutamate), la sérotonine, la norépinephrine, les benzodiazépines, les opioïdes endogènes, le BDNF, l'IGF-I et les GC (Figure 5). En rapport avec le stress, certains types de stress aiguë et chronique diminuent la neurogenèse ou la survie des neurones dans le DG.

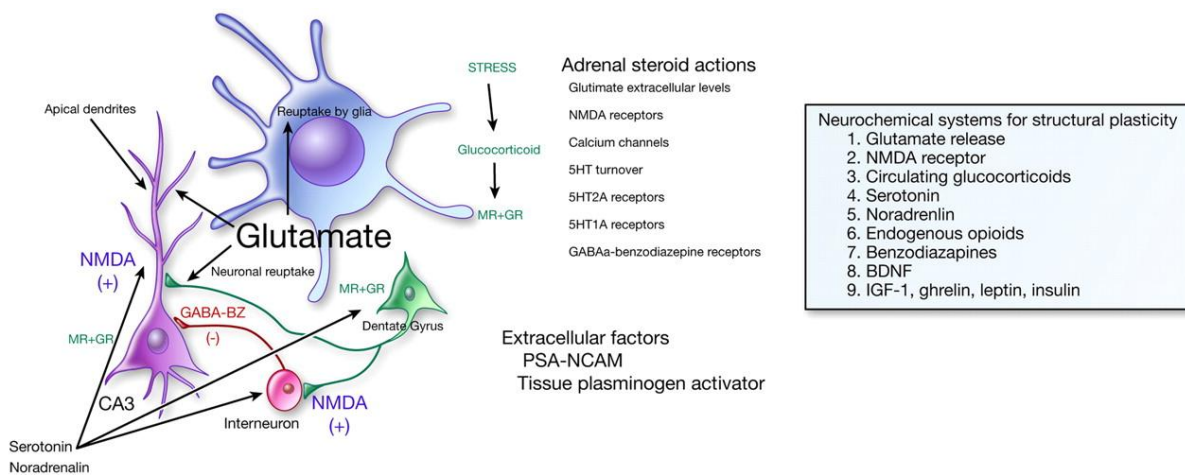


Figure 5. La plasticité structurale au sein de l'hippocampe. *La plasticité structurale dans l'hippocampe repose sur la synaptogenèse, la neurogenèse et le remodelage dendritique impliquant les interactions fonctionnelles des GC avec d'autres systèmes neurochimiques tels que le glutamate (Adapté de McEwen, 2007).*

Alors que la production de nouveaux neurones dans le DG agit comme une plasticité structurale locale, les neurones du CA3 et du CA1 subissent un remodelage de leurs dendrites en réponse aux stimuli comme le stress. Il a été montré que le stress chronique de contention (pendant 21 jours) ou de défaite sociale provoque une diminution de la complexité dendritique des neurones du CA3 et du CA1 de l'hippocampe (McEwen, 1999; Sousa *et al*, 2000); (McKittrick *et al*, 2000). Par ailleurs, les épines géantes sur les neurones pyramidaux du CA3 sont également affectées par le stress chronique de contention (Stewart *et al*, 2005). De manière intéressante, l'apprentissage en piscine de Morris permet de corriger ces altérations induites par le stress chronique (Stewart *et al*, 2005).

Concernant les mécanismes moléculaires et cellulaires qui pourraient être impliqués dans le remodelage structural, les GC sont des médiateurs importants suite à un stress chronique. Le rôle des GC implique des interactions avec certains systèmes neurochimiques au sein de l'hippocampe comme le système glutamatergique, sérotoninergique ou opioïde (McEwen, 1999 ; Figure 5).

Au centre de toutes ces interactions est le glutamate. La libération du glutamate par la voie des fibres moussues joue un rôle important dans le remodelage des dendrites des neurones du CA3 et du CA1 de l'hippocampe. La régulation de la libération du glutamate par les GC pourrait donc avoir un impact profond sur le remodelage des dendrites. Par exemple, il est connu que l'excès d'activité glutamatergique, associée à une sécrétion exagérée des GC lors d'une ischémie ou d'un traumatisme crânien, est responsable de la perte neuronale (Sapolsky *et al*, 1986). Le stress aigu de contention s'accompagne d'une augmentation des taux de glutamate extracellulaire dans l'hippocampe qui est absente chez les animaux surrénalectomisés suggérant implication des GC dans cet effet (Lowy *et al*, 1993). En effet, l'activation des MR et GR membranaires par la corticostérone induit la libération de glutamate (Karst *et al*, 2005b; Treccani *et al*, 2014) ; Figure 6). De façon intéressante, le blocage des récepteurs NMDA (ou des GR) bloque la rétraction dendritique des neurones hippocampiques induite par le stress chronique (Magariños and McEwen, 1995; Watanabe *et al*, 1992).

Les taux élevés de glutamate extracellulaire induits par le stress chronique entraînent une augmentation d'activation des transporteurs du glutamate présents au niveau des cellules gliales (Wood *et al*, 2004). De plus, le stress chronique de contention augmente l'expression des protéines pré-synaptiques impliquées dans la libération des vésicules synaptiques (Grillo *et al*, 2005; Magariños *et al*, 1997a).

Les protéines de surface comme le NCAM (neural cell adhesion molecule) et le NCAM polysialé (PSA-NCAM) sont exprimées dans les neurones du DG et du CA3. Il a été montré que l'expression de NCAM et de PSA-NCAM est affectée par le stress chronique de contention de 21 jours (Sandi, 2004). Cette modification d'expression de NCAM et de PSA-NCAM induit par le stress chronique est associée à une atrophie de l'hippocampe et à des déficits d'apprentissage spatial. L'activateur tissulaire du plasminogène (tPA), une protéase extracellulaire et aussi une molécule de signalisation, est libérée lors d'activation neuronale. Il a été montré que le tPA est associé à la perte des épines dendritiques et à la modification

d'expression des sous-unités du récepteur NMDA induites par le stress chronique dans les neurones du CA1 de l'hippocampe (Pawlak *et al.*, 2005).

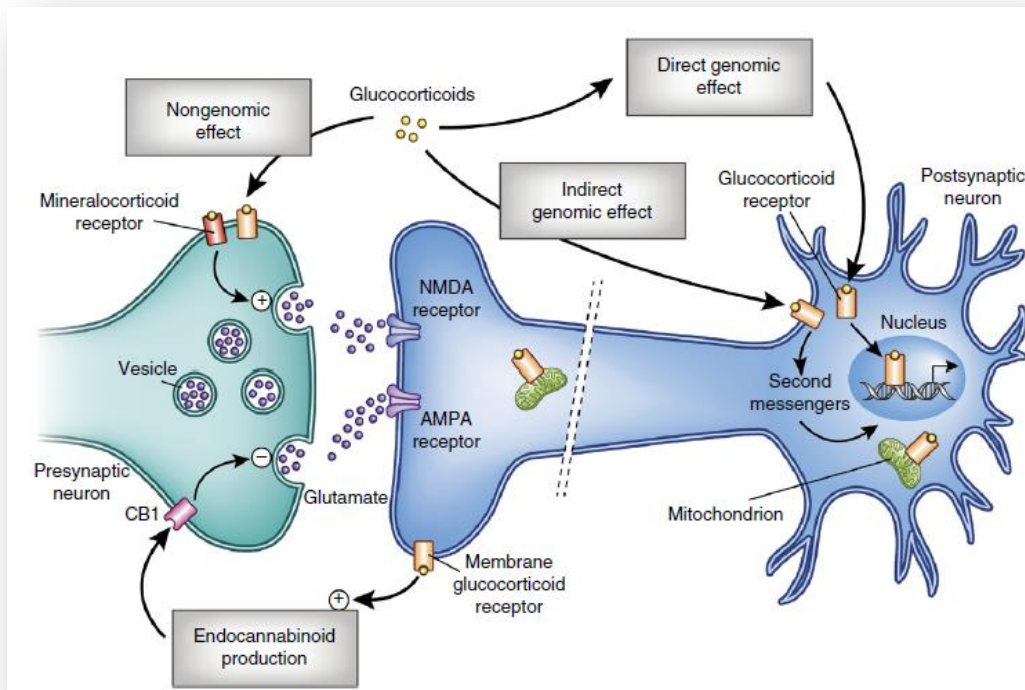


Figure 6. La régulation de la libération du glutamate par les glucocorticoïdes. *Les glucocorticoïdes régulent la libération du glutamate via des effets non génomiques des récepteurs minéro corticoïdes (MR) et les glucocorticoïdes (GR) pré-synaptiques associés à la membrane et via leurs actions indirectes sur la production des endocannabinoïdes à partir des neurones post-synaptiques (Adapté de McEwen *et al.*, 2015).*

Les facteurs neurotrophiques jouent également un rôle dans la complexité de l'arbre dendritique. Par exemple, les souris déficientes pour le BDNF montrent une diminution de nombres d'embranchement d'arbre dendritique des neurones hippocampiques comparativement aux souris sauvages. Par ailleurs, le stress chronique n'accroît pas la diminution du nombre d'embranchement dendritique de ces neurones chez les souris déficientes pour le BDNF suggérant que les effets du stress chronique sur la complexité dendritique passe par le BDNF. De manière intéressante, la surexpression du BDNF protège contre la réduction du nombre d'embranchement dendritique induite par le stress chronique dans les neurones de l'hippocampe (Govindarajan *et al.*, 2006). Il semble que le BDNF et les

GC aient des effets opposés, le BDNF permettant de restaurer le niveau d'excitabilité normale des neurones hippocampiques induite par l'injection de la corticostérone (Hansson *et al*, 2006)

Le CRF (corticotrophin releasing factor) qui régule la sécrétion d'ACTH de l'hypophyse antérieure, joue également un rôle dans le remodelage dendritique des neurones du CA1 de l'hippocampe (Chen *et al*, 2006; Pawlak *et al*, 2005). Le CRF est exprimé dans les neurones GABAergiques de l'hippocampe au cours du développement et le stress précoce induit une diminution de la longueur dendritique ainsi que du nombre d'embranchement des neurones pyramidaux hippocampiques chez le rat à l'âge adulte (Brunson *et al*, 2001, 2005). En effet, il a été montré que le CRF inhibe la complexité dendritique des neurones du CA1 et CA3 de l'hippocampe (Chen *et al*, 2004).

Les endocannabinoïdes (eCB) sont des molécules de signalisation qui jouent un rôle important dans la réponse au stress. En plus de leur rôle dans l'arrêt de la réponse au stress aigu, les eCB sont aussi importants dans la régulation de la plasticité structurale en condition du stress. Par exemple, les souris déficientes en récepteur CB₁ présentent une réduction de la longueur et de la complexité dendritique des neurones dans le cortex préfrontal alors que la complexité dendritique des neurones du BLA est augmentée par rapport à celle des souris du phénotype sauvage. De manière importante, le stress chronique ou un traitement chronique à la corticostérone diminue les niveaux d'eCB (en particulier l'anandamide) en augmentant l'activité des enzymes impliquées dans leur dégradation (Bowles *et al*, 2012) et perturbe les voies de signalisation des eCB via la dérégulation du récepteur CB₁ (Hill *et al*, 2005).

b. Action du stress et des GC sur la plasticité synaptique de l'hippocampe

Les animaux ont la capacité d'apprendre et d'adapter leur comportement en réponse aux changements environnementaux. Il est maintenant largement accepté que cette capacité repose sur les réorganisations morphologiques et fonctionnelles des connections synaptiques entre neurones dans le cerveau appelé plasticité synaptique (Milner *et al*, 1998). Cette plasticité est basée sur les changements en quantité des neurotransmetteurs libérés au niveau de synapses et sur l'efficacité des réponses des cellules à ces neurotransmetteurs. S'il existe des formes de plasticité à 'court-terme' qui dure de quelques secondes à quelques minutes, nous parlerons ici de la plasticité synaptique à 'long-terme' impliquant des changements pouvant aller jusqu'à plusieurs semaines. En effet l'activité neuronale peut générer des formes persistantes de plasticité synaptique comme la potentialisation à long-terme (LTP). La caractéristique la plus

intéressante de la LTP, découverte dans l'hippocampe en 1973 (Bliss and Lomo, 1973), est qu'elle permet le renforcement durable des synapses entre deux neurones qui sont activés simultanément (Citri and Malenka, 2008). En effet, lorsque les axones qui font des connexions sur les neurones pyramidaux de l'hippocampe sont stimulés à haute fréquence, l'amplitude du potentiel excitateur enregistré dans ces neurones est augmentée pour un longue période. La LTP est associée à des changements pré-synaptiques, comme le potentiel d'action, qui peuvent augmenter la probabilité que les terminaisons synaptiques libèrent les neurotransmetteurs mais également à des changements post-synaptiques tels que des phosphorylations de protéines et des modifications d'expression de certains gènes. En conséquence, de nouvelles protéines sont synthétisées et participent aux changements morphologiques et synaptiques incluant des modifications du trafic des récepteurs, de l'expression des récepteurs et de la conformation des épines (Kandel, 2001). A noter qu'il existe une autre forme de plasticité à long-terme, la dépression à long-terme (LTD) correspondant à une diminution de la réponse synaptique (Citri and Malenka, 2008).

Depuis quelques années, la LTP a été proposée comme un modèle physiologique de l'apprentissage et de la mémoire basée sur l'idée que des changements d'efficacité synaptique sont impliqués dans le stockage d'information (postulat de Hebb). Cette idée a suggéré que le stress perturbe la mémoire dépendante de l'hippocampe en affectant l'induction de la LTP dans l'hippocampe. En effet, des études d'enregistrement électrophysiologique *in vitro* (Foy *et al*, 1987; Shors *et al*, 1989) ainsi qu'*in vivo* (Diamond *et al*, 1994; Xu *et al*, 1997) ont montré que le stress perturbe l'induction de la LTP dans le CA1 de l'hippocampe. Plusieurs types de stress ont été utilisés incluant l'administration d'un choc électrique (Shors *et al*, 1989), l'exposition des animaux à un nouvel environnement (Xu *et al*, 1997) ou à une plateforme surélevé (Xu *et al*, 1998). De manière importante, l'étude de Shors et ses collaborateurs ont démontré que la perturbation de la LTP suite à un stress a lieu seulement chez les rats qui ne sont pas capable d'échapper aux chocs électriques. En effet, des rats qui ont reçu des chocs électriques mais qui avaient la possibilité d'échapper à ces chocs ne présentaient pas de déficit de LTP (Shors *et al*, 1989). Donc, il apparait que les effets du stress sur la plasticité synaptique impliquent plutôt les facteurs psychologiques que simplement des facteurs physiques (Kim *et al*, 2006).

En ce qui concerne les mécanismes cellulaires impliqués dans les effets du stress aigu sur la LTP, l'activation des GR a été proposée. En effet, le blocage de l'activation des GR avant ou immédiatement après le stress bloque les effets du stress sur la LTP (Xu *et al*, 1998;

Yang *et al*, 2004, 2005). De plus, Yang et ses collaborateurs ont démontré que la perturbation de la LTP chez les rats stressés impliquerait l'activation du récepteur au BDNF ainsi que de la voie des MAPK kinase. L'infusion intrahippocampique d'un antagoniste du récepteur tyrosine kinase B au BDNF ou d'un inhibiteur de la protéine MEK 1/2 annule les effets du stress sur la LTP dans le CA1 (Yang *et al*, 2004). De façon intéressante, les effets du stress sur la LTP dans le CA1 sont persistants et dépendent de la synthèse de protéines (Xu *et al*, 1998).

Quelques études suggèrent également que les effets du stress aigu sur la LTP impliquent la transmission glutamatergique. Le prétraitement avec un antagoniste du récepteur NMDA permet en effet de bloquer les effets du stress sur l'induction de LTP dans l'hippocampe (Jj *et al*, 1996). De manière intéressante, l'exposition des animaux à un milieu enrichi immédiatement après le stress permet de reverser les effets sur la LTP (Yang *et al*, 2006). Cet effet protecteur impliquerait l'activation des récepteurs cholinergiques puisque l'activation pharmacologique de ces récepteurs engendre les mêmes effets protecteurs sur la perturbation de la LTP induite par le stress (Yang *et al*, 2006).

Certaines évidences indiquent également que le stress aigu perturbe l'induction de LTP dans le DG de l'hippocampe (Shors and Dryver, 1994). Il semble que les effets du stress sur l'induction de LTP dans le DG dépendent du type de stress appliqué. En effet, le léger stress induit par la manipulation (handling) diminue la LTP dans le DG alors qu'un stress aigu induit par l'immersion du rat dans une piscine augmente l'induction de la LTP (Korz and Frey, 2003). De manière intéressante, le blocage des GR, mais pas des MR, annule les effets du handling sur la LTP alors que le blocage des MR, mais pas des GR, annule les effets de la nage en piscine sur la LTP (Korz and Frey, 2003).

Cependant, l'effet du stress sur la plasticité hippocampique n'est pas restreint à la LTP. Des études récentes ont démontré une augmentation d'induction de la LTD dans le CA1 par le stress (Lowy *et al*, 1993, 1995; Wong *et al*, 2007; Yang *et al*, 2005). Une application d'un antagoniste des récepteurs NMDA avant le stress bloque les effets sur la LTD suggérant que les effets du stress sur la LTP et la LTD implique l'activation des récepteurs NMDA (Jj *et al*, 1996; Wang *et al*, 2006). Par ailleurs, certaines études indiquent le stress aigu induit une libération exagérée de glutamate et un excès du glutamate active les récepteurs NMDA-extra-synaptiques entraînant une augmentation de LTD dans le CA1 (Duffy *et al*, 2008; Hardingham *et al*, 2002; Yang *et al*, 2005).

Mais comment le stress aigu perturbe la plasticité synaptique en augmentant la LTD et diminuant la LTP ? Certaines études suggèrent que le stress et la LTP partagent des mécanismes moléculaires en commun et que le stress saturerait la LTP et donc inhiberait son induction (Diamond *et al*, 2004; Huang *et al*, 2005). La deuxième possibilité est que le stress modifie le seuil d'induction de la LTP et la LTD (Abraham, 2004; Huang *et al*, 2005; Kim and Yoon, 1998). De tels modifications des différentes formes de plasticité synaptique par l'activité antérieure, encore appelé changements 'méta-plastiques', sont l'une des caractéristiques importantes des circuits neuronaux et en particulier du CA1 de l'hippocampe (Kirkwood *et al*, 1996; Mockett *et al*, 2002).

c. Action du stress et des GC sur le remodelage structural de l'amygdale

Grace à son rôle central dans la réponse au stress, l'amygdale pourrait contribuer directement à certains déficits comportementaux induits par le stress et pourrait initier les changements d'autres régions du cerveau comme l'hippocampe et le cortex préfrontal médian.

Le stress influence la structure et la fonction de l'amygdale et les études cliniques indiquent que les changements anatomiques ont lieu dans l'amygdale avant ceux observés dans l'hippocampe chez les patients dépressifs (McEwen, 2003). Des études précliniques indiquent également que le stress altère la structure et la fonction de l'amygdale chez le rongeur. Chattarji et ses collaborateurs ont par exemple démontré que des rats ayant subi un stress d'immobilisation durant 10 jours (*chronic immobilisation stress* : CIS) montrent une hypertrophie des neurones pyramidaux dans un noyau particulier de l'amygdale, l'amygdale basolatérale (BLA). Plus spécifiquement, le stress CIS augmente la longueur dendritique et le nombre d'embranchement des neurones pyramidaux du BLA comparé aux rats non-stressés (Vyas *et al*, 2002a).

Ces résultats sont à l'opposé des analyses neuroanatomiques antérieures qui montrent chez le rat l'atrophie des neurones pyramidaux de l'hippocampe (Conrad *et al*, 1999; Magariños *et al*, 1997b; McLaughlin *et al*, 2007; Watanabe *et al*, 1992) et du cortex préfrontal médian (Cook and Wellman, 2004; Holmes and Wellman, 2009; Liston *et al*, 2006; Radley *et al*, 2004). Alors que l'atrophie dendritique induite par le stress est un processus réversible dans l'hippocampe (Luine *et al*, 1994) et au niveau du cortex préfrontal (Radley *et al*, 2005), l'hypertrophie dendritique dans le BLA induite par le CIS semble persister dans le temps (Vyas *et al*, 2004). Le CIS augmente également la densité des épines des neurones pyramidaux du BLA. Cependant la densité des épines des neurones pyramidaux du BLA n'est

pas affectée par le stress d'immobilisation aigu (Mitra *et al*, 2005). Une autre observation importante parmi ces études est que le stress chronique imprévisible (*chronic unpredictable stress* : CUS) n'affecte pas la morphologie des neurones pyramidaux du BLA mais induit une hypertrophie des neurones bipolaires du BLA (Vyas *et al*, 2002a). Ceci suggère que la nature du stress engendre des changements morphologiques spécifiques dans le BLA.

Alors que le traitement chronique à la corticostérone induit une atrophie des neurones pyramidaux de l'hippocampe, il n'affecte pas ceux du BLA (Morales-Medina *et al*, 2009; Pêgo *et al*, 2008). Cependant, un traitement aigu à la corticostérone induit une hypertrophie dendritique des neurones pyramidaux du BLA quand les analyses morphologiques sont effectuées 11 jours après l'injection de corticostérone (Mitra and Sapolsky, 2008 ; (Kim *et al*, 2014). Donc, la durée d'exposition à la corticostérone et le délai après exposition sont des facteurs importants qui déterminent les changements morphologiques induits par le stress dans le BLA chez le rongeur.

Plusieurs études indiquent que le stress aigu augmente la libération du glutamate dans le BLA que ce soit après un stress de contention (Reagan *et al*, 2012; Reznikov *et al*, 2007) ou d'autres types de stress (Deyama *et al*, 2007; Hegoburu *et al*, 2009; Miranda *et al*, 2002). De manière intéressante, contrairement aux effets d'un stress aigu, le stress répété diminue les taux du glutamate dans l'amygdale (Grillo *et al*, 2015).

d. Action du stress et des GC sur la plasticité synaptique de l'amygdale

Des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* ont permis de montrer après conditionnement de peur, une augmentation du potentiel d'action évoqué par le stimulus préalablement associé au choc électrique dans le BLA (Maren and Quirk, 2004). L'activité noradrénergique dans le BLA jouerait un rôle crucial. La noradrénaline augmente la transmission excitatrice des récepteurs β -adrénergiques dans le BLA (Ferry *et al*, 1997; Gean *et al*, 1992; Huang *et al*, 1996) induit une dés-inhibition GABAergique des projections des neurones du BLA facilitant l'induction de LTP au niveau des synapses thalamo-amygdaliennes (Tully *et al*, 2007). La sérotonine pourrait également intervenir mais son action dépend de la corticostérone. En effet, la sérotonine inhibe les potentiels d'action évoqués par le glutamate dans les neurones du BLA, mais cette inhibition n'a pas eu lieu chez les rats surrénalectomisés. De manière intéressante, une forte dose de la corticostérone chez les rats surrénalectomisés permet à la sérotonine d'inhiber la transmission excitatrice dans le

BLA confirmant le rôle de la sérotonine dans la modulation de la plasticité synaptique dépendante de la corticostérone (Stutzmann *et al*, 1998).

Par ailleurs, une forte dose de corticostérone induit une réduction de la transmission synaptique inhibitrice associée avec une augmentation de l'excitabilité intrinsèque des neurones pyramidaux dans l'amygdale (Duvarci and Paré, 2007). Par conséquent, le stress aigu et le stress répété pourraient altérer l'équilibre entre la transmission excitatrice et inhibitrice et induire des changements de connectivités synaptiques au sein de l'amygdale. Ces changements de connectivités synaptiques pourraient participer au remodelage structural au sein de l'amygdale décrit ci-dessus.

Par ailleurs de nombreuses études indiquent que l'activation du BLA module la plasticité synaptique dans d'autres régions du cerveau. L'activité du BLA influence sur l'induction de la LTP dans l'hippocampe (Akirav and Richter-Levin, 2002; Frey *et al*, 2001; Ikegaya *et al*, 1997; Nakao *et al*, 2004). De manière intéressante, une lésion de l'amygdale annule les effets du stress sur la LTP dans l'hippocampe (Kim *et al*, 2001).

C. Obésité et la dérégulation de l'axe corticotrope

1. Rôle des glucocorticoïdes dans la prise alimentaire et le poids

Il existe un lien étroit entre les GC, la prise du poids et l'obésité. Un exemple classique est celui du syndrome de Cushing où l'excès de la sécrétion du cortisol est associé à l'obésité viscérale (Orth, 1995). Chez l'Homme, certaines études indiquent qu'une élévation à long-terme du cortisol circulant est associée à la prise du poids. Une étude prospective a montré qu'une augmentation des taux du cortisol salivaire coïncide avec une augmentation de l'IMC chez les étudiantes infirmières (Roberts *et al*, 2007).

De plus, des études cliniques et expérimentales indiquent que les individus ressentant un stress ont une préférence pour les aliments hypercaloriques, notamment gras et sucrés (Bell *et al*, 2002; Grunberg and Straub, 1992; Pecoraro *et al*, 2004). C'est la théorie de *comfort food* (nourriture réconfortante) selon laquelle l'action du stress et des GC conduit à la prise du poids et l'obésité (Born *et al*, 2010; Dallman *et al*, 2004, 2005; Foster *et al*, 2009).

Le fait que le stress, via une augmentation de la synthèse et de la sécrétion des GC, perturbe également la prise alimentaire n'est pas surprenant. En effet, au niveau de l'hypothalamus, il y a un lien étroit entre les systèmes neuroendocriniens qui gouvernent la

prise alimentaire et ceux qui régulent la réponse au stress. Le noyau arqué de l'hypothalamus contient deux populations neuronales, celle contenant les neurones exprimant le neuropeptide Y (NPY) et la protéine AgRP (pour *agouti-related protein*) qui stimule la prise alimentaire et celle qui contient les neurones à mélanocortines qui inhibe la prise alimentaire (Elmquist *et al*, 2005; Williams and Elmquist, 2012).

Chez les rongeurs obèses, la surrénalectomie permet une diminution de la prise alimentaire, des taux du glucose, des taux d'insuline et des triglycérides (Castonguay *et al*, 1986; la Fleur, 2006). En effet, la surrénalectomie diminue les effets orexigène du NPY (Sainsbury *et al*, 1997), de l'AgRP (Drazen *et al*, 2003) et de l'orexine (Ford *et al*, 2005) et augmente les effets de satiété par la leptine (Drazen *et al*, 2003). De manière importante, les effets de la surrénalectomie sur la prise alimentaire peuvent être annulés par l'administration de corticostérone, indiquant l'importance des GC dans le contrôle hypothalamique de la prise alimentaire.

2. Le surpoids entraîne des dérégulations de l'axe corticotrope

Si le stress provoque une prise de poids, il semble aussi que les individus obèses présentent une dérégulation du fonctionnement de l'axe HPA. En effet, les études cliniques ont démontré que les personnes obèses présentent une augmentation de la sécrétion du cortisol en réponse au stress. Des tels effets sont particulièrement marquants chez les individus présentant une obésité abdominale (Pasquali *et al*, 2006). Les tests de suppression à la dexaméthasone montrent que les patients obèses ont des dérégulations du rétrocontrôle négatif, résultant en une hyperactivité de l'axe HPA (Duclos *et al*, 2001; Jessop *et al*, 2001).

Chez l'animal, de nombreuses études sur la fonctionnalité de l'axe HPA dans les modèles d'obésité ont été réalisées. Le modèle génétique db/db est associé à des taux très élevés en corticostérone qui sont bien améliorés par surrénalectomie (Makimura *et al*, 2000; Saito *et al*, 1989; Shimomura *et al*, 1987). L'exposition au régime HL durant la période périnatale induit la sécrétion prolongée des GC chez la descendance adulte suite à un stress de contention (Lin *et al*, 2015; Sasaki *et al*, 2013a). Cette libération prolongée des GC est associée à une augmentation des GR et MR au niveau de l'hippocampe et l'amygdale et une augmentation des comportements de type anxieux chez les descendantes femelles (Sasaki *et al*, 2013a). Ces résultats suggèrent que l'environnement nutritionnel précoce peut affecter la voie de signalisation des GC et peut réguler le fonctionnement de l'axe corticotrope.

L'impact de la consommation d'un régime HL depuis le sevrage à la puberté sur le fonctionnement de l'axe HPA a également été investigué. Les taux de GC au niveau basal sont plus élevés chez les femelles exposées au régime HL que chez celles exposées au régime contrôle (Boukouvalas *et al*, 2008). Ceci est accompagné d'une augmentation des comportements de type anxieux. Chez les mâles ces effets sont absents (pour les GC) ou moins marqués (pour l'anxiété) indiquant que la consommation d'un régime HL post-sevrage a un impact plus important sur l'axe HPA des femelles qui favoriserait les troubles émotionnels (Boukouvalas *et al*, 2008).

De manière intéressante, il a récemment été montré au laboratoire que l'exposition de rats mâles au régime HL du sevrage à l'âge adulte (3 mois) ne modifie pas les niveaux de base des GC mais prolonge leur libération suite à un stress de contention ou à un malaise gastrique (Boitard *et al*, 2015a). De tels effets sont absents lorsque la même durée d'exposition au régime HL commence à l'âge de 12 semaines (Boitard *et al*, 2015a). Toutefois certaines études indiquent des changements au niveau de l'axe HPA chez le rat adulte soumis à un régime HL. En effet, la consommation d'un régime HL à l'âge adulte provoque une augmentation des niveaux plasmatiques de base des GC après 1 ou 3 semaines sous le régime. L'exposition prolongée (9 et 12 semaines) ne modifie plus les taux de base mais entraîne une augmentation des taux d'ACTH et de GC suite à un stress de contention (Tannenbaum *et al*, 1997). De manière intéressante, l'exposition au régime HL pendant 4 jours suffit à entraîner une augmentation de la sécrétion de corticostérone suite à un stress modéré (injection de saline) comparativement aux animaux contrôles (Legendre and Harris, 2006).

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

L'obésité s'accompagne également d'une hyperactivité du système eCB dans tous les tissus, dont le cerveau, et l'effet des GC sur la plasticité cérébrale et la cognition impliquent fortement le système eCB. Nous allons donc voir plus en détail ce système.

D. Système endocannabinoïde en condition physiologique

1. Historique et caractérisation

La transmission des propriétés médicinales des plantes a été transmise de génération en génération pour guérir les maladies et soulager la douleur. Le cannabis est une des plus anciennes plantes cultivées par l'homme. Des écrits rapportent sa culture en Chine 28 siècles avant J.C. (Mikuriya, 1969). Plus de 1000 ans avant J.C., son usage médicinal est décrit en Inde. Arrivé en Europe au 19^{ème} siècle grâce à un médecin anglais, O'Shaughnessy, l'usage de cette plante s'est ensuite répandu dans la pharmacopée des pays occidentaux.

Avec l'arrivée du cannabis en Europe, les chercheurs ont tenté d'isoler et d'identifier les molécules responsables des effets psychoactifs de la marijuana. Ce n'est qu'en 1964 que Robert Mechoulam et collaborateurs isolent et purifient la Δ^9 tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), connu à ce jour comme le principal composé psychoactif du cannabis (Mechoulam and Gaoni, 1965). Depuis cette époque, un nombre important d'analogues biologiquement actifs de la Δ^9 -THC ont été synthétisés. Ces composés sont nommés les cannabinoïdes (Howlett, 1995).

Un progrès remarquable a eu lieu lors de la découverte du récepteur qui lie la Δ^9 -THC. Le premier récepteur aux cannabinoïdes (CB₁) a été cloné et caractérisé en 1991 (Matsuda *et al*, 1990) et le second (CB₂) a été identifié en 1993. Ils sont tous les deux des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG). Le CB₁ est abondamment exprimé dans le cerveau, tandis que le CB₂ est présent principalement dans le système immunitaire au niveau périphérique. Le développement d'antagonistes sélectif de chaque récepteur (Rinaldi-Carmona *et al*, 1994) mais aussi le développement de souris génétiquement modifiées dépourvues du CB₁ (Ledent *et al*, 1999; Zimmer *et al*, 1999) ou du CB₂ (Buckley *et al*, 2000) ont permis de déterminer la contribution relative de chaque récepteur aux effets pharmacologiques des cannabinoïdes.

L'importante étape suivante fut la découverte des ligands endogènes pour les récepteurs aux cannabinoïdes, les endocannabinoïdes (eCB). Le N-arachidonyléthanolamide fut le premier isolé et nommé anandamide ou AEA (Devane *et al*, 1992) puis ce fut le 2-arachidonylglycérole ou 2-AG (Mechoulam *et al*, 1995; Sugiura *et al*, 1995). Les études biochimiques ont démontré que ces molécules sont produites « à la demande » en fonction de l'activité neuronale et sont libérées dans l'espace extracellulaire. En 2001, leur mode d'action rétrograde au niveau de la synapse a été mise en évidence (Kreitzer and Regehr, 2001; Maejima *et al*, 2001; Ohno-Shosaku *et al*, 2001; Wilson and Nicoll, 2001). Les eCB sont

donc produit principalement au niveau post-synaptique et agissent au niveau pré-synaptique afin de diminuer la libération de neurotransmetteurs, comme le glutamate et le GABA.

2. Récepteur des cannabinoïdes

a. CB₁

Le CB₁ est le principal médiateur des effets des cannabinoïdes endogènes et exogènes sur le cerveau. Le récepteur CB₁ appartient à la famille des RCPG. Il a d'abord été cloné chez le rat (Matsuda *et al*, 1990), puis chez l'homme (Gérard *et al*, 1990) et chez la souris (Chakrabarti *et al*, 1995). Sa séquence primaire d'acides aminés présente 97-99% d'homologie entre ces trois espèces. Chez l'humain, le gène *CNRI* codant pour le CB₁ est localisé sur le chromosome 6. Il existe chez l'homme le polymorphisme du gène *CNRI* et certains polymorphisme sont liés au trouble métabolique comme l'obésité (Gazzerro *et al*, 2007; Russo *et al*, 2007), aux maladies neuropsychiatriques telle que la schizophrénie (Chavarría-Siles *et al*, 2008; Ujike and Morita, 2004) ou encore la dépression chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (Barrero *et al*, 2005). Il a été proposé que le CB₁ forme des homodimères in vivo (Wager-Miller *et al*, 2002). La forme des hétéromères in vitro a été également rapportée.

Les CB₁ sont les plus abondants parmi les RCPG dans le cerveau chez le rat et chez l'homme. Leur densité cérébrale rivalise avec celle des récepteurs ionotropiques du glutamate et GABA, les deux principaux neurotransmetteurs (Herkenham *et al*, 1990). Le clonage des CB₁ par Matsuda et ses collaborateurs (Matsuda *et al*, 1990) a permis d'explorer la distribution régionale et cellulaire de l'expression de l'ARNm du CB₁ par hybridation in situ et la localisation cellulaire et subcellulaire du CB₁ par immunohistochimie. Depuis ce temps, de nombreuses études histochimiques ont caractérisé l'expression du CB₁ dans le système nerveux (Figure 7). La localisation pré-synaptique du CB₁ a été confirmée par microscopie optique et électrophysiologie au niveau de l'hippocampe du rat (Katona *et al*, 1999) Hoffman and Lupica, 2000).

Malgré la forte expression du CB₁ dans le cerveau, la distribution cellulaire du CB₁ semble hétérogène. L'expression du CB₁ est particulièrement condensée dans les régions du télencéphale comme l'hippocampe, le cortex, l'amygdale et le bulbe olfactif (Katona *et al*, 1999, 2001; Mailleux and Vanderhaeghen, 1992; Marsicano and Lutz, 1999; Tsou *et al*,

1999). Les cellules positives pour le CB₁ dans ces régions montrent une distribution dispersée, et représente une minorité de la population totale. Ces cellules appartiennent essentiellement à la population hétérogène des neurones GABAergiques (Katona *et al*, 1999; Marsicano and Lutz, 1999; Tsou *et al*, 1999). Une forte expression de l'ARNm du CB₁ est détectée dans les interneurons positifs pour la cholecystokinine (CCK), alors qu'il y a peu d'expression dans les interneurons positifs pour la parvalbumine (PV) (Marsicano and Lutz, 1999; McDonald and Mascagni, 2001; Tsou *et al*, 1999).

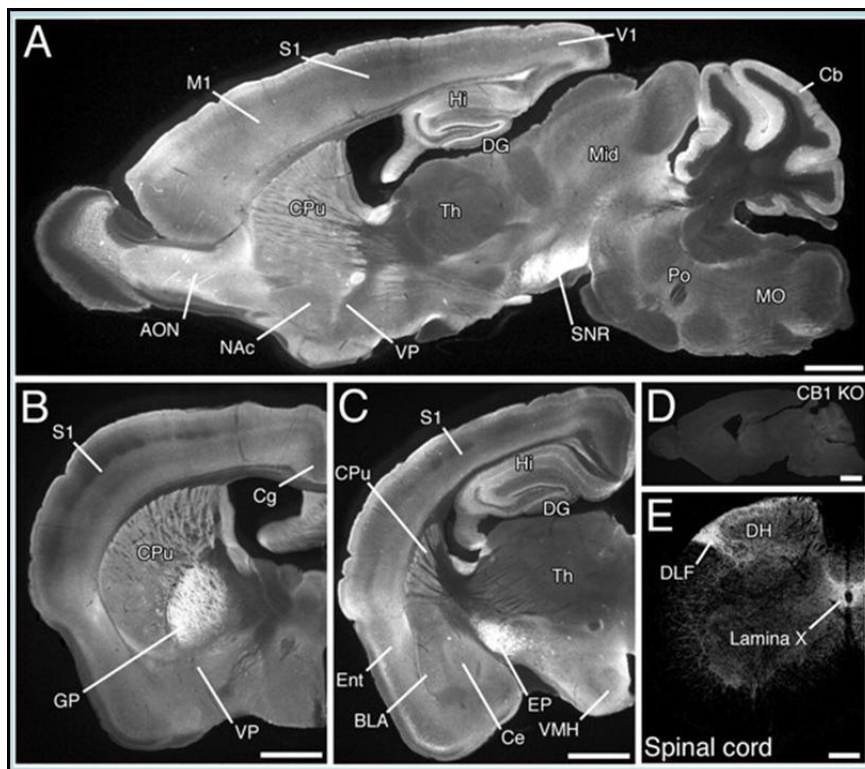


Figure 7. Distribution du CB₁ dans le cerveau de la souris adulte. A-D: distribution en coupes parasagittales (A et D) et coronales (B et C) de souris sauvage (A-C) et de souris présentant une délétion pour le CB₁ (D). Le CB₁ est fortement exprimé dans l'hippocampe (Hi) (dont le gyrus dentelé, DG), le cortex cérébral, le complexe basolatéral de l'amygdale (BLA), le noyau olfactif antérieur (AON), le noyau caudé putamen (CPu), l'hypothalamus ventromédial (VMH) et le cortex cérébelleux (Cb). Un haut niveau d'expression est également présent dans les voies striatales efférentes comprenant la substance noire réticulée (SNR), le globus pallidus (GP) et le noyau entopédonculaire (EP). Un marquage quasi-nul est observé chez les souris mutantes (D), indiquant la spécificité du marquage immunohistochimique. E: marquage du CB₁ dans la moelle épinière. M1, cortex somatosensoriel primaire; S1, cortex moteur primaire; V1, cortex visuel primaire; NAc, noyau accumbens; VP, pallidum ventral; Th, thalamus; Mid, mésencéphale; Po, pons; MO, medulla oblongata; Cg, cortex cingulaire; Ent, cortex entorhinal; Ce, noyau central de l'amygdale. Modifié à partir de Kano *et al.*, 2009.

Les effets des cannabinoïdes dépendant du CB₁ dans ces régimes cibles du télencéphale reposeraient donc sur la modulation de sous-population particulière de neurones GABAergiques. En effet, la présence de CB₁ dans les neurones glutamatergiques a été controversée. Si certaines études ont indiqué la présence de l'ARNm du CB₁ dans les neurones pyramidaux excitateurs de l'hippocampe (Mailleux and Vanderhaeghen, 1992; Marsicano and Lutz, 1999), il a fallu attendre plusieurs années pour reconnaître la présence du CB₁ sur les terminaisons des neurones glutamatergiques (Freund *et al*, 2003). Récemment, l'utilisation de souris mutantes ayant une délétion spécifique du CB₁ dans les neurones glutamatergiques corticaux a démontré clairement la présence de la protéine du CB₁ dans les neurones de l'hippocampe, du néocortex et de l'amygdale ainsi que leur fonction (Bellocchio *et al*, 2010; Domenici *et al*, 2006; Monory *et al*, 2006).

b. CB₂

La caractérisation moléculaire et le clonage du CB₂ ont été identifiés chez l'Homme (Munro *et al*, 1993), puis la souris et chez le rat (Griffin *et al*, 2000; Shire *et al*, 1996). Il semble exister un polymorphisme du gène codant pour ce récepteur, avec deux isoformes identifiées chez le rat (Brown *et al*, 2002; Griffin *et al*, 2000). Comme le CB₁, le CB₂ appartient à la famille des RCPG à 7 domaines transmembranaires. Cependant, les séquences d'acides aminés des récepteurs CB₁ et CB₂ humains ne présentent entre eux que 44% d'homologie, et sont codés par des gènes distincts. La localisation du récepteur CB₂ est principalement périphérique, avec un fort niveau d'expression dans les cellules du système immunitaire (Munro *et al*, 1993). Le récepteur CB₂ est exprimé à des niveaux très faibles dans le cerveau (Gong *et al*, 2006; Onaivi, 2006; Skaper *et al*, 1996).

c. Autres récepteurs des cannabinoïdes

Le récepteur cationique vanilloïde de type 1 (*transient receptor potential vanilloid type 1*, TRPV1) est un récepteur canal cationique non-sélective perméable au Ca²⁺. L'étude des souris TRPV1-KO a montré que ce type de récepteur est essentiel dans la sensation à la douleur (Caterina *et al*, 2000). Le récepteur TRPV1 est présent dans le cerveau, est activé par l'AEA, mais pas par le 2-AG. Donc, une interaction entre le système eCB et le système endovanilloïde semble exister sous certaines conditions physiologiques ou pathologiques (Maccarrone *et al*, 2008).

Le récepteur orphelin couplé aux protéines G « GPR55 » est activé par les eCB incluant l'AEA et le 2-AG, ainsi que par le THC mais pas par le WIN55,212-2, l'agoniste le plus

utilisé des récepteurs CB₁ et CB₂. De plus, le récepteur GPR55 est activé par la palmitoylethanolamide et la oléoyléthanolamide qui ne sont pas des ligands des CB₁ et CB₂ (Ryberg *et al*, 2007). L'expression de l'ARNm du GPR55 est trouvée dans plusieurs organes incluant la glande surrénale, le tractus gastro-intestinal, le rein et le cerveau. Dans le cerveau, l'expression en ARNm du GPR55 est largement distribué mais leurs taux d'expression sont beaucoup plus faibles par rapport à ceux des CB₁ (Ryberg *et al*, 2007). Ce récepteur ne partage que 14% d'homologie de séquence avec les CB₁ et CB₂ humains. Il est exprimé principalement dans le cerveau au niveau du néostriatum (Ross, 2009). Bien que les cannabinoïdes exercent la majorité de leurs effets à travers des récepteurs membranaires, l'AEA pourrait activer des récepteurs nucléaires modulateurs de la transcription génique (récepteurs activés par les proliférateurs du peroxisome de type α , PPAR α) principalement impliqués dans la régulation du métabolisme (O'Sullivan, 2007).

3. Leur synthèse, transport, et voies de dégradation

a. Synthèse des eCB

Le terme endocannabinoïdes désigne les ligands endogènes des récepteurs des cannabinoïdes, dont les plus étudiés sont l'AEA et le 2-AG. L'AEA est le premier eCB a été isolée à partir du cerveau du porc (Devane *et al*, 1992) alors que le 2-AG a été isolé a partir de l'intestin canin (Mechoulam *et al*, 1995) puis du cerveau de rat (Sugiura *et al*, 1995). Le 2-AG est présent dans le cerveau à la concentration de l'ordre de nanomolaire par gramme de tissu. Sa concentration dans le cerveau est largement plus importante que celle de l'AEA (environ 200 fois plus) (Sugiura *et al*, 2006). Contrairement à l'AEA, le 2-AG est strictement reconnu par les CB₁ et CB₂ suggérant que le 2-AG est un vrai ligand naturel pour les récepteurs cannabinoïdes (Sugiura *et al*, 2006).

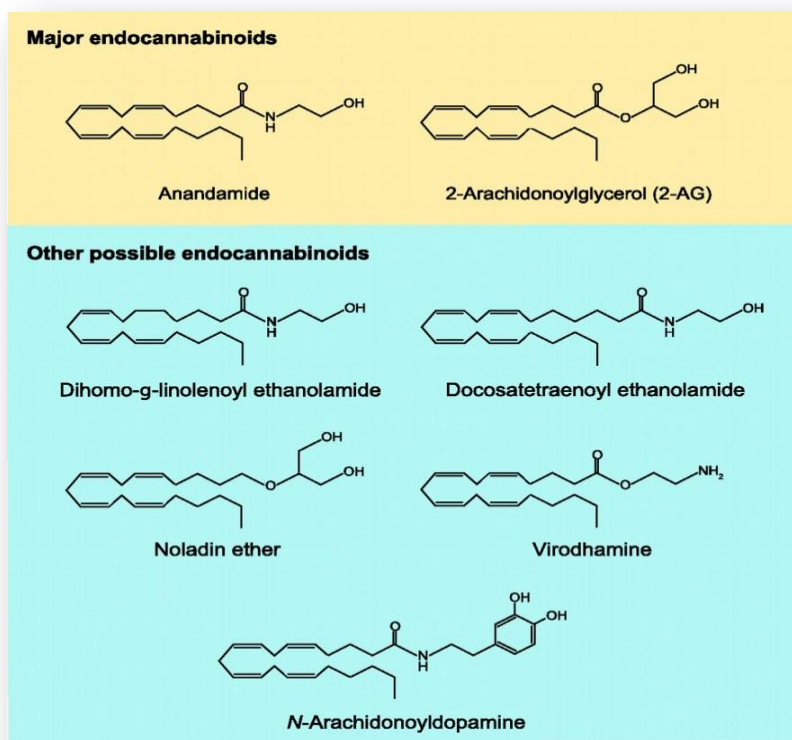


Figure 8. Structures moléculaires des endocannabinoïdes. *Modifié à partir de Kano et al., 2009.*

D'autres eCB putatifs sont le dihomog- γ -linolénoyléthanolamide (Hanus *et al*, 1993), le docosatétraoénoyléthanolamide (Hanus *et al*, 1993), l'éther du 2-AG ou éther du noladin (Hanus *et al*, 2001), l'*O*-arachidonoyléthanolamine ou virodhamine (Porter *et al*, 2002) et la *N*-arachidonoyldopamine (Huang *et al*, 2002) ; Figure 8). Le dihomog- γ -linolénoyléthanolamide et le docosatétraoénoyléthanolamide, qui sont des membres de la famille de la *N*-acyléthanolamide comme l'AEA, sont présents dans le cerveau et se lient au CB₁ (Felder *et al*, 1993; Hanus *et al*, 1993). Ces *N*-acyléthanolamides ont de faibles affinités pour le CB₂ (Felder *et al*, 1995). L'éther de noladin se lie au CB₁ mais montrait une faible affinité pour le CB₂ (Hanus *et al*, 2001). La virodhamine est un agoniste pour le CB₂ (Porter *et al*, 2002). Le *N*-arachidonoyldopamine se lie à la fois aux CB et aussi au TRVP1 (Bisogno *et al*, 2000).

Une caractéristique qui distingue les eCB des autres neuromodulateurs est qu'ils sont des lipides et donc, ils ne sont pas stockés dans des vésicules synaptiques. Leurs précurseurs se trouvent dans la membrane cellulaire et sont clivés par des enzymes spécifiques. La dépolarisation de la membrane des neurones peut induire la formation de *novo* et/ou la

libération des eCB (Di Marzo *et al*, 1994; Stella and Piomelli, 2001). C'est pour cette raison que cette forme de synthèse/libération est considérée 'à la demande'.

La production d'AEA par les neurones a été rapportée en 1994 (Di Marzo *et al*, 1994). Lorsque les neurones corticaux ou striataux ont été exposés à l'ionomycine, un ionophore calcique, l'AEA a été produit et libéré dans le milieu extracellulaire et cet effet a été bloqué par le chélateur du calcium, l'EGTA. La production d'AEA a été également obtenue sur culture de neurones corticaux en appliquant du glutamate et un agoniste du récepteur cholinergique, le carbachol (Stella and Piomelli, 2001) ou sur coupes hypothalamiques de rat après stimulation à haute fréquence (Di *et al*, 2005). Cette dernière augmentation d'AEA a été annulée par le blocage des récepteurs AMPA et NMDA.

L'AEA est formé en deux étapes : la première est la synthèse du phospholipide N-arachidonoyl phosphatidyléthanolamine (NAPE) à partir de phosphatidyléthanolamine (PE), une réaction catalysée par l'enzyme N-acyltransférase (NAT). La deuxième étape est l'hydrolyse de NAPE par une enzyme phospholipase D (PLD), qui produit l'AEA (Figure 9).

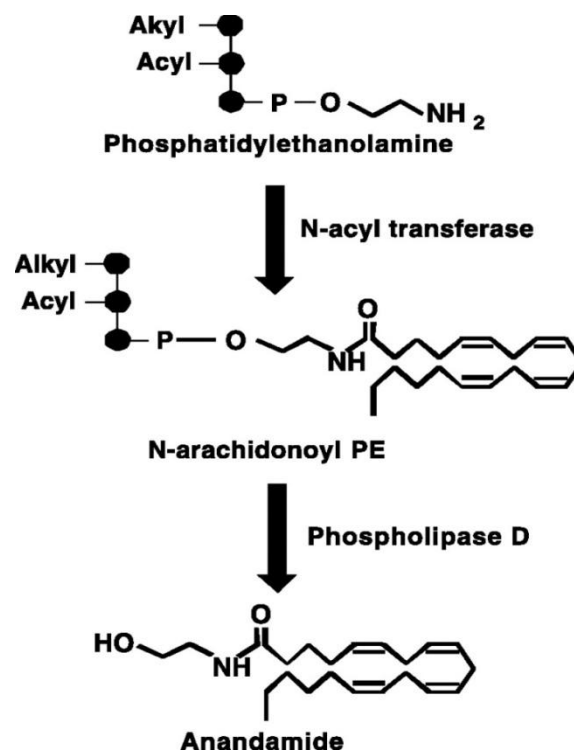


Figure 9. Schéma illustrant le mécanisme de la formation de l'anandamide. PE = Phosphatidyléthanolamine. Adapté de Freund *et al.*, 2003.

A noter que les taux de la PLD sont élevés dans le cerveau mais sa contribution régionale n'est pas nécessairement corrélée avec celle du CB₁. Des souris déficientes pour la PLD ne montrent pas de troubles comportementaux particuliers suggérant que l'AEA serait également produite par d'autres voies de synthèse que celle de la PLD (Okamoto *et al*, 2007).

Le 2-AG a été décrit pour la première fois en 1997. Une augmentation des taux du 2-AG a été rapportée sur des coupes d'hippocampe en réponse à une stimulation électrique (Stella *et al*, 1997a) et dans les neurones corticaux en stimulant le récepteur NMDA (Stella and Piomelli, 2001). La stimulation à haute fréquence des coupes hypothalamiques induit également une augmentation des taux du 2-AG (Di *et al*, 2005). Les microglies et les astrocytes sont aussi capables de produire le 2-AG suite à une exposition à un agoniste du récepteur glutamatergique métabotrope (mGluR ; (Walter *et al*, 2004; Witting *et al*, 2004),).

Les études biochimiques ont révélé qu'il existe deux voies pour générer le 2-AG (Figure 10). La voie principale combine la phospholipase C (PLC) et la diacylglycérol lipase (DGL). La première étape, l'hydrolyse du phosphatidylinositol, phospholipide membranaire, par la PLC produit le diacylglycérol, contenant de l'acide arachidonique, qui par l'action de la DGL produit le 2-AG (Stella *et al*, 1997a) ; (Kondo *et al*, 1998). Une autre voie pouvant générer le 2-AG évoqueraient l'implication des réactions séquentielles de la phospholipase A1 (PLA1) et la lyso-PLC (Sugiura *et al*, 1995; Tsutsumi *et al*, 1994; Ueda *et al*, 1993). Les voies de la biosynthèse du 2-AG pourraient être différentes en fonction des tissus et du type de cellules. Elles pourraient également être dépendantes des conditions de stimulation.

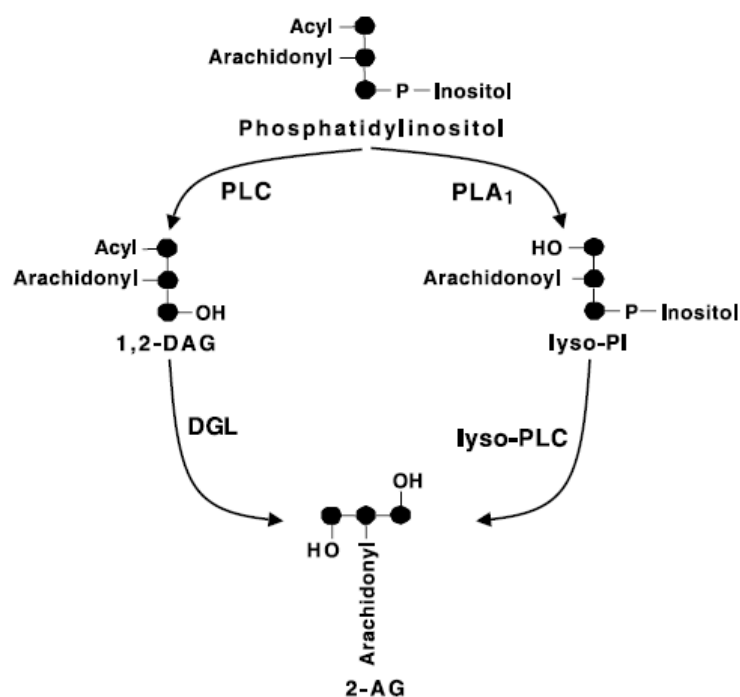


Figure 10. Les voies de la biosynthèse du 2-arachidonoylglycérol (2-AG). *PLC*, phospholipase C; *DAG*, 1,2-diacylglycérol; *DGL*, 1,2-diacylglycérol lipase; *PLA1*, phospholipase A1; *PI*, phosphatidylinositol. Adapté de Freund *et al.*, 2003.

b. Transport des eCB

Les neurotransmetteurs classiques sont souvent inactivés par la recapture des neurones ou des astrocytes et ensuite dégradés. Le transport des eCB, molécules hydrophobes, dans l'espace extracellulaire pour atteindre les récepteurs CB₁ et leur recapture restent hypothétiques.

Certains modèles ont été proposés pour l'AEA. Le premier suggère que l'AEA est transporté par une protéine porteuse qui en se liant à l'AEA la transfère d'un côté de la membrane à l'autre côté (Fegley *et al.*, 2004; Ligresti *et al.*, 2004). Le second modèle est que l'AEA passe au travers de la membrane par la diffusion simple facilitée par le gradient de concentration des enzymes intervenant dans sa dégradation intracellulaire (Glaser *et al.*, 2003). Le troisième modèle est que l'AEA subit une endocytose cavéolaire (McFarland *et al.*, 2004). Au contraire de l'AEA, il y a peu d'information concernant les mécanismes de recapture du 2-AG.

c. Dégradation des eCB

Les eCB peuvent être dégradés par deux voies métaboliques différentes, l'hydrolyse et l'oxydation (Vandevorde and Lambert, 2007). Les enzymes qui sont impliquées dans l'hydrolyse des eCB sont la fatty acide amide hydrolase (FAAH) qui dégrade l'AEA et la monoacylglycérol lipase (MGL) qui dégrade le 2-AG. La seconde voie implique la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (LOX) qui induisent l'oxydation des eCB.

4. Signalisation centrale du CB₁ et la modulation des fonctions synaptiques

Comme mentionné ci dessus, les CB₁ sont parmi les RCPG les plus abondants parmi les dans le cerveau. L'hétérogénéité des voies de signalisation intracellulaire générées par l'activation du CB₁ pourrait expliquer les différentes conséquences physiologiques de la stimulation des CB₁.

a. Voies de signalisation du récepteur CB₁- dépendant

La stimulation du récepteur CB₁ par un agoniste induit le recrutement et l'activation de protéines G, principalement de type G $\alpha_{i/o}$, qui a pour conséquence la fermeture des canaux calciques, la modulation de différents canaux potassiques et l'inhibition de la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) par l'adénylate cyclase (Turu and Hunyady, 2010) (Figure 11). En parallèle, le dimère $\beta\gamma$ libéré par la protéine G $\alpha_{i/o}$ active la PLC, régulatrice des taux de calcium intracellulaire par la voie l'inositol-triphosphate (IP3) et module l'activité de l'adénylate cyclase et de différentes kinases (dont celles impliquées dans les voies MAPK, PI3K, JNK, et ERK) (André and Gonthier, 2010). L'activation du CB₁ module également la production de l'AMPC et augmente le calcium intracellulaire à travers l'activation des protéines G α_s (Hampson *et al*, 2000) et des protéines G α_q (Lograno and Romano, 2004; Navarrete and Araque, 2008). L'AMPC est un second messenger intracellulaire qui, par l'intermédiaire de la protéine kinase A (PKA), active la voie ERK/CREB régulatrice de l'expression génique. Ainsi, l'activation de ERK a été impliquée dans le contrôle des processus mnésique dépendant du CB₁ (Cannich *et al*, 2004). Récemment, il a été montré que l'effet amnésiant de la Δ^9 -THC impliquait l'activation de la voie mTOR, et la signalisation PI3K/AKT suite à l'activation du CB₁ des interneurons GABAergiques de l'hippocampe (Puighermanal *et al*, 2009). Cette activation de la voie mTOR module positivement la synthèse protéique, ce qui a eu pour conséquence un déficit mnésique à long-terme (Puighermanal *et al*, 2009). La stimulation du CB₁ est donc associée à de nombreuses voies de signalisation intracellulaires, dont l'activation dépend du type de cellules/structure étudiées (Derkinderen *et al*, 2001, 2003; Puighermanal *et al*, 2009; Rueda *et al*, 2002).

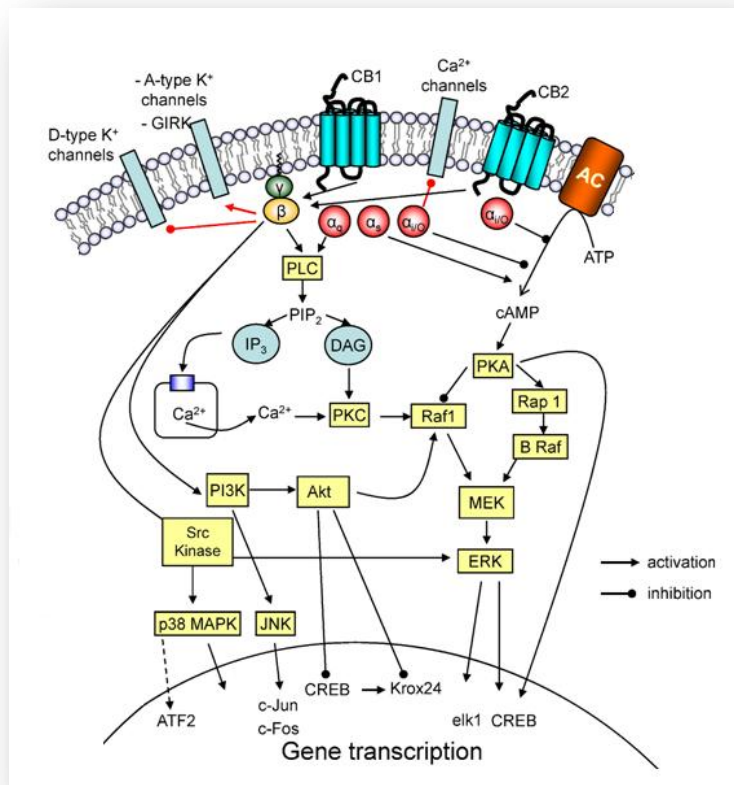


Figure 11. La transduction du signal induite par l'activation du CB₁. La stimulation du CB₁ active différents types de protéines G induisant l'ouverture des canaux potassiques, la fermeture de canaux calciques, ainsi que la modulation de différentes voies de signalisation intracellulaires dont certaines aboutissent à la régulation de l'expression génique. Adapté d'André & Gonthier, 2010.

b. Inhibition de la libération des neurotransmetteurs

Les approches électrophysiologiques et biochimiques ont permis de montrer que l'activation du CB₁ inhibe la libération des neurotransmetteurs (Schlicker and Kathmann, 2001) (Figure 12). Le glutamate (Lévénés *et al*, 1998), le GABA (Szabo *et al*, 1998), la glycine (Jennings *et al*, 2001), l'acétylcholine (Gifford and Ashby, 1996), la norépinéphrine (Ishac *et al*, 1996), la dopamine (Cadogan *et al*, 1997), la sérotonine (Nakazi *et al*, 2000) et la cholecystokinine (Beinfeld and Connolly, 2001) sont régulés par le CB₁.

L'inhibition de la libération du glutamate par le WIN55,212-2, un agoniste du récepteur CB₁, a été rapportée pour la première fois sur une culture de neurones hippocampiques (Shen *et al*, 1996). Le WIN55,212-2 inhibe les courants post-synaptiques excitateurs (EPSC) et cette inhibition est annulée, un antagoniste spécifique du récepteur CB₁ indiquant l'implication du récepteur CB₁ dans ces effets. L'inhibition de la libération du glutamate dépendante du CB₁ a

été également mis en évidence dans le cervelet, le striatum et le cortex (Schlicker and Kathmann, 2001).

Les effets inhibiteurs sur la libération du GABA par la stimulation du récepteur CB₁ ont été investigués sur des neurones du striatum (Szabo *et al*, 1998) et dans la substance noire (Chan *et al*, 1998). Dans ces neurones, le WIN55,212-2 inhibe les courants post-synaptiques inhibiteurs (IPSC) et l'antagoniste spécifique du récepteur CB₁ annule cet effet confirmant encore une fois l'implication du récepteur CB₁ (Chan and Yung, 1998; Szabo *et al*, 1998). L'inhibition de la libération du GABA dépendante du CB₁ a été également rapportée dans l'hippocampe, le cervelet et le noyau accumbens (Schlicker and Kathmann, 2001). L'implication des canaux calciques voltage-dépendent a été proposée dans l'inhibition de la libération du GABA dans l'hippocampe (Hoffman and Lupica, 2000) et l'inhibition de la libération du glutamate au niveau cortico-striatales (Huang *et al*, 2001). L'implication possible des canaux potassiques dans l'inhibition de la libération du glutamate a été également suggérée dans le noyau accumbens (Robbe *et al*, 2001). La signalisation en aval de l'influx calcique serait également impliquer dans l'inhibition pré-synaptique de la transmission excitatrice (Yamasaki *et al*, 2006) et inhibitrice (Takahashi and Linden, 2000) dans le cervelet. Donc, les mécanismes pré-synaptiques soulignant l'inhibition de la libération des neurotransmetteurs pourraient être différents en fonction de type de synapses étudiées.

c. Régulation des changements morphologiques neuronaux

L'activation du CB₁ peut induire des changements morphologiques des neurones. En effet une telle activation a inhibé 1) la formation de nouvelles synapses sur des neurones hippocampiques en culture (Kim and Thayer, 2001), 2) la rétraction des neurites des cellules neuroblastomes (Zhou and Song, 2001), et 3) l'extension des cônes de croissance des neurones GABAergiques dans le cortex (Berghuis *et al*, 2007). L'inhibition de la formation de nouvelles synapses et la rétraction des neurites semble impliquer les voies de signalisation dépendantes de l'AMPC alors que la rétraction des cônes de croissance semble impliquer l'activation de protéines appartenant à la famille de RhoA (He *et al*, 2006).

d. Contrôle de la plasticité synaptique

- **Plasticité synaptique à court-terme**

Comme cela a été détaillé précédemment, les eCB sont des messagers rétrogrades au niveau des synapses. Produits et libérés par des neurones post-synaptiques, les eCB activent les CB₁ au niveau pré-synaptique et inhibent la libération des neurotransmetteurs. La compréhension de ce mécanisme repose sur la découverte d'une nouvelle forme de plasticité synaptique démontrée quasi simultanément dans le cervelet et l'aire CA1 de l'hippocampe (Llano *et al*, 1991; Pitler and Alger, 1992). Il s'agit d'une dépression de courte durée de la transmission GABAergique induite par la dépolarisation membranaire. Ce phénomène a été nommé 'suppression de l'inhibition induite par la dépolarisation' ou DSI. Cette induction de la DSI nécessite une augmentation du calcium intracellulaire dans les neurones post-synaptiques (Pitler and Alger, 1992; Vincent and Marty, 1993). En 2001, il est démontré que l'induction de la DSI dans l'hippocampe est complètement bloquée par l'application des antagonistes du récepteur CB₁, SR141716A, AM251 ou AM281 démontrant l'implication du CB₁ dans la DSI (Ohno-Shosaku *et al*, 2001; Wilson and Nicoll, 2001). La même année, un phénomène similaire à celui de la DSI est découvert au niveau des synapses excitatrice du cervelet (Kreitzer and Regehr, 2001; Maejima *et al*, 2001). La transmission excitatrice des cellules de Purkinje a été transitoirement supprimée par la dépolarisation post-synaptique. On parle alors de 'suppression de l'excitation induite par la dépolarisation' ou DSE. La libération post-synaptique des eCB étant suffisante pour provoquer une inhibition rétrograde transitoire de la transmission synaptique, ces molécules endogènes apparaissent comme des médiateurs majeurs de la plasticité synaptique à court terme.

De manière intéressante, des études récentes indiquent que le 2-AG, plutôt que l'AEA, serait impliqué dans cette plasticité à court-terme (Gao *et al*, 2010; Tanimura *et al*, 2010; Yoshino *et al*, 2011). Ceci est à rapprocher de la libération tonique d'eCB suggérée en condition basale (Di Marzo, 2011). En effet, sur des neurones hippocampiques en culture, la transmission inhibitrice basale a été régulée par l'activité de la MAGL, mais pas par celle de la FAAH suggérant une libération tonique de 2-AG (Hashimotodani *et al*, 2007).

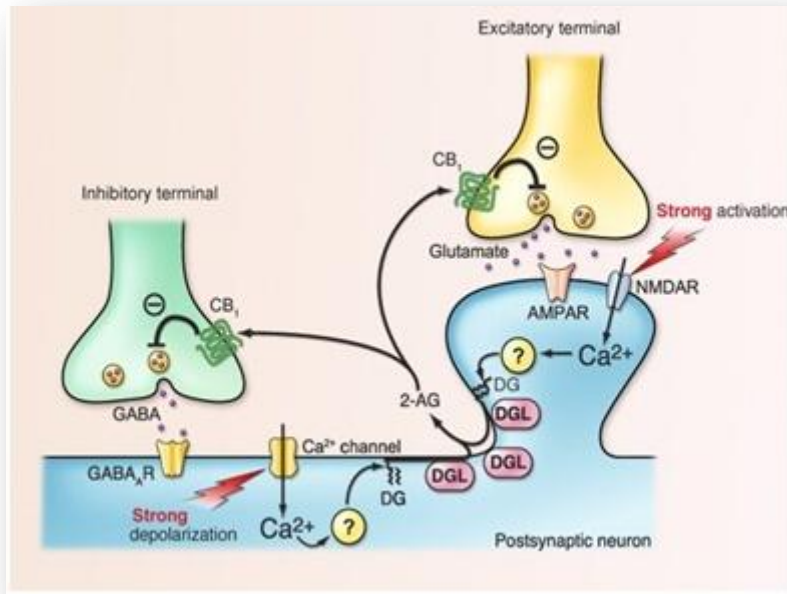


Figure 12. Mécanismes d'inhibition de la libération des neurotransmetteurs régulés par les endocannabinoïdes. La dépolarisation de la membrane et l'activation des récepteurs NMDA du neurone post-synaptique induisent une augmentation de la concentration du calcium intracellulaire qui induit à son tour la synthèse et la libération des endocannabinoïdes dans la fente synaptique. Les endocannabinoïdes libérés vont agir sur les CB₁ exprimés au niveau des terminaisons présynaptiques qui ont pour effet d'inhiber la libération des neurotransmetteurs (Adapté de Kano *et al.*, 2009).

- **Plasticité synaptique à long terme**

Il est possible d'induire une dépression à long-terme (LTD) qui nécessite l'activation pré-synaptique du CB₁ et se traduit par une diminution persistante (30-40 minutes) de la libération de neurotransmetteur au niveau pré-synaptique. Les eCB sont libérés à partir des neurones post-synaptiques en réponse aux stimuli similaires à ceux présentés dans le cas de la plasticité à court terme (augmentation de calcium intracellulaire, activation des récepteurs métabotropiques). Au contraire d'autres formes de plasticité à long terme, cette LTD est indépendante des récepteurs ionotropiques au glutamate (Chevalyere *et al.*, 2006). La LTD contrôlée par les eCB s'exerce sur la transmission excitatrice (Gerdeman *et al.*, 2002; Robbe *et al.*, 2002; Sjöström *et al.*, 2003) et la transmission inhibitrice (Chevalyere and Castillo, 2003; Marsicano *et al.*, 2002) et a été mise en évidence dans l'amygdale (Marsicano *et al.*, 2002), l'hippocampe (Chevalyere and Castillo, 2003), le néocortex (Sjöström *et al.*, 2003) et le noyau accumbens (Robbe *et al.*, 2002). Ceci suggère un rôle important de cette forme de plasticité dans la régulation des circuits neuronaux.

- **Contrôle d'autres formes de plasticité**

Les cannabinoïdes exogènes influencent également la plasticité synaptique. Des effets bi-phasiques dépendants de la dose des cannabinoïdes sur la LTP ont également été rapportés. A faible dose, la THC augmente l'induction de la LTP alors qu'une forte dose inhibe la LTP (Kujtan *et al*, 1983; Nowicky *et al*, 1987; Vardaris and Weisz, 1977). Néanmoins il est classiquement admis que l'application des agonistes du récepteur CB₁ empêche l'induction de LTP au niveau des neurones pyramidaux du CA1 (pour revue voir (Alger, 2002)). Ceci suggère que les perturbations de mémoire et d'apprentissage suite à l'administration de cannabinoïdes exogènes pourrait impliquer des perturbations de plasticité synaptique. L'inhibition de la LTP par des cannabinoïdes semble due à une diminution de la libération du glutamate durant la mise en place de la LTP *via* une activation du CB₁ sur les terminaisons pré-synaptiques des afférents glutamatergiques (Misner and Sullivan, 1999). En effet les effets sont observés en présence de picrotoxine (Misner and Sullivan, 1999) ce qui suggère une action au niveau des terminaisons glutamatergiques.

Alors que les études d'enregistrement électrophysiologique *in vitro* ont démontré que l'application des agonistes exogènes des récepteurs CB₁ inhibent la LTP, l'action des eCB sur la régulation de l'induction de la LTP ou la LTD *in vivo* reste peu exploré. Cependant la libération transitoire des eCB en réponse à la dépolarisation entraîne la suppression de l'inhibition et donc désinhibe le neurone pyramidal. Ces effets conduisent à une augmentation de la LTP des synapses excitatrices (Carlson *et al*, 2002).

La LTD des synapses inhibitrices dépendante des eCB (I-LTD *eCB-dépendant*) a été également démontrée avec le détail mécanistique qui fait le lien entre la neurotransmission excitatrice et les récepteurs mGluR post-synaptiques avec la dépression hétéro-synaptique de la libération du GABA des interneurons cannabinoïde-sensible dans la zone *stratum radiatum* de l'hippocampe (Chevalleyre and Castillo, 2003). Chevalleyre et Castillo ont montré que l'activation des afférents glutamatergiques était suffisante pour induire l'I-LTD et que cette induction de l'I-LTD était bloquée par un antagoniste du récepteur CB₁. L'I-LTD hétéro-synaptique est dépendante des récepteurs mGluR, mais pas du calcium, et elle est complètement bloquée par des inhibiteurs de la DAG lipase suggérant que la synthèse du 2-AG est nécessaire pour induire cette forme de l'I-LTD hétéro-synaptique dans l'hippocampe.

E. Système endocannabinoïde en condition d'obésité

1. Rôle dans la prise alimentaire et la masse corporelle

Le système eCB participe à la régulation de la prise alimentaire et de l'équilibre énergétique au travers de l'action coordonnée entre le cerveau et les tissus périphériques (Pagotto *et al*, 2006; Piomelli, 2003; Quarta *et al*, 2010). Il est généralement considéré comme un système favorisant la prise alimentaire et le stockage des calories, orientant ainsi l'organisme vers la prise de poids et le gain d'adiposité (Bermudez-Silva *et al*, 2012a; Jamshidi and Taylor, 2001; Williams and Kirkham, 1999). Administrés au niveau central ou périphérique, le 2-AG et l'AEA augmentent la prise alimentaire (Jamshidi and Taylor, 2001; Kirkham *et al*, 2002; Williams and Kirkham, 1999). Cet effet implique l'activation du CB₁ puisque l'administration d'un antagoniste sélectif du récepteur CB₁ inhibe l'effet orexigène de l'AEA ou du 2-AG (Kirkham *et al*, 2002; Williams and Kirkham, 1999). Inversement, des souris déficientes en récepteur CB₁ (CB₁^{-/-}) sont résistantes à la prise de poids induit par la consommation d'un régime HL (Massa *et al*, 2010; Ravinet Trillou *et al*, 2004).

Chez des souris obèses, un traitement pharmacologique par un antagoniste du CB₁ (SR141716 ou Rimonabant) entraîne une diminution de la prise alimentaire durant la première semaine. Pourtant, la perte de poids se prolonge pendant les 5 semaines suivantes malgré une normalisation de la prise alimentaire (Jbilo *et al*, 2005; Ravinet Trillou *et al*, 2003). Ceci a suggéré que la perte de poids n'est pas exclusivement consécutive à une diminution de la prise alimentaire (Matias and Di Marzo, 2007; Pagotto *et al*, 2006) et l'hypothèse d'une augmentation de la dépense énergétique a été avancée en observant une augmentation de la consommation basale d'oxygène chez des souris obèses traitées avec le Rimonabant (Liu *et al*, 2005). Ces observations suggèrent que le système eCB est associé à des régulations métaboliques indépendantes de la prise alimentaire. De manière intéressante, la présence des CB₁ a été décrite sur les adipocytes blancs (Bensaid *et al*, 2003; Cota *et al*, 2003) et le système eCB participerait à la différenciation du tissu adipeux, puisque le blocage du CB₁ *in vitro* entraîne la transformation de tissu adipeux blanc en un tissu riche en mitochondrie proche du tissu adipeux brun (Perwitz *et al*, 2010). Ces résultats sont en accord avec l'augmentation de la dépense énergétique, de l'oxydation lipidique et de la thermogénèse observée après administration d'un antagoniste du récepteur CB₁ *in vivo* (Nogueiras *et al*, 2008; Verty *et al*, 2009). En parallèle des effets au niveau de l'adipocyte, l'activation des CB₁ des hépatocytes augmente l'expression des enzymes de la lipogénèse, ce qui augmente la synthèse *de novo* des acides gras, en particulier lors d'exposition au régime riche en gras

(Osei-Hyiaman *et al*, 2005). Ce rôle spécifique du CB₁ hépatique est illustré par le fait qu'un antagoniste périphérique du récepteur CB₁ permet de corriger l'insulino-résistance chez des animaux obèses qui n'expriment CB₁ qu'au niveau hépatique (Tam *et al*, 2010).

Chez l'homme aussi le système eCB semble être particulièrement actif chez les sujets obèses (Bermudez-Silva *et al*, 2012b). Les concentrations plasmatiques d'eCB sont plus élevées chez les sujets obèses (Blüher *et al*, 2006; Côté *et al*, 2007; Engeli *et al*, 2008) et une perte de poids chez 49 sujets obèses grâce à une prise en charge hygiéno-diététique d'une année est associée à une diminution significative des concentrations plasmatiques d'AEA tandis et surtout de 2-AG (Di Marzo *et al*, 2009). Chez l'homme aussi l'administration du Rimonabant permet de diminuer le poids mais aussi d'améliorer les paramètres métaboliques des patients obèses ou en surpoids (Després *et al*, 2005; Pi-Sunyer *et al*, 2006; Scheen *et al*, 2006; Van Gaal *et al*, 2005). Malheureusement, le Rimonabant présente d'importants effets secondaires psychiatriques (dépression, anxiété) qui ont conduit à son retrait du marché en 2008. Il n'en reste pas moins que les études réalisées chez l'Homme sont toutes en faveur d'une hyperactivité du système eCB et que ce système constitue encore une perspective thérapeutique intéressante. De fait, des études récentes indiquent que l'administration d'un antagoniste exclusivement périphérique du récepteur CB₁ à des souris obèses permettait d'obtenir des bénéfices métaboliques significatifs sans effets secondaires psychiatriques (Cluny *et al*, 2011; Tam *et al*, 2010).

2. Surpoids et obésité et perturbation du système endocannabinoïde

L'obésité induite par la consommation d'un régime HL entraîne des perturbations du système eCB au niveau cérébral. Ainsi l'expression du CB₁ est affectée par la consommation d'un régime HL chez les souris (South and Huang, 2008) et cela dépend de la durée d'exposition au régime et de la région du cerveau. Alors qu'une exposition de 3 semaines augmente la densité du CB₁ dans le cortex insulaire, le bulbe olfactif et l'hypothalamus, la consommation du régime HL durant 20 semaines diminue l'expression du CB₁ au niveau de la substance noire et de l'aire tegmental ventral. Il est à noter que la densité du récepteur CB₁ dans l'hippocampe n'est pas affectée par la consommation d'un régime HL quelque soit la durée d'exposition au régime (South and Huang, 2008). L'augmentation du CB₁ après 3 semaines de régime HL et la diminution après 20 semaines pourraient résulter d'une diminution puis d'une augmentation de la libération des eCB. Une autre étude a également

montré que la consommation chronique d'aliments palatables diminue l'expression du CB₁ dans le cortex, l'hippocampe et le noyau accumbens chez le rat (Harrold *et al*, 2002).

Cependant d'autres études se sont focalisés sur l'hippocampe et ont obtenu des résultats différents concernant les effets de la consommation d'un régime HL. Ainsi chez le rat, la consommation d'un régime HL pendant 12 semaines augmente l'expression du CB₁ et les niveaux d'AEA dans l'hippocampe. A noter également une augmentation du ratio des enzymes de synthèse (PLD) et de dégradation (FAAH) de l'AEA suggérant là encore une diminution du turn-over de l'AEA chez les rats soumis sous le régime HL. Les niveaux de 2-AG et le ratio DAGL/MAGL n'est pas affecté par la consommation de ce régime indiquant que le métabolisme du 2-AG n'est pas modifié par le régime HL (Rivera *et al*, 2013). En accord avec cette étude, Massa et collaborateurs ont démontré que les souris obèses suite à la consommation d'un régime HL pendant 12 semaines présentent une augmentation de la densité du CB₁ dans le CA1 et CA3 (mais pas dans le DG) associés à des niveaux plus importants d'AEA et de 2-AG (Massa *et al*, 2010). Contrairement à l'étude précédente, ces souris obèses montrent une augmentation d'expression de la protéine DAGL α (enzyme de synthèse du 2-AG) suggérant une augmentation de la production du 2-AG chez ces souris obèses (Massa *et al*, 2010).

Il semble donc que les régimes HL puissent modifier le système eCB au niveau hippocampique. Il reste à identifier en quoi cela pourrait participer aux altérations mnésiques de ces animaux.

III. Périodes périnatales et adolescence : Développement et maturation du cerveau

A. Période périnatale : Développement du cerveau

Toutes les tâches effectuées par le système nerveux mature en allant de la perception d'informations sensorielles jusqu'aux fonctions cognitives comme la mémoire et l'apprentissage, dépendent des interconnexions précises entre de nombreuses neurones. Ces connexions sont établies depuis le développement embryonnaire et la période postnatale précoce. Le développement du système nerveux dépend de l'expression des gènes particuliers dans différentes régions spécifiques du cerveau et aux différents moments durant le développement. Ce pattern spatio-temporel d'expression des gènes est régulé par plusieurs acteurs moléculaires et par des processus épigénétiques. Les facteurs qui régulent la

différentiation neuronale proviennent à la fois des sources cellulaires de l'embryon mais aussi des facteurs environnementaux externes tels que les nutriments, les stimuli sensoriels, et l'influence sociale. L'interaction entre les facteurs intrinsèques et extrinsèques est critique pour le développement normal des réseaux neuronaux de l'individu.

Le cerveau humain subit des changements structuraux et fonctionnels de manière remarquable lors du troisième trimestre de grossesse. Ces changements ont commencé avec la structure bilobée, puis la structure cérébrale devient plus complexe et ressemble au cerveau d'un adulte. Une augmentation de la complexité reflète largement la croissance de neurones corticaux, la différenciation et les connexions synaptiques. En particulier, les cortex visuels et auditifs commencent à se développer rapidement étant donné qu'ils sont les régions cérébrales impliquées dans le langage et les fonctions cognitives (Thompson and Nelson, 2001). La myélinisation et la formation de synapse commence avant la naissance. L'hippocampe qui est une structure clé pour l'apprentissage et la mémoire de reconnaissance a établi la plupart de ses connexions avec le cortex entorhinal et a commencé à émettre ses projections vers les noyaux thalamiques et le cortex frontal. Ces structures sont particulièrement vulnérables aux effets délétères de la malnutrition dans cette période de vie.

B. Période périnatale : une période de vulnérabilité

L'environnement postnatal précoce englobe plusieurs éléments essentiels dont beaucoup d'entre eux sont largement transmis par l'interaction mère-enfant. L'étude de modèles animaux a démontré que les agents bioactifs maternels peuvent être transférés de la mère vers son enfant via le placenta et que ces molécules bioactives peuvent affecter le développement cérébral de l'enfant qui pourrait prédisposer au développement de certaines pathologies à l'âge adulte. Ces éléments sont la base de la théorie des origines développementales de la santé et des pathologies de Barker qui a postulé que l'environnement précoce de la vie détermine le fonctionnement cérébral et le développement des pathologies à l'âge adulte à travers la programmation précoce de la structure et des fonctions du cerveau (Barker, 2004). Par ailleurs, les conséquences d'adversité précoce sur les fonctions cognitives sont également confirmées par des études précliniques chez le rongeur (Lucassen *et al.*, 2013).

1. Concept des origines développementales de la santé

Le concept des origines développementales (*Developmental Origins of Health and Disease*) est fondé sur l'observation que l'environnement précoce (nutrition maternelle et même paternelle, composés chimiques, pollution, drogue, infections, style de vie, ...) a des effets à long terme sur le phénotype de l'individu. Les études épidémiologiques et expérimentales montrent l'impact d'un retard de croissance intra-utérin, mais aussi de l'excès de poids fœtal, sur la susceptibilité à développer plus tard un syndrome métabolique, mais également d'autres pathologies (maladies mentales, ostéoporose, infertilité...). Les processus épigénétiques, qui régulent l'établissement des profils d'expression de gènes au cours du développement, en sont la base moléculaire. Ils incluent notamment la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones et le remodelage de la chromatine. De par sa plasticité, l'épigénome intègre l'impact de l'environnement et génère des modifications structurelles et/ou fonctionnelles de tissus au cours du développement induisant, chez l'adulte, une variabilité dans la réaction et l'adaptation à de nouveaux stimuli environnementaux et une susceptibilité/résistance à développer certaines maladies (Chavatte-Palmer *et al*, 2012).

La programmation nutritionnelle pourrait expliquer la prédisposition de certains individus à développer certaines maladies non transmissibles à l'âge adulte liée par exemple à la privation nutritionnelle *in utéro* ou durant l'enfance. En effet, la nutrition maternelle peut programmer et modifier les patterns d'expressions de certains gènes chez l'embryon qui persistent à l'âge adulte et pourrait favoriser l'apparition de l'hypertension, la résistance à l'insuline, l'hyperlipidémie et l'obésité abdominale, des caractéristiques du syndrome métabolique (Symonds *et al*, 2009).

Le terme 'plasticité développementale' qui a été proposé par certains auteurs est défini comme l'aptitude d'un génotype unique à produire plusieurs phénotypes différents en réponse à des changements de circonstance environnementale (McMillen *et al*, 2008).

2. Surnutrition maternelle et développement du cerveau chez l'enfant

Un excès de consommation par la mère de certains nutriments apparaît également influencer le développement du cerveau chez la descendance. Il existe de preuves que la consommation de régimes hypercaloriques notamment HL conduit à des déséquilibres énergétiques et peut favoriser le développement de l'obésité à l'âge l'adulte. En plus des effets de l'obésité maternelle sur les fonctions métaboliques et le système endocrinien chez la descendance, des études récentes chez l'animal démontrent que les petits de mère obèse

présentent des anomalies cérébrales. Le régime HL maternel diminue la sensibilité à la leptine hypothalamique (Férezou-Viala *et al*, 2007) et augmente l'expression des neuropeptides impliqués dans la prise alimentaire comme la galanine, l'énképhaline et la dynorphine dans le PVN chez la descendance (Chang *et al*, 2008). Les enfants qui sont nés de mère soumise au régime HL présentent également une augmentation de la prise alimentaire et le poids corporel plus important au moment du sevrage (Chang *et al*, 2008). Les descendants de mères obèses présentent également une hyperlipidémie et une augmentation d'accumulation de lipide peroxydé dans l'hippocampe associé à une diminution de la neurogenèse hippocampique (formation de nouveaux neurones) durant le développement postnatal (Tozuka *et al*, 2009a). Ceci suggère que l'obésité maternelle perturbe la viabilité des cellules progénitrices et la production neuronale dans l'hippocampe chez la descendance en partie à cause de changements métaboliques et du stress oxydatif (Tozuka *et al*, 2009a). Cependant des études supplémentaires sont nécessaires afin de comprendre comment les substances maternelles via le placenta et le lait peuvent affecter le cerveau chez la descendance qui est en pleine croissance.

C. Adolescence : Définition et caractérisation

1. 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 est marqué par la puberté (Blakemore *et al*, 2010) processus neuroendocrinien engagé par le corps, qui se traduit par d'important 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 (par exemple, le génome, le climat et la société) et est en générale plus précoce chez les filles que chez les garçons. On considère que la puberté débute aux alentours de 12 ans dans les sociétés occidentales.

Si l'adolescence est associée à la puberté, ces 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 de premiers changements comportementaux typiques de l'adolescence. En effet, l'adolescence

est caractérisée par une augmentation des comportements sociaux et de la recherche de nouveauté et par l'apparition de conduite à risque (Spear, 2000). Au niveau neurobiologique, on observe la maturation de différentes structures cérébrales (détaillé dans le chapitre suivant). Ces changements vont s'étendre jusqu'à l'âge d'environ 20 ans (Crews *et al*, 2007). L'âge de la fin de l'adolescence qui marque la transition vers l'âge adulte reste flou (Figure 13.).

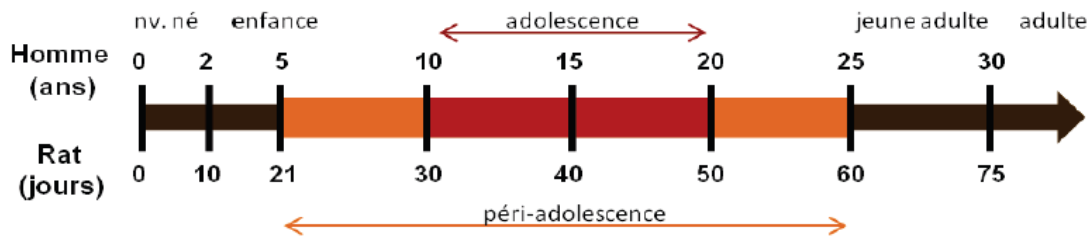


Figure 13. Différence périodes de vie : comparaison du développement entre Homme et rongeur. (Modifié d'Andersen, 2003).

2. Chez l'animal

L'adolescence a été longtemps considérée comme une période propre de l'Homme. Cependant il est maintenant bien admis que l'ensemble des mammifères présentent un stade développemental qui s'apparente à l'adolescence humaine. Cette période concomitante à la puberté est caractérisée par une croissance de manière importante associée à plusieurs changements neurocomportementaux similaires à ceux observés chez l'Homme. Ainsi on retrouve une augmentation des comportements sociaux, des comportements de prise de risque et de la recherche de la nouveauté (Spear, 2000).

L'âge à laquelle l'adolescence débute et prend fin chez l'animal est compliqué à définir. Selon le critère pris en compte pour la définir (maturité sexuelle, maturation cérébrale, comportements spécifiques...) et l'espèce considérée, les limites de l'adolescence varient d'un auteur à l'autre. Ainsi, chez le rongeur, Spear la situe entre les jours post-natals 28 et 42 (P28-42). Andersen la considère comme s'étendant de P30 et P50 et Tirelli la divise en 3 périodes : la pré-puberté allant de P21-34 (P21 étant le sevrage), l'adolescence de P34-46 et l'adolescence tardive de P46-59 (Andersen, 2003; Spear, 2000; Tirelli *et al*, 2003) (Figure 13). En ce qui concerne le début de l'âge adulte, il y a cette fois un consensus entre auteurs, qui la considère en général comme débutant à P60 (McCormick and Mathews, 2007). Il est

important de noter que les études ciblant la période de l'adolescence sont peu nombreuses et la majorité des études chez le rongeur considère les animaux comme adolescents à partir du sevrage. Nous considérerons donc l'adolescence du sevrage à l'âge adulte soit de P21 à P60.

D. Adolescence, une période de maturation

1. Maturation du cerveau

Chez les mammifères, le développement du cerveau est loin d'être terminé à la naissance de l'individu, sa maturation continue 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, en particulier pour certaines structures. Pendant l'enfance on observe une surproduction neuronale dans le cerveau, qui se traduit par un nombre important de synapses. Ensuite, les neurones vont poursuivre le processus d'élimination compétitive, ou '*pruning*', lors de laquelle les neurones surnuméraires non intégrés au réseau seront 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 l'ensemble des mammifères.

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 peut considérer 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, 2000).

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, 2000)

Le *pruning* et la myélinisation permettent de réorganiser le réseau neuronal lors de l'adolescence afin d'optimiser les 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 peuvent apparaître (anxiété, dépression, schizophrénie, psychoses, addictions, et troubles nerveux du comportement alimentaire telles la boulimie et l'anorexie).

Plus particulièrement, trois 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.

a. Cortex préfrontal et contrôle de cognition

Les changements neurobiologiques que nous venons d'évoquer (*pruning* et myélinisation) sont particulièrement remarquable au niveau des zones frontales, et particulièrement du cortex préfrontal (CPF). En plus de la diminution du volume de la matière grise (i.e. nombre de neurones), et de l'élimination synaptique, les niveaux relatifs des différents neurotransmetteurs et l'expression de leurs récepteurs se modifient pendant l'adolescence correspondant au pattern retrouvé chez les adultes (Cournot *et al*, 2006). L'importance de la maturation de cette structure est de permettre 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 BLA diminue de 50% pendant la fin de

l'adolescence (P45-90). Ce *pruning* des synapses du CPF sur la BLA est donc relativement tardif, et entraîne des changements au sein de ces deux structures (Cressman *et al*, 2010).

b. Hippocampe et mémoire épisodique

Durant les premières phases du développement de l'individu, le nombre de neurones et de synapses excitatrices dans l'hippocampe augmentent de manière importante. Ces synapses sont remodelées lors de l'adolescence grâce au *pruning*. 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 les premières années de la vie, notamment dans le gyrus denté et le cortex entorhinal, 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), 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 la neurogenèse est plus important en début d'adolescence (P30) qu'à l'âge adulte (P120) dans les deux zones cérébrales où la neurogenèse perdure à l'âge adulte, i.e. le gyrus denté et la zone sous-ventriculaire (He and 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 de la mort neuronale (Cushman *et al*, 2012). Ainsi, une diminution importante 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 NMDA glutamatergiques dans les cellules pyramidales (entre P28-60).

Au niveau fonctionnel, l'activation de l'hippocampe par la nouveauté va émerger en début d'adolescence, autour de 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 and Bunge, 2012).

c. Amygdale et gestion des émotions

Si l'architecture neuroanatomique de l'amygdale est présente dès la naissance, le volume de l'amygdale augmente en continu pendant l'enfance et l'adolescence. La prolifération cellulaire y est très importante (Saul *et al*, 2014), 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 ce type de discrimination. 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 de prendre les mêmes décisions rationnelles que les adultes en conditions neutres, ils sont beaucoup plus affectés en conditions stressantes.

2. Maturation de l'axe corticotrope

Au début de l'adolescence, la sécrétion des GC en réponse à différents stress est retardée et prolongée comparativement à l'adulte. L'axe HPA continue à être actif de manière prolongée suite à l'exposition à un stress pendant toute l'adolescence. En effet, une augmentation des niveaux d'ACTH et de GC, induit par un stress physique ou psychologique aigu, met deux fois de temps à revenir au niveau basal chez le rat en début d'adolescence comparativement aux 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). Ceci suggère que la mise en place d'un rétrocontrôle fonctionnel a lieu lors de l'adolescence. En effet, avant P30, le rétrocontrôle négatif est immature, comme en témoigne la forte concentration de corticostérone, plus d'une heure après un stress aigu chez des rats de P21 et P25 (Schapiro *et al*, 1962). Chez la souris, les mâles présentent une plus forte sécrétion de GC en réponse à un stress de contention à P30 qu'à P75. 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 and Mathews, 2007). 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 plus 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 and Mathews, 2007; Romeo, 2010).

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 le rat 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 plus 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 conditions stressantes lors de 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 par le CPF n'est pas assez fonctionnelle pour atténuer la réponse de peur chez les adolescents (Malter Cohen *et al*, 2013).

3. Système endocannabinoïde et adolescence

a. Changements à l'adolescence

Le système eCB subit d'importants changements pendant l'adolescence différents selon le sexe et la région du cerveau. Chez le mâle, dans l'ensemble des structures les taux du 2-AG sont maximal à P29, diminuent à P38 et augmentent à P50 (Ellgren *et al*, 2008). Les taux d'AEA augmente de P29 à P50 dans le CPF alors que dans l'hippocampe, l'amygdale, et l'hypothalamus, ils augmentent de P25 à 35, diminuent à P45 et re-augmentent une fois à l'âge adulte (P70). L'activité de FAAH suit le même pattern que celui de l'AEA (Lee *et al*, 2013). Chez la femelle, la concentration d'AEA augmente de P46-60 dans le CPF, puis

diminue de P60-75 alors que la concentration du 2-AG reste stable à travers de la période d'adolescence (Rubino *et al*, 2015). L'expression du CB₁ dans le CPF atteint le pic d'expression à P25 et diminue progressivement jusqu'à l'âge adulte (P70 ;(Heng *et al*, 2011).

b. Impact d'une exposition aux cannabinoïdes à l'adolescence

- Chez l'Homme

L'usage chronique du cannabis avant l'âge de 17 ans présente des conséquences plus sévères sur les fonctions cognitives comparativement à l'usage chronique à l'âge adulte. En effet, l'usage chronique du cannabis avant l'âge de 17 ans est associé à des déficits de mémoire de travail (Becker *et al*, 2010; Schweinsburg *et al*, 2008), d'attention (Meier *et al*, 2012), de fonction exécutive (Fontes *et al*, 2011) et de mémoire visuo-spatiale (Pope *et al*, 1997). La magnitude de ces déficits est proportionnelle à la fréquence, la dose et l'âge de début de l'usage (Meier *et al*, 2012; Schweinsburg *et al*, 2008). Des changements d'activité et de volume de l'hippocampe ont été mis en évidence chez les adolescents consommant du cannabis comparativement à ceux qui n'en consomment pas et ont été associés à une diminution des performances cognitives dépendantes de l'hippocampe même après une période d'abstinence (Ashtari *et al*, 2011). L'utilisation du cannabis pendant l'adolescence présente donc des effets délétères à long terme sur les fonctions et structures de l'hippocampe.

- Chez l'animal

L'exposition chronique de rats adolescents à des agonistes CB₁ (THC et WIN55,212-2) induit des déficits de mémoire plus marqués que lorsque l'exposition chronique a lieu à l'âge adulte (Quinn *et al*, 2008; Schneider and Koch, 2003). De manière similaire, des déficits de la mémoire de travail ont été observés chez les rats adultes ayant été exposés à des agonistes CB₁ durant l'adolescence dans une tâche de labyrinthe radial (Rubino *et al*, 2009) et de reconnaissance d'objet (Abush and Akirav, 2012). L'ensemble de ces résultats obtenus chez l'animal et l'Homme confirme que l'adolescence est une période critique et vulnérable aux effets délétères de l'exposition chronique aux cannabinoïdes sur les processus cognitifs.

IV. Obésité et mémoire

A. Mémoire en condition physiologique

1. Différents systèmes de mémoire

a. Généralité

La mémoire est un ensemble de processus qui permet 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 passé. Après la perception sensorielle des stimuli, certains éléments vont être filtrés pour être retenus, tandis que d'autres seront oubliés. Si quelques éléments peuvent être retenus à très court terme (quelques minutes) dans ce qu'on appelle la mémoire de travail et la mémoire à court terme, 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.

Le mémoire de travail et la mémoire à court terme permettent le stockage de manière transitoire et labile. La mémorisation à long terme peut être schématisée en 3 étapes successives qui sont l'encodage, le stockage, et la restitution des informations. L'encodage permet l'acquisition et le traitement des informations. Ensuite, le stockage de ces informations se fait lors de la consolidation. Cette phase permet le passage de l'information d'une forme labile et instable à une forme plus stable. Enfin, le rappel ou la restitution est la phase de récupération de l'information. Le stockage des informations fait donc appel au phénomène de consolidation. Le terme 'consolidation' est attribué à Muller et Pilzecker, qui ont démontré en 1900 qu'une information récemment acquise était sensible à des distracteurs pendant un délai de quelques minutes. Ainsi, une information qui vient d'être encodée doit subir un processus de consolidation qui lui confère une stabilité initiale. Deux processus de consolidation ont été proposés (Figure 14). Le premier est accompli dans les premières minutes suite à l'encodage de l'information et se mettra en place dans les structures et les circuits neuronaux qui encodent l'expérience. Ce phénomène est communément appelé la **consolidation cellulaire** (ou synaptique) (Figure 14A). Ce phénomène de consolidation cellulaire correspond à la création de nouvelles connexions synaptiques ou à la réorganisation de synapses existantes, conduisant à des changements morphologiques qui se mettent en place au cours des premières heures suite à un apprentissage (Dudai, 2004). Un autre type de consolidation prend des semaines, des mois voire même des années pour être accompli et il est nommé **consolidation systémique**. Il apparaît donc que ce type du processus de consolidation s'opère sur un délai bien plus long (Figure 14B). La consolidation systémique implique la réorganisation des circuits cérébraux qui sont impliqués dans la mémoire à long terme et concerne en particulier

le désengagement de l'hippocampe au profit des structures corticales (idée du transfert de la trace mnésique).

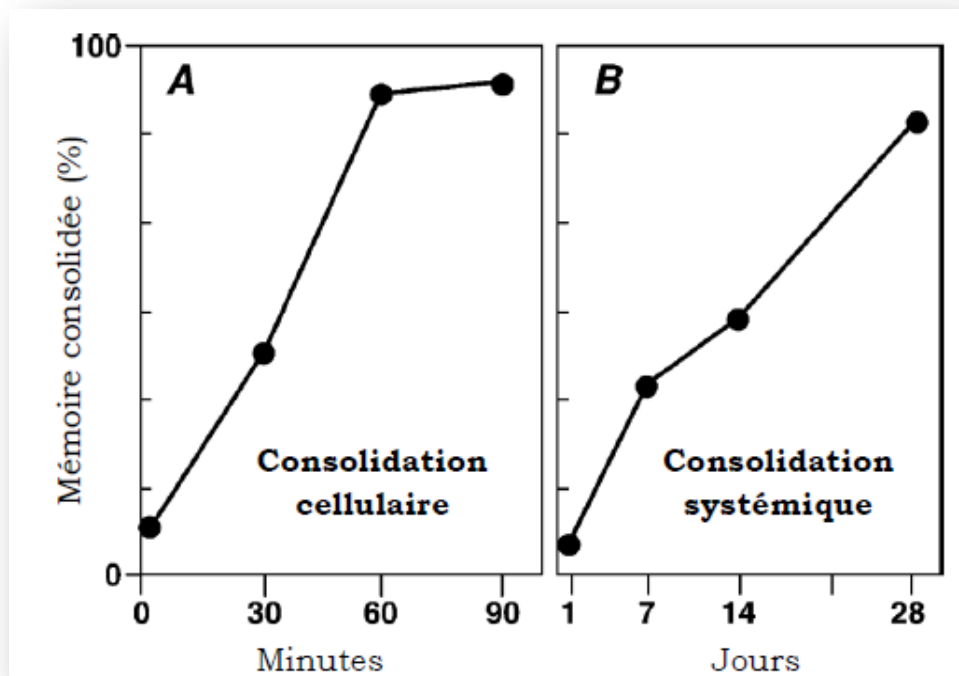


Figure 14. Déroulement temporel des processus de la consolidation mnésique. Le déroulement de la consolidation cellulaire (A) est déterminé en fonction de la sensibilité de la mémoire à des inhibiteurs de synthèse protéique et celui de la consolidation systémique (B) en fonction de la sensibilité à une lésion de l'hippocampe. D'après Dudai, 2004.

b. Machinerie cellulaire de la consolidation

Plusieurs études suggèrent que l'hippocampe est activé durant la consolidation de la mémoire (pour certaines formes ou aspects de la mémoire). Des changements moléculaires et cellulaires similaires se mettent en place suite à l'induction de la potentialisation à long terme (LTP) ou suite à un apprentissage suggérant que les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans (LTP) participaient également à la consolidation de la mémoire (Malenka and Nicoll, 1999). Ainsi l'inhibition de la synthèse protéique, qui bloque le maintien de la LTP (LTP tardive) mais pas son induction (LTP précoce) *in vitro* (Frey *et al*, 1988), bloque également la mémoire à long terme sans affecter la mémoire à court terme. La synthèse de nouvelle protéine serait indispensable à la stabilisation des changements synaptiques nécessaires à la mémoire à long terme. Corroborant cette hypothèse il a été montré que l'activation ou l'inactivation sélective de certaines kinases ou de certains gènes après

l'entraînement régulent la consolidation de la mémoire comme ils participent au maintien de la LTP hippocampique (Abel *et al*, 1998; Dudai, 1996) ; (Seidenbecher *et al*, 1997).

Par exemple on remarque une augmentation de la forme phosphorylée de la protéine kinase A (PKA) et de celle de CREB (cAMP response element-binding protein) dans l'hippocampe après apprentissage suggérant que l'activation de la voie AMPc-PKA-CREB participe à la consolidation de la mémoire (Bernabeu *et al*, 1997; Huang and Kandel, 1995; Schafe *et al*, 1999). En effet les inhibiteurs de la PKA ou un antisens de CREB infusés dans l'hippocampe après l'apprentissage perturbent la mémoire à long terme (Colley *et al*, 1990; Huang *et al*, 1992; Jerusalinsky *et al*, 1994) ; Guzowski and McGaugh, 1997; Tully, 1997).

Néanmoins les structures cérébrales ne joueraient pas toutes le même rôle dans la consolidation de la mémoire. Les inhibiteurs de la Calcium-calmodulin-dependent kinase II (CAMKII) perturbent la consolidation de la mémoire lorsqu'ils sont infusés dans l'amygdale ou l'hippocampe immédiatement après l'apprentissage (Barros *et al*, 1999; Malenka and Nicoll, 1999). Cependant, l'infusion intrahippocampique d'un agoniste de l'AMP cyclique (la 8-Br-AMPc), 3 heures après l'apprentissage atténue les effets amnésiants de l'inhibiteur de la CAMKII infusés dans l'amygdale. Au contraire, un tel traitement n'a pas d'effet sur une amnésie induite par l'infusion de l'inhibiteur de la CAMKII dans l'hippocampe. Ces résultats suggèrent que l'amygdale joue un rôle modulateur dans la consolidation de la mémoire alors que l'hippocampe est au centre du processus de consolidation de la mémoire.

c. Proposition de classification de différents systèmes de mémoire

Les premières études de neuropsychologie ont permis d'observer que des lésions de certaines zones du cerveau chez des patients victimes de traumatismes, d'opérations chirurgicales ou de syndromes lésionnels entraînaient parfois des troubles comportementaux bien spécifiques. Le cas le plus connu est celui du patient H.M. opéré par les docteurs Milner et Scoville au milieu des années 50 (Scoville and Milner, 1957). En enlevant la partie antérieure du lobe temporal médian incluant l'hippocampe dans les deux hémisphères du cerveau pour soigner un syndrome épileptique majeur, ils déclenchèrent chez ce patient une amnésie antérograde drastique. En effet, H.M. présentait une incapacité à former de nouveaux souvenirs. A partir du jour de l'opération, H.M. n'enregistra plus le moindre fait ou événement, tout en gardant les mêmes capacités d'apprentissage concernant par exemple une tâche de dessin en miroir. Et ce même s'il était incapable de se souvenir qu'il avait déjà fait cet exercice les jours précédents. Autre fait majeur, Milner et Scoville montrèrent que si H.M. ne gardait plus un souvenir de manière durable, sa capacité à retenir une ou plusieurs informations pendant quelques instants demeurait intacte. Pour la première fois de manière

expérimentale, des chercheurs distinguèrent plusieurs formes de mémoires, possédant des bases neurobiologiques probablement différentes : mémoires à court terme indépendantes de l'hippocampe et mémoires à long terme différentes suivant qu'elles dépendent ou non de l'hippocampe (Milner, 1972).

De nombreuses études chez le singe et le rongeur ont alors permis de mettre en évidence le rôle de certaines structures dans 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 mémoire sont intimement liés à la fonctionnalité de certaines structures. Différentes classifications ont été proposées mettant en relation le type d'informations mémorisées et les structures nécessaires à leur mémorisation. Nous présenterons ici le modèle de classification des mémoires à long terme chez l'Homme de Squire, repris et modifié par Henke (Henke, 2010; Squire and Zola, 1996) (Figure 15).

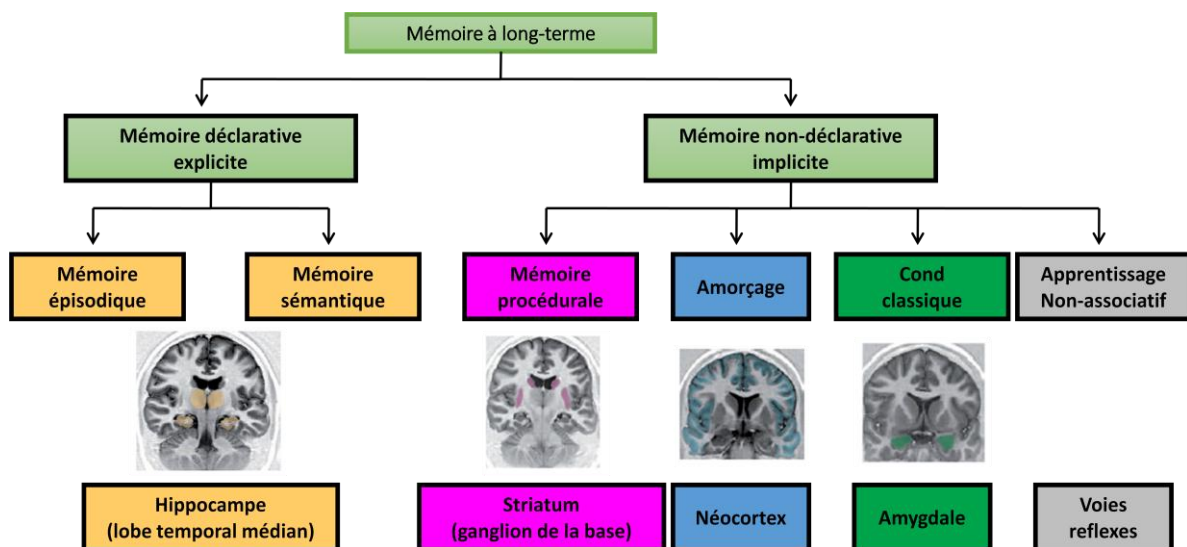


Figure 15. Classification des systèmes de mémoire selon Henke. Ce modèle propose une dichotomie entre la mémoire déclarative ou explicite dans laquelle le rappel d'une information se fait de manière consciente et verbalisable. Inversement, la mémoire non-déclarative ou implicite, regroupant les apprentissages et processus cognitifs dont le rappel se fait de manière non-consciente. Dans les mémoires explicites, on trouve la mémoire épisodique (autobiographique) où sont stockés les souvenirs contextualisés vécus par l'individu (ce que j'ai fait, où et quand je l'ai fait). La mémoire épisodique (je me souviens) va permettre l'individu de revenir dans son passé personnel. La mémoire sémantique faisant partie également de la mémoire explicite se définit comme un souvenir des faits et des concepts (je sais) et elle est indépendante de l'aspect spatio-temporel du contexte dans lequel elle a été acquise (Squire and Zola, 1998). Chez l'Homme, ces deux mémoires impliquent l'intégrité du lobe temporal médian et notamment de l'hippocampe. Modifié de Henke, 2010.

Au contraire, les mémoires implicites sont bien conservées chez les patients atteints d'amnésie déclarative, suite à des lésions du lobe temporal médian (Henke, 2010). On y regroupe différents processus mnésiques :

- la mémoire procédurale (apprentissage de nouvelles aptitudes comme dessiner en miroir) impliquant majoritairement les ganglions de la base (striatum).
- le processus d'amorçage, lors duquel un indice (première lettre du mot) va permettre de rappeler les informations correspondantes. Ce processus dépend du néocortex.
- le conditionnement classique grâce auquel l'association entre un stimulus neutre et un renforcement positif ou négatif va permettre l'attribution d'une valeur prédictive au stimulus. Il implique en particulier l'amygdale pour sa composante émotionnelle.
- les apprentissages non-associatifs (sensibilisation) sous tendus par les voies réflexes.

2. Système hippocampique

a. Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions

Les études d'amnésie chez l'Homme ainsi que les études chez l'animal ont permis d'identifier différentes subdivisions anatomiques de l'hippocampe. L'hippocampe fait partie du lobe temporal médian qui est crucial dans la mémoire épisodique et la navigation spatiale (Morris *et al.*, 1982; Scoville and Milner, 1957; Squire, 1992). Cette structure sous corticale du système limbique a une position tridimensionnelle complexe (Figure 16). L'hippocampe est composé du gyrus denté (DG), et de la corne d'Ammon (constitué de sous-unités CA1, CA2 et CA3). La formation hippocampique comprend les structures parahippocampiques permettant l'entrée (cortex entorhinal) et la sortie (subiculum) des informations.

Il existe deux types cellulaires glutamatergiques principaux au sein de la formation hippocampique : les cellules granulaires du DG et les cellules pyramidales des champs ammoniques. Les corps des cellules granulaires se situent dans la couche *stratum granulosum* du DG. Les projections axonales de ces neurones vers l'aire CA3 constituent les fibres moussues. Les corps cellulaires des neurones pyramidaux se trouvent dans la couche *stratum pyramidal*. Pour équilibrer la neurotransmission glutamatergique excitatrice, l'hippocampe présente également un nombre important d'interneurones inhibiteurs GABAergiques.

• Afférences

Les principales afférences proviennent du cortex entorhinal qui émet des projections vers le DG mais aussi le CA1 et le CA3. Par ces voies l'hippocampe reçoit la majeure partie des informations en provenance des aires sensorielles. La projection du cortex entorhinal vers le DG est nommée la voie perforante. C'est la seule entrée corticale au niveau du DG. En

revanche, le DG reçoit des projections en provenance de régions sous-corticales telles que le septum ou l'hypothalamus et de régions du tronc cérébral, en particulier le locus coeruleus et les noyaux du raphé. En plus des afférences du cortex entorhinal, le CA3 et surtout le CA1 reçoivent aussi des projections des noyaux amygdaliens et du septum (Pitkänen *et al*, 2000).

- **Efférences**

La principale voie efférente est formé par le fornix qui est constitué du prolongement des axones des cellules pyramidales hippocampiques. Le fornix permet donc un transit des informations de l'hippocampe vers d'autres régions du cerveau comme le septum et l'hypothalamus. L'autre voie de sortie importante de l'hippocampe passe par le subiculum. Celui-ci reçoit des projections en provenance du CA1 et projette à son tour vers le cortex entorhinal. Ce dernier va à son tour émettre des projections vers différentes aires associatives du néocortex telles que le cortex préfrontal ou le cortex orbitofrontal. En parallèle de ces deux principales voies, le CA1 de l'hippocampe projette également vers les noyaux de l'amygdale, les cortex entorhinal, périrhinal et postrhinal et d'autres régions corticales.

- **Connexions intrinsèques**

L'hippocampe possède des connexions intrinsèques reliant l'ensemble de ses régions appelé circuit trisynaptique (Figure 16). Les connexions synaptiques entre la voie perforante du cortex entorhinal et les cellules granulaires du DG font un point de départ du circuit. Ensuite, les cellules granulaires du DG donnent naissance aux fibres moussues qui innervent à leur tour les cellules du CA3. Les cellules pyramidales du CA3 émettent à leur tour des projections vers les cellules de CA1 nommées collatérales de Shaffer, mais également des collatérales récurrentes, composées par les prolongements axoniques dans l'aire CA3, projetant sur d'autres cellules de cette aire. Enfin, les cellules du CA1 projettent vers le subiculum.

Dans ce circuit, les principales voies hippocampiques (la voie perforante, les fibres moussues et les collatérales de Schaffer) sont unidirectionnelles. Ce circuit trisynaptique ainsi que l'activité récurrente au sein du CA3 jouent un rôle central dans les modèles théoriques proposés pour l'hippocampe.

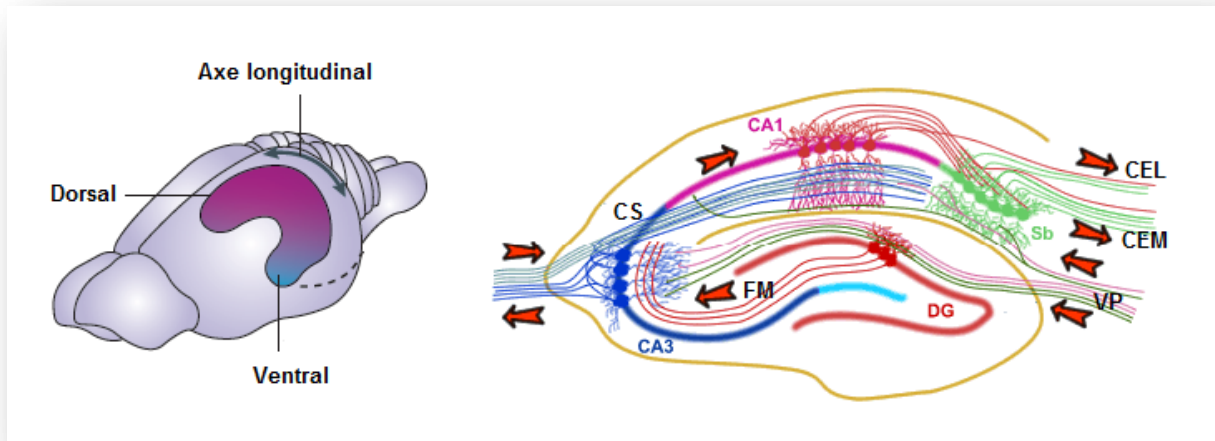


Figure 16. Représentation schématique de l'hippocampe. Localisation de l'hippocampe dans le cerveau entier du rongeur en fonction de l'axe longitudinal (à gauche) (adapté de Strange *et al.*, 2014). Connexions intrahippocampiques du circuit trisynaptique en coupe frontale de l'hippocampe (à droite). CEL/CEM : cortex entorhinal latéral/médian, VP : voie perforante, FM : fibres moussues, CS : collatérales de Schaffer, Sb : subiculum.

Par ailleurs l'hippocampe est différencié en partie dorsale (postérieure chez l'Homme) et ventrale (antérieure chez l'Homme) le long d'un axe longitudinal avec une anatomie et des fonctions distinctes (Pitkänen *et al.*, 2000; Strange *et al.*, 2014). L'hippocampe dorsal est impliqué dans la mémoire et la navigation spatiale alors que l'hippocampe ventral participerait plutôt aux comportements de type anxieux (Strange *et al.*, 2014). Selon l'axe dorso-ventral, l'hippocampe a différentes connectivités avec les régions corticales et sous-corticales qui contribueraient donc aux différentes fonctions des parties dorsale et ventrale.

b. Hippocampe et mémoire

- **Mémoire dite de type épisodique chez l'animal**

La mémoire déclarative a été longtemps considéré comme le propre de l'Homme, capable de verbaliser les expériences vécues et notamment « ce que j'ai fait, où et quand je l'ai fait » (what, where, when). Si l'existence de la verbalisation et la conscience de soi fait encore débat chez l'animal, quelques études ont proposé l'existence de mémoire dite 'de type épisodique' (episodic-like memory) chez l'animal. Clayton et Dickinson en 1998 furent les premiers à démontrer une mémoire de type épisodique chez l'animal, le geai. Des vers (nourriture préférée mais périssable) et des cacahuètes (non-périssable) ont été cachés dans des sites distinctes. Quand on permet au geai d'accéder à ces caches après un délai court il choisit les caches contenant les vers alors qu'après un intervalle plus long il choisit les caches contenant les cacahuètes puisque les vers ne sont plus comestibles. Ceci démontre une

mémoire de type épisodique avec les composantes élémentaire (« what » : vers vs cacahuètes), spatiale (« where » : emplacements distinctes des caches) et temporelle (« when » : délai court ou long après la cache) (Clayton and Dickinson, 1998). Depuis, d'autres études ont démontré également l'existence de mémoire de type épisodique chez les rongeurs (Dere *et al*, 2005; Eacott and Norman, 2004).

- **Mémoire de reconnaissance : familiarité et « recollection »**

La mémoire de reconnaissance (des gens, des objets, ...) reflète un sous-type de mémoire de type épisodique. Il est généralement accepté qu'il existe deux formes de mémoire de reconnaissance durant un test du rappel d'information : la familiarité et la « recollection ». La familiarité est un sentiment immédiat d'un événement, d'un individu ou d'un objet qu'on a auparavant rencontré. Cette expérience se réfère au 'savoir' qui n'implique pas de rappel conscient des détails d'expérience vécu. Par exemple, 'je sais que j'ai déjà vu cette personne avant ; mais je ne me souviens ni où ni quand'. D'un autre côté, la « recollection » ou 'se souvenir' implique un rappel conscient de détails contextuels d'un événement ou d'expérience antérieur, qui est l'information spécifique du lieu ou du moment où l'expérience a eu lieu (Eichenbaum *et al*, 2007). Par exemple, 'je me souviens de vous. On s'est rencontré à la conférence NeuroMemo de Grasse il y a 3 ans et vous m'aviez posé des questions sur le conditionnement olfactif conditionné'.

Les deux composantes de la mémoire de reconnaissance, la familiarité et la « recollection », fonctionneraient séparément (Curran *et al*, 2006; Yonelinas *et al*, 2005). Les patients amnésiques montrent des perturbations de la « recollection » mais pas de la familiarité. Par ailleurs, les études d'imagerie fonctionnelle indiquent que ces deux processus sont associés à des régions spécifiques ce qui suggèrent que la familiarité et la « recollection » utilisent des substrats différents l'une de l'autre. Cependant, certaines études proposent que la mémoire de reconnaissance serait un processus unique, représenté par une échelle allant de faible à fort (familiarité à « recollection ») et impliquant les mêmes structure.

Le lobe temporal médian est organisé de façon à stocker la mémoire. Plusieurs régions du cerveau ont été identifiées comme les structures critiques dans les processus de la mémoire de reconnaissance. Le cortex périrhinal, le cortex parahippocampique et le cortex entorhinal sont des structures identifiées comme des composants d'informations de 'quoi' (what) et 'où' (where). Ces informations convergent dans l'hippocampe qui est un site d'association des informations 'quoi' et 'où'. Cependant, depuis quelques années, l'implication de l'hippocampe dans un encodage d'information de 'quoi' est débattue.

✓ *Des données des enregistrements neuronaux chez l'animal*

Lors d'une tâche de mémoire de reconnaissance chez le singe, certains neurones du lobe temporal médian s'activent moins à la présentation d'un stimulus visuel déjà rencontré auparavant (Brown and Xiang, 1998; Eichenbaum, 2000; Eichenbaum *et al*, 1996). La réduction de la réponse neuronale pourrait impliquer la familiarité de ce stimulus. Des réductions de réponse neuronale ont été observées dans le cortex périrhinal (réduction de 25%) mais pas dans l'hippocampe (réduction de 1%) (Riches *et al*, 1991; Rolls *et al*, 1989; Sobotka and Ringo, 1993; Xiang and Brown, 1998). Les neurones de l'hippocampe encodent l'information de la familiarité d'un stimulus visuel pour une position spatiale particulière chez le singe et le rat (Eichenbaum, 2000; Rolls *et al*, 1989). Ceci suggère que l'hippocampe a un rôle important dans la mémoire de reconnaissance lorsque la tâche implique des informations spatiales ou contextuelles. Inversement, les neurones du cortex périrhinal semblent être moins impliqués dans l'encodage d'information spatiale. Enfin, le cortex entorhinal pourrait jouer un rôle opérationnel entre le cortex périrhinal et l'hippocampe puisque les neurones de ce cortex encodent à la fois l'information spatiale et celle de la familiarité (Quirk *et al*, 1992).

Donc, suggèrent que le cortex périrhinal est impliqué dans la discrimination de la familiarité alors que l'hippocampe participe à la mémoire de reconnaissance lorsqu'elle implique l'information spatiale ou d'autres informations associatives.

✓ *Des données d'imagerie des gènes précoces*

La protéine issue du gène d'expression précoce c-fos est généralement exprimée quand les neurones sont activés. Dans ce contexte, la protéine Fos peut être visualisée et utilisée pour déterminer la distribution anatomique des réponses neuronales à la présentation d'un stimulus nouveau ou d'un stimulus familier. Lorsque les rats voient de nouveaux stimuli visuels, l'expression de c-Fos est augmentée dans le cortex périrhinal (Wan *et al*, 2004; Zhu *et al*, 1997) et le blocage de l'expression de c-fos dans ce cortex perturbe de la mémoire de reconnaissance d'objet à long-terme (Seoane *et al*, 2012). Néanmoins, l'exposition à un nombre plus importants de nouveaux objets augmente l'expression de c-Fos dans le cortex périrhinal mais également dans le CA1 et le CA3 de l'hippocampe (Albasser *et al*, 2010).

• **Mémoire de reconnaissance d'objet (MRO)**

✓ *Des procédures et la quantification comportementale*

La tâche de reconnaissance d'objet est un test très populaire pour investiguer une capacité du rongeur à reconnaître un stimulus présenté auparavant (Ennaceur and Delacour, 1988). Cette tâche non-spatiale présente l'avantage d'être non aversive et de ne pas nécessiter

de récompense alimentaire. Même si de nombreuses procédures différentes sont utilisées (différents types d'arènes, d'objets ...) la tâche est toujours composée de deux sessions : une session d'acquisition où le rongeur explore deux objets identiques (Figure 17). Après un certain délai, l'animal retourne dans la même arène qui contient une copie exacte de l'objet présenté durant la session d'acquisition et un nouvel objet. La reconnaissance est alors basée sur la préférence spontanée des rongeurs à explorer plus l'objet nouveau par rapport à l'objet familier (Aggleton *et al*, 2010; Broadbent *et al*, 2010). De manière intéressante, l'éveil émotionnel durant la session d'acquisition peut être modulé en habituant l'animal à l'arène en absence d'objet avant d'effectuer la session d'acquisition (Okuda *et al*, 2004).

Test de reconnaissance d'objet

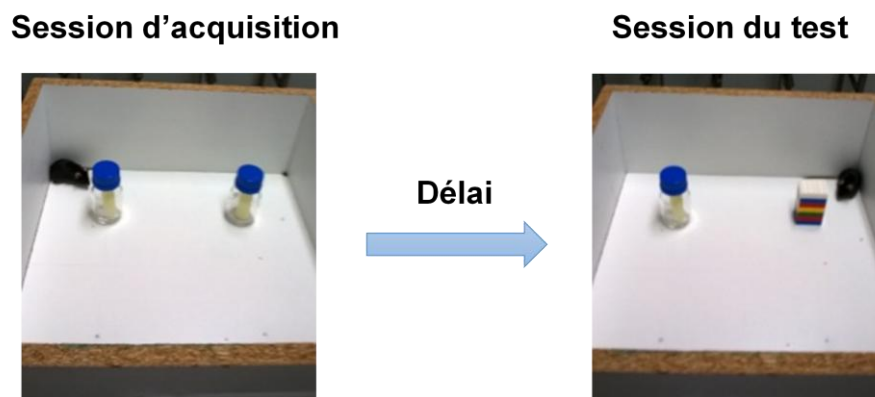


Figure 17. La représentation schématique du déroulement de la tâche de reconnaissance d'objet.

✓ *Rôle de l'hippocampe dans la MRO chez le rongeur*

Une méta-analyse récente indique que seulement 30% des études montrent un effet de la lésion de l'hippocampe sur la MRO (Cohen and Stackman, 2015). Il semble que la taille de la lésion de l'hippocampe puisse expliquer une partie des résultats. Une autre possibilité repose sur la possibilité de réorganisation du circuit impliqué dans la MRO après lésion de l'hippocampe. En effet, contrairement aux études lésionnelles, les approches d'inactivation transitoire suggèrent que l'hippocampe est important pour la MRO. L'inactivation transitoire de l'hippocampe chez la souris avant la session d'acquisition perturbe la MRO quand la session de rétention est effectuée 24 heures mais pas 5 min après la session d'acquisition (Hammond *et al*, 2004). Ces résultats suggèrent que l'inactivation temporaire de l'hippocampe perturbe la consolidation de MRO. Récemment le rôle essentiel de l'hippocampe dans l'acquisition, la

consolidation et le rappel de la MRO a été montré chez la souris après micro-infusion du muscimol dans la région du CA1 de l'hippocampe dorsal juste avant, juste après la session d'acquisition ou juste avant le test de rappel (Cohen *et al*, 2013). D'autres études ont également montré chez le rat que l'inactivation de l'hippocampe dorsal induisait un déficit de consolidation de la MRO (de Lima *et al*, 2006; Rossato *et al*, 2007).

3. Système amygdalien

a. Cytoarchitecture de l'amygdale et connexions

L'amygdale est une structure profonde qui a une forme d'amande. Comme l'hippocampe, l'amygdale fait partie du lobe temporal médian. Elle se situe à l'extrémité temporale de la corne des ventricules latéraux, juste en avant de l'hippocampe. L'amygdale possède plusieurs noyaux hétérogènes et ces noyaux sont distingués sur la base de critères cytoarchitectoniques, histochimiques et de leur connectivités (Sah *et al*, 2003). Ils sont collectivement appelés complexe amygdalien. Les noyaux amygdaliens sont généralement divisés en trois groupes. Le premier est le groupe du complexe basolatéral composé de noyau latéral, basal et basal accessoire (BLA). Le second est le groupe du noyau centro-médian qui est composé de noyau central et noyau médian. Et le dernier groupe est composé du noyau cortical (Sah *et al*, 2003). Plusieurs fonctions ont été attribuées au complexe amygdalien incluant en particulier les processus émotionnels et la mémoire.

- **Connexions intrinsèques**

Les connexions intra-amygdaliennes sont organisées de manière hiérarchique avec une convergence des projections sur le noyau central. Ce type d'organisation permet aux informations sensorielles principalement reçues par le noyau latéral d'être transmises à l'ensemble des noyaux amygdaliens jusqu'au noyau de sortie de l'information, le noyau central (Pitkänen *et al*, 1997). Ces informations peuvent être transmises du noyau latéral directement au noyau central ou via le BLA, ce qui permet de générer des réponses émotionnelles appropriées au regard de l'ensemble des informations.

- **Connexions efférentes et afférentes**

Le BLA émet des projections glutamatergiques vers les zones corticales sensorielles, le noyau accumbens et vers le lobe temporal médian notamment l'hippocampe (Petrovich *et al*, 2001); McDonald, 1991). Le noyau central engendre une réponse émotionnelle adapté (immobilisation ou fuite, ...) en stimulant les neurones dans le tronc cérébral ou en activant les noyaux hypothalamiques et le noyau du lit de la strie terminale (BNST).

Les afférences corticales et thalamiques, principalement glutamatergiques, fournissent les informations sensorielles. L'amygdale reçoit également des afférences hypothalamiques et du tronc cérébral (Amaral and Insausti, 1992).

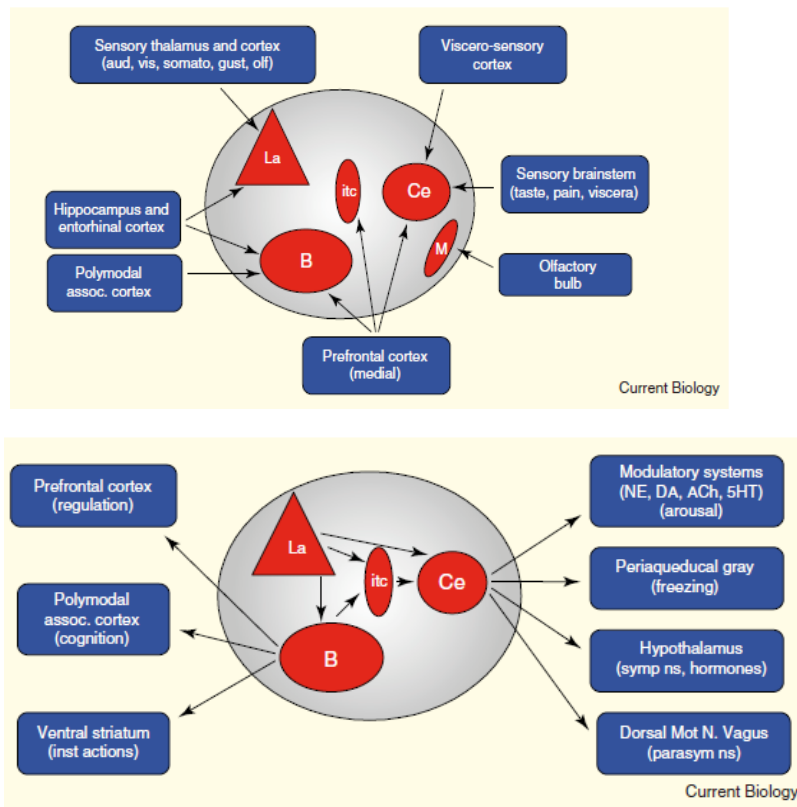


Figure 18. Représentation schématique des afférences et des efférences de l'amygdale. *La* : noyau latéral, *B* : noyau basal, *Ce* : noyau central, *itc* : cellules intercalées, *M* : noyau médian, *NE* : norépinéphrine, *DA* : dopamine, *ACh* : acétylcholine, *5HT* : sérotonine. Modifié de Le Doux, 2007.

- **Morphologie du complexe basolatéral**

Deux types principaux des neurones dans le BLA ont été décrits. 70% des neurones sont glutamatergiques et ont été décrits comme pyramidaux ou épineux. Leur soma fait environ 15-20 µm et ils n'ont pas vraiment une orientation rigide en forme de pyramide. Beaucoup de ces neurones ont trois à sept dendrites qui émanent du soma. Les dendrites secondaires et tertiaires sont épineuses. L'une des dendrites est plus large que les autres et correspond à la dendrite apicale décrite au niveau cortical (Faber *et al*, 2001). Certains neurones apparaissent avoir deux dendrites apicales principales et ressemblent aux neurones stellaires du cortex (McDonald, 1992). Les arbres apicaux dendritiques des neurones du BLA ne sont pas alignés comme les neurones pyramidaux de l'hippocampe mais organisés de manière aléatoire (Faber *et al*, 2001; Paré *et al*, 1995).

Le second groupe des neurones trouvés dans le BLA a le soma légèrement plus petit (10-15 μm) et ressemble à des cellules stellaires non-épineuses du cortex. Ces neurones sont nommés 'S' pour spiny ou stellaires. Ces neurones possèdent deux à six dendrites primaires et sont dépourvus d'épines. Ces neurones sont GABAergiques et font partie des interneurons du circuit local (McDonald and Augustine, 1993). Certains de ces neurones connectent les segments initiaux des cellules pyramidales afin de permettre un contrôle inhibiteur contre l'excitation de ces neurones (Carlsen, 1988; Lang and Paré, 1998). La moitié de ces cellules expriment la parvalbumine et l'autre moitié exprime la calbidine et/ou la calrétinine (Kempainen and Pitkänen, 2000).

b. Amygdale et mémoire

• Mémoire du conditionnement associatif chez l'animal

La découverte du conditionnement associatif revient au scientifique russe Pavlov à la fin du XIXe (ses écrits n'ayant été publiés en anglais qu'en 1927). Au cours d'expériences chimiques sur la salive de ses chiens, il a remarqué que ceux-ci salivaient avant même de recevoir leur nourriture. Au fur et à mesure il a compris qu'il était possible de provoquer chez eux un réflexe 'conditionnel' en présentant chaque fois un son de clochette suivie d'une boulette de viande. Après plusieurs essais les animaux n'avaient plus besoin de la boulette de viande pour saliver, le son suffisant apparemment à évoquer la viande.

Les premières études ont permis de déterminer que ces conditionnements impliquent des mécanismes associatifs entre deux stimuli. Un premier stimulus initialement neutre, c'est à dire n'entraînant aucune réponse chez l'individu, est associé à un stimulus inconditionnel (SI) qui lui provoque une réponse inconditionnelle (RI). Le stimulus neutre se transforme alors en stimulus conditionnel (SC) et induit, lorsqu'il est présenté seul, une réponse conditionnelle (RC). Dans l'expérience de Pavlov, le son représentait le stimulus neutre devenu conditionnel, la boulette de viande le SI et la salivation la RI devenue RC. L'apparition de cette RC repose sur trois processus principaux qui se succèdent dans le temps : l'acquisition, la consolidation et le rappel du conditionnement.

✓ *Mémoire associative aversive*

Les paradigmes d'aversion alimentaire sont souvent utilisés dans le conditionnement aversif. Ces paradigmes sont basés sur l'association d'une nouvelle odeur (banane ou amande par exemple) ou d'un nouveau goût (saccharine ou sucrose) dilué dans l'eau (alors stimulus neutre) avec un malaise gastrique (RI), induit par une injection d'un agent émétique le chlorure de lithium (LiCl, SI) (Figure 19). L'avantage de ces paradigmes est qu'ils sont appris

après une seule association odeur-malaise ou goût-malaise. La rétention des aversions est mesurée par la présentation *de novo* de l'odeur ou du goût à l'animal. L'animal ayant appris cette association diminuera sa consommation d'eau odorisée ou d'eau sucrée.

L'aversion olfactive conditionnée (AOC) nécessite le BLA (Desgranges *et al*, 2008; Sevelinges *et al*, 2009) alors que l'aversion gustative conditionnée (AGC) repose essentiellement sur l'intégrité du cortex insulaire (Bermúdez-Rattoni, 2004). L'inhibition de la synthèse protéique dans le BLA juste avant l'acquisition perturbe la rétention à long terme de la mémoire de l'AOC en laissant la rétention à court terme intacte. Ces résultats suggèrent que la synthèse de nouvelles protéines est nécessaire à la consolidation de l'AOC (Desgranges *et al*, 2008). De manière intéressante, l'infusion de corticostérone, directement dans le cortex insulaire ou dans le BLA juste après l'acquisition de la tâche du conditionnement gustatif aversive augmentent la rétention de l'AGC indiquant que les glucocorticoïdes modulent la consolidation de la mémoire gustative aversive via leur actions dans le cortex insulaire et le BLA (Miranda *et al*, 2008).

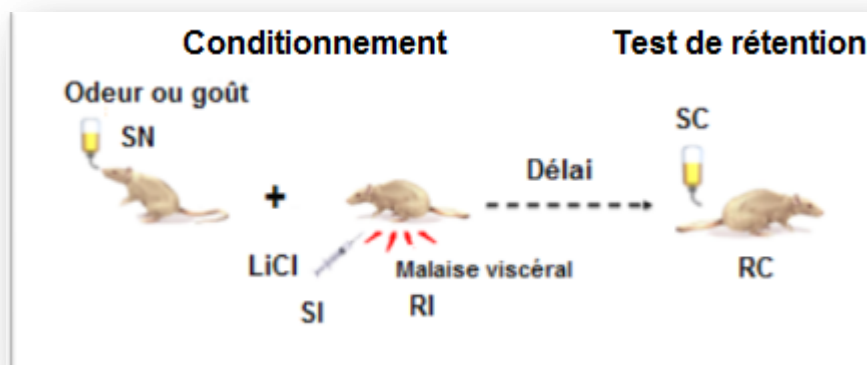


Figure 19. Représentation schématique d'un paradigme du conditionnement aversive.

Un malaise gastrique (RI) induit par une injection de LiCl (SI) est associée avec une nouvelle odeur ou un nouveau goût (stimulus neutre, SN). Après un certain laps de temps, la présentation de l'odeur ou du goût (SC) induit un comportement d'évitement de la consommation de l'eau odorisée/sucrée (RC).

✓ *Mémoire associative appétitive*

Il existe un autre paradigme de conditionnement alimentaire basé cette fois sur l'aspect appétitif d'un SI : la préférence olfactive conditionnée (POC). La POC repose sur l'association d'une odeur neutre (banane par exemple) à un goût sucré (sucrose, SI) (Figure 20). Après plusieurs présentations simultanées de l'eau odorisée et sucrée (banane sucrée), lors d'un test de choix entre 2 boissons odorisées (mais non sucrées), le sujet préfère l'eau odorisée

préalablement associée au sucre (banane) par rapport à une eau odorisée qui n'a jamais été associée au sucre (amande par exemple ; pour revue voir : Myers and Sclafani, 2006).

Des lésions de l'amygdale comprenant le BLA et le noyau central empêchent la POC (Gilbert *et al*, 2003; Sakai and Yamamoto, 2001; Touzani and Sclafani, 2005). Cependant une lésion restreinte au BLA atténue légèrement la POC (Touzani and Sclafani, 2005) suggérant un rôle prépondérant du BLA dans l'AOC moins moindres dans la POC (et l'AGC).

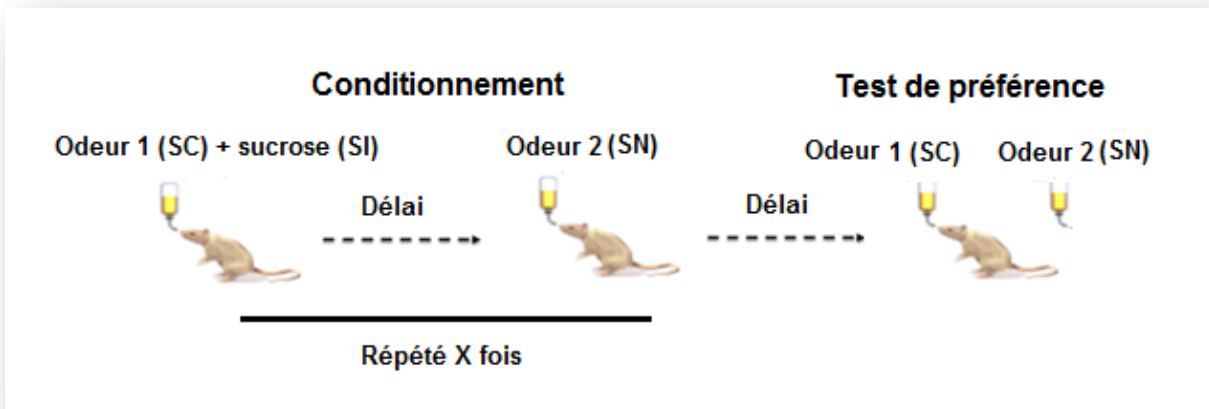


Figure 20. Représentation schématique d'un paradigme de la préférence olfactive conditionnée.

B. Stress, glucocorticoïdes et mémoire

Le stress chronique ou les expériences traumatiques sévères ont un impact négatif sur les fonctions cognitives et conduisent souvent au développement de psychopathologies (de Kloet *et al*, 2005; de Quervain *et al*, 2009). L'effet du stress sur les fonctions cognitives est largement dépendant des caractéristiques du stress comme de son intensité, sa durée, sa chronicité, sa prédictibilité (Lupien *et al*, 2007). Chez l'Homme comme chez l'animal, et suivant la loi de Yerkes et Dodson l'impact de l'intensité du stress sur la mémoire suit une courbe en U inversé avec la performance maximum lorsque le stress est modéré.

Les expériences avec une charge émotionnelle importante sont généralement mieux retenues (Christianson, 1992 ; McGaugh, 2004). Les hormones surrénaliennes du stress, l'adrénaline et le cortisol libérées lors d'un éveil émotionnel apparaissent jouer un rôle important dans le renforcement de l'apprentissage ou de la consolidation de la mémoire. Le rôle perturbateur des GC sur le rappel a par ailleurs été clairement démontré mais nous détaillerons seulement les effets des GC sur la consolidation dans la partie suivante.

1. Stress et glucocorticoïdes et mémoire chez l'Homme

Les taux du cortisol sécrétés suite à une exposition à un stress et la consolidation des mémoires déclaratives suit une courbe en cloche avec un pic de performance mnésique au

point intermédiaire des taux du cortisol (Andreano and Cahill, 2006). Les sujets âgés présentent des taux plus élevés de GC que les sujets jeunes et de moindres performances de mémoire. La diminution des taux des GC endogènes suite à un traitement avec la métyparone (qui bloque la synthèse de GC) améliore la mémoire déclarative des personnes âgées mais perturbe celle des jeunes indiquant que les effets des GC sur la mémoire dépendante de l'hippocampe suivent une courbe en U inversée (Lupien *et al*, 2002, 2002). Par ailleurs l'administration répétée de prenisonne (80 mg p.o./jour pendant 5 jours) perturbe les performances mnésiques d'adultes en bonne santé (Wolkowitz *et al*, 1990) alors que des fortes doses d'hydrocortisone (40 mg) sont capable d'augmenter les performances des sujets (Beckwith *et al*, 1986). Ces études suggèrent que les GC moduleraient les mémoires dépendantes de l'hippocampe suivant une courbe en U inversée.

2. Effets des glucocorticoïdes sur la mémoire chez l'animal

Plusieurs études ont également caractérisé la relation non-linéaire entre l'intensité du stress et la performance mnésique chez les rongeurs. Par exemple, la variation de la température de l'eau dans une tâche de labyrinthe radiale démontre les effets en cloche du stress sur la performance des rats (Salehi *et al*, 2010). De manière similaire, l'administration systémique de corticostérone après l'apprentissage module la mémoire de reconnaissance d'objet à long terme avec un effet en U inversé (Okuda *et al*, 2004).

a. Hippocampe une cible potentiel des GC

Il a été montré que l'activation des MR dans l'hippocampe est importante pour la réactivité comportementale en réponse à des stimuli environnementaux affectant l'attention et la vigilance alors que l'activation des GR de l'hippocampe est importante dans la consolidation de la mémoire à long terme (Oitzl and de Kloet, 1992; Roozendaal and McGaugh, 1997a). Le ratio d'occupation du MR/GR est déterminant dans la modulation des changements mnésiques induits par les GC. Il a été montré que la performance mnésique est augmentée lorsque la plupart des MR sont occupés et les GR sont partialement occupés. Cependant, quand les taux des GC sont diminués ou augmentés de manière extrême, une perturbation de la mémoire est observée (Figure 21). Donc, là encore les effets des GC sur la performance mnésique suivent une courbe en U inversée.

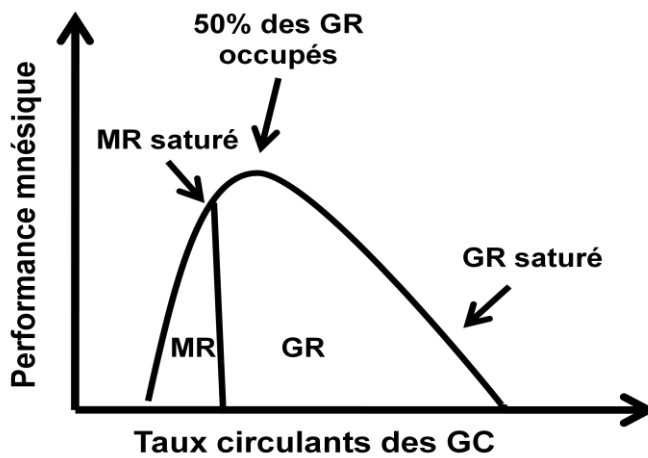


Figure 21. Association entre les taux des GC circulants et la performance mnésique. *Les effets des GC sur la performance mnésique suivent une courbe en U inversée. La performance mnésique est augmentée lorsque la plupart des MR de l'hippocampe sont occupés et les GR sont partiellement occupés. Cependant, quand les taux des GC sont diminués ou augmentés de manière extrême, une perturbation de la mémoire est observée. Modifié de de Kloet, 1999.*

Par ailleurs, plusieurs études ont investigué le rôle des GR et MR dans la transmission synaptiques et la LTP dans l'hippocampe. Il apparait que l'activation des MR est associée à une augmentation de la LTP alors que la saturation des GR suite à de fortes doses de GC ou la surrénalectomie atténue la LTP (McEwen and Sapolsky, 1995; (Dubrovsky *et al*, 1987).

b. Amygdale, l'une des cibles des GC

L'encodage des expériences est plus efficace quand une composante émotionnelle est présente et ceci ferait appel à l'intégrité de l'amygdale capable de percevoir et d'intégrer les émotions (la peur en particulier) (Cahill *et al*, 1999) ; McGaugh, 2004). Une augmentation des taux de GC au moment de l'apprentissage favorise la rétention et cette facilitation induite par les GC est bloquée par des lésions du BLA (Roosendaal and McGaugh, 1997b). L'infusion des GC ou des agonistes spécifiques des GR directement dans le BLA réplique l'action périphérique des GC sur la consolidation de la mémoire (Roosendaal and McGaugh, 1997a).

Les effets mnésiques des GC sont dépendants des interactions avec la norépinéphrine dans le BLA (Quirarte *et al*, 1997). De telles interactions seraient favorisés par l'excitation émotionnelle dans le BLA et pourraient expliquer pourquoi les GC facilitent sélectivement la consolidation d'informations présentant un éveil émotionnel mais pas pour des informations non-émotionnelles (Buchanan and Lovallo, 2001) (Figure 22).

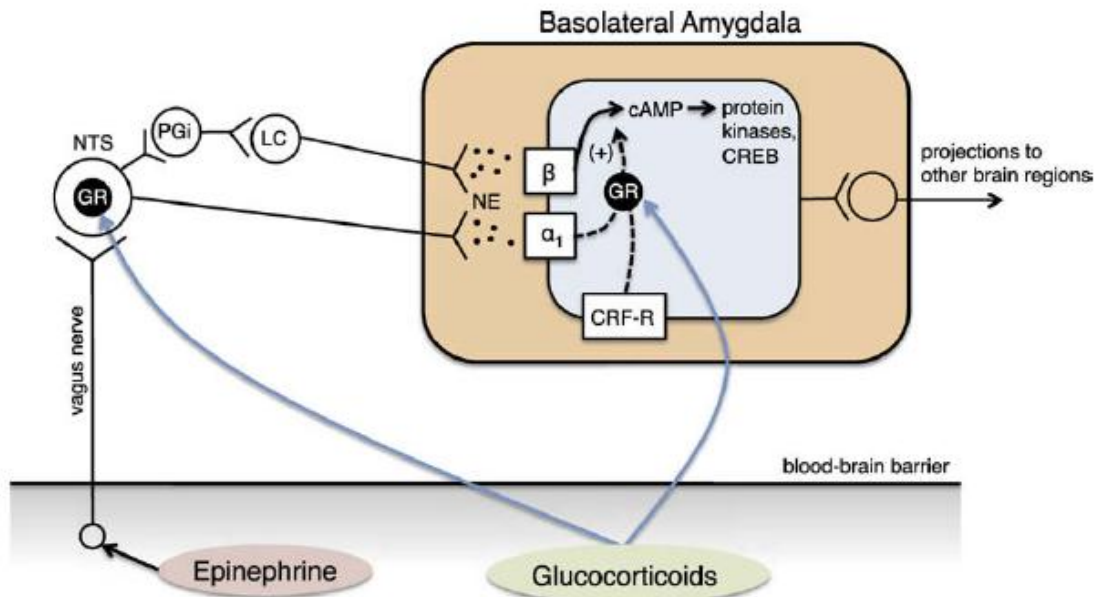


Figure 22. Représentation schématique des interactions des GC avec le système noradrénergique dans le BLA lors de la consolidation de la mémoire. Les hormones de stress sont libérées lors de tâches présentant un éveil émotionnel. L'épinéphrine qui ne passe pas la barrière hémato-encéphalique (BHE) induit la libération de la norépinéphrine (NE) dans le BLA en activant les afférences vagales dans le noyau du tractus solitaire (NTS). Les neurones adrénergiques du NTS projettent directement, et indirectement via le locus coeruleus (LC), sur le BLA. La NE se fixe sur les récepteurs β et α_1 -adrénocepteur au niveau des sites post-synaptiques et induit la formation de l'AMPc. Les GC passent facilement la BHE et se fixe sur les GR des neurones noradrénergiques du NTS pour augmenter la libération de NE dans le BLA. Les GC se fixent aussi sur les GR des neurones post-synaptiques du BLA afin de faciliter la cascade de signalisation de la NE. Modifiée de Roozendaal *et al.*, 2000.

c. Mécanismes par lesquels les GR affectent la consolidation de la mémoire

Une série d'études menée sur la mémoire de peur chez la souris a montré que la modulation de la consolidation par les GR implique l'induction de la phosphorylation de la protéine MAPK kinase, via l'activation de TrkB (récepteur du BDNF), qui régule ensuite l'expression de la protéine Egr-1 et la phosphorylation de la synapsine Ia/Ib dans l'hippocampe (Revest *et al*, 2005, 2010).

Par ailleurs lors de la consolidation de l'évitement passif, les GR contrôlent l'augmentation de la phosphorylation de CREB, de CAMKII α et de la synapsine I,

l'expression du gène Arc, et au final l'augmentation de l'expression de la sous-unité GluA1 du récepteur AMPA dans l'hippocampe (Chen *et al*, 2012). Tous ces changements rapides, sauf l'induction du gène Arc, résultent d'une action non-génomique des GR. L'inhibition du GR dans l'hippocampe permet en particulier une diminution de la phosphorylation de TrkB confirmant que le BDNF est un effecteur clé en aval d'une activation du GR durant la consolidation de la mémoire. D'ailleurs des injections intrahippocampiques de BDNF mais pas d'autres neurotrophines comme le NGF ou la NT3 améliorent l'amnésie induites par l'inhibition du GR. Le BDNF n'améliore pas les déficits de mémoire causés par le blocage des récepteurs β -adrénocepteurs (Chen *et al*, 2012) soulignant le rôle spécifique du BDNF vis à vis du GR dans la consolidation de la mémoire.

L'activation des GR engendre des modifications épigénétiques qui influencent la mémoire à long terme. Ainsi des stress comme la nage forcée ou l'exposition à un prédateur augmente la phosphorylation et l'acétylation de la sous-unité H3 de la protéine d'histone dans l'hippocampe (Bilang-Bleuel *et al*, 2005; Chandramohan *et al*, 2008). De telles augmentations de la phospho-acétylation de la sous-unité H3 de la protéine d'histone module la mémoire de reconnaissance d'objet (Stefanko *et al*, 2009). L'activation des GR augmente l'interaction entre phospho-CREB et la protéine de fixation au CREB (CBP), conduisant à des modifications de la chromatine nécessaires pour la consolidation de la mémoire de reconnaissance d'objet (Roozendaal *et al*, 2010).

- ***Stress, GC et morphologie dendritique***

Des rats soumis à un protocole du stress chronique pendant un mois montrent une atrophie des neurones pyramidaux du CA1 et du CA3 et des neurones granulaires du DG. Ces changements structuraux résultent de la sécrétion prolongée de corticostérone et s'accompagne de perturbations de l'apprentissage et mémoire spatiale en piscine de Morris (Sousa *et al*, 2000). De manière intéressante, ces altérations de morphologie des neurones de l'hippocampe sont partiellement réversibles suite à une période de cessation du protocole de stress pendant un mois, qui permet également de restaurer les déficits de mémoire dépendant de l'hippocampe (Sousa *et al*, 2000). Certains auteurs suggèrent que le remodelage dendritique de l'hippocampe est une stratégie de protection pour réduire la neurotransmission excitatrice afin d'éviter un dommage permanent (McEwen, 1999). Des effets similaires sur la morphologie des neurones de l'hippocampe et la mémoire dépendante de l'hippocampe sont trouvés suite à un traitement chronique de fortes doses de corticostérone (Arbel *et al*, 1994; Bodnoff *et al*, 1995).

C. Système endocannabinoïde et mémoire

Les effets amnésiants de la marijuana sont décrits depuis longtemps chez l'Homme et des expositions aiguës ou chroniques au cannabis sont associées à des perturbations cognitives chez l'animal comme chez l'Homme (Bolla *et al*, 2002; Castellano *et al*, 2003).

1. Bases neuroanatomiques des effets des cannabinoïdes sur la mémoire

Le système eCB est composé de deux principaux ligands endogènes, l'AEA et le 2-AG, leur récepteurs CB₁, CB₂ ainsi que les enzymes intervenant dans la synthèse et la dégradation des eCB (voir chapitre II.3). Chez les rongeurs, l'exposition aux cannabinoïdes perturbe l'acquisition et la consolidation de tâche dépendante de l'hippocampe (pour la revue, voir (Morena and Campolongo, 2014). Concernant le rôle des CB₁ hippocampique il a par exemple été montré que l'administration intrahippocampique de WIN55,212-2, un agoniste synthétique du CB₁, perturbe la mémoire de reconnaissance de place (Suenaga and Ichitani, 2008). Les agonistes exogènes diminuent également la LTP dans l'hippocampe (Hoffman *et al*, 2007; Stella *et al*, 1997b) et la plupart des effets des cannabinoïdes sur les perturbations mnésiques et synaptiques sont atténués par l'administration d'un antagoniste du CB₁ (Puighermanal *et al*, 2009; Terranova *et al*, 1995) Par exemple, l'infusion intrahippocampique du rimonabant, un antagoniste sélectif du CB₁ empêche la perturbation de la mémoire produite par une administration de THC dans une tâche de labyrinthe radiale (Wise *et al*, 2009) suggérant l'implication du CB₁ hippocampique dans les perturbations de mémoire et de plasticité induite par les cannabinoïdes.

2. Signalisation intracellulaire, cannabinoïdes et mémoire

L'activation du CB₁ stimule plusieurs voies de transduction du signal. Par exemple l'activation de la voie mTOR/p70S6K dans l'hippocampe est associée à la perturbation de la mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) à long terme induite par l'exposition aiguë au THC. En effet, le THC induit une hyperphosphorylation des protéines AKT, mTOR, et p70S6K dans l'hippocampe et le prétraitement à la rapamycine (inhibiteur de mTOR) annule l'amnésie de la MRO induite par le THC (Puighermanal *et al*, 2009). De manière intéressante, l'augmentation des taux d'AEA (par l'injection d'un inhibiteur de l'enzyme de dégradation de l'AEA), mais pas de 2-AG, entraîne également un déficit de la MRO à long terme et une sur-activation des protéines de la voie mTOR/p70S6K (Busquets-Garcia *et al*, 2011). Cet effet

passer par l'activation des CB₁ puisqu'il n'est pas présent chez les souris déficientes pour le récepteur CB₁ (Puighermanal *et al*, 2009). Ces résultats indiquent que l'augmentation des eCB (AEA en particulier) ou l'exposition au THC provoque, via le CB₁, la sur-activation des protéines de la mTOR/p70S6K qui conduit à la perturbation de la MRO.

D. Rôle des eCB dans la modulation des effets du GC sur la mémoire

Le stress et les GC modulent la consolidation de la mémoire et le BLA semble avoir un rôle crucial dans la modulation des effets du stress et des GC (de Kloet *et al*, 1999; Roozendaal, 2000) ; Roozendaal and McGaugh, 1997b). Ici nous allons voir que les GC dans certaines conditions, peuvent agir sur le système eCB pour moduler la mémoire.

L'injection systémique de l'AM404, un inhibiteur du transporteur de l'AEA, n'a aucun effet sur les performances de la MRO quand les rats sont testés dans des conditions minimal de stress (manipulation préalable des rats, intensité de lumière faible dans une arène contenant de la litière familière dans), alors qu'il perturbe l'acquisition de la MRO quand les rats sont testés dans des conditions plus stressantes (pas de manipulation préalable des rats, forte intensité de lumière dans un arène vide (Campolongo *et al*, 2012). De manière intéressante des effets similaires aux GC sur la consolidation sont trouvés en manipulant le système eCB. L'infusion intra-BLA d'un agoniste du CB₁ (WIN55-212-2) immédiatement après l'apprentissage de l'évitement passif favorise la rétention à long terme alors que l'infusion intra-BLA d'un antagoniste du CB₁ (AM251), la perturbe (Bucherelli *et al*, 2006; Campolongo *et al*, 2009). Il semble exister une interaction étroite entre le système eCB et les GC (pour revue voir (Morena *et al*, 2016; Morena and Campolongo, 2014) (Morena *et al*, 2016). En effet, un stress aigu diminue très rapidement les taux d'AEA (Dubreucq *et al*, 2012; Wang *et al*, 2012). La CRH qui est rapidement libérée en réponse à un stress, augmente l'activité de la FAAH, l'enzyme de dégradation de l'AEA (Gray *et al*, 2015; Hill *et al*, 2009). Cette diminution rapide des taux d'AEA va permettre d'initier l'activation de l'axe HPA. Une fois les GC libérées on assiste à une augmentation des eCB, particulièrement le 2-AG dans plusieurs régions du cerveau comme le cortex préfrontal médian (Hill *et al*, 2011b), l'hippocampe (Wang *et al*, 2012) et l'hypothalamus (Evanson *et al*, 2010). Cette augmentation contribuerait au rétrocontrôle négatif de l'axe HPA et la terminaison de la réponse au stress. Au contraire de la diminution rapide des taux d'AEA suite au stress, l'augmentation des taux d'eCB prend plus de temps et est consécutive à l'augmentation des GC (Atsak *et al*, 2012; Hill *et al*, 2010; Morena *et al*, 2014).

Compte-tenu de cette interaction étroite entre les systèmes eCB et GC, certains auteurs ont investigué si la transmission d'eCB joue un rôle dans la modulation des effets du GC sur la consolidation de la mémoire (Figure 23). Par exemple l'administration intra-BLA d'un antagoniste du CB₁ bloque complètement les effets promnésiants de la corticostérone sur la consolidation de de l'évitement passif (Campolongo *et al*, 2009). Ces effets passe par les récepteurs membranaires aux GC car une infusion intra-BLA de corticostérone liée à la BSA (non-perméable à la membrane) produit les même effets qu'une infusion intra-BLA d'un agoniste GR sur la consolidation (Atsak *et al*, 2015). De manière similaire, un antagoniste du CB₁ infusé dans l'hippocampe bloque les effets de la dexaméthasone sur la mémoire de peur (de Oliveira Alvares *et al*, 2010).

Le rôle du système eCB dans la modulation des effets des GC sur la consolidation n'est pas restreint à la mémoire aversive mais peut également moduler les effets amnésiants du stress. Un choc électrique administré 20 minutes après une l'exposition aux nouveaux objets chez la souris entraine une perturbation de la MRO à long-terme, mais pas à court terme (Busquets-Garcia *et al*, 2016) indiquant que le stress perturbe la consolidation de la MRO. Le stress augmente la libération d'eCB au niveau de l'hippocampe et l'injection intra-hippocampique d'un antagoniste du CB₁ empêche les effets du stress sur la MRO démontrant le rôle des eCB dans les effets amnésiants du stress (Busquets-Garcia *et al*, 2016).

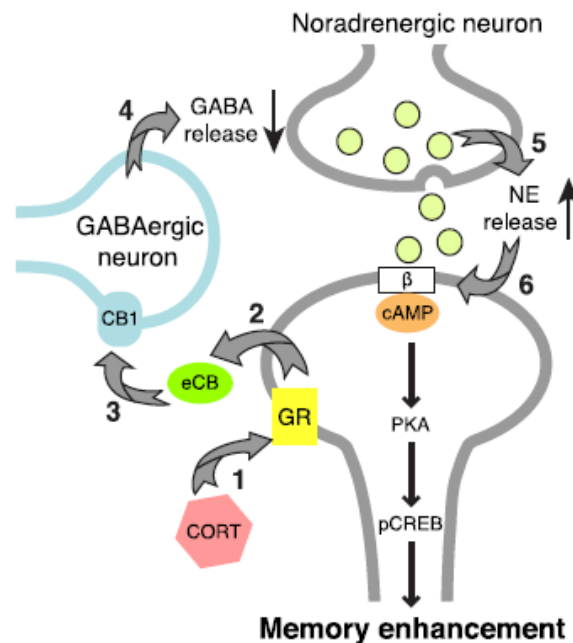


Figure 23. Modèle du rôle du GC dans la modulation des effets du système eCB sur la consolidation de la mémoire. La corticostérone (CORT) est libérée durant la phase d'acquisition d'une tâche qui présente un éveil émotionnel. La CORT se lie au GR membranaire et induit une activation du GR. L'activation du GR à son tour induit la synthèse des eCB qui voyagent au travers de

la fente synaptique afin d'activer leur récepteurs CB_1 au niveau pré-synaptique présentant sur la terminaison GABAergique. L'activation du CB_1 diminue donc la libération du GABA et cette suppression d'inhibition du GABA entraîne par conséquent une augmentation de la transmission noradrénergique (NE) au sein du BLA qui facilite enfin la consolidation de la mémoire. Modifié d'Atsak *et al.*, 2012.

E. Obésité, régime hyperlipidique et effets sur la mémoire

1. Altérations mnésiques

a. Chez l'Homme

Les personnes obèses présentent de moindres performances lors de tests évaluant les fonctions exécutives et la mémoire comparativement aux personnes de poids normal (Gunstad *et al.*, 2010). Les obèses montrent des déficits dans l'apprentissage et le rappel de listes de mots ainsi que dans d'autres tâches évaluant 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 des troubles cognitifs (Cournot *et al.*, 2006; Elias *et al.*, 2003). Un fort IMC ou RTH est aussi associé à une perturbation de la mémoire épisodique et sémantique (Cheke *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2015; Nilsson and Nilsson, 2009). Enfin, il y aurait un lien causal entre la consommation de régimes hyper-caloriques et la perturbation des fonctions mnésiques dépendantes de l'hippocampe (Baym *et al.*, 2014; Francis and Stevenson, 2013).

b. Dans les modèles d'obésité chez le rongeur

De nombreuses études ont démontré que la consommation de régimes hypercaloriques engendre des perturbations de mémoire. Étant donné l'importance des perturbations de mémoire déclarative chez l'Homme, la majorité de ces études a porté sur des tâches d'apprentissage et de mémoire impliquant l'intégrité de l'hippocampe. En 1990, Greenwood et Winocur ont publié les premières études montrant les effets d'un régime HL (40% des kcal provenant de lipides) sur l'apprentissage et la mémoire chez le rat. Ils ont montré que les rats nourris avec ce régime pendant 3 mois montraient de mauvaises performances en comparaison celles des rats nourris avec le régime standard (Greenwood and Winocur, 1990). Depuis ces travaux, de nombreuses études ont évalué les effets de régimes HL sur l'apprentissage et la mémoire en proposant les mécanismes potentiels impliqués.

- **Mécanismes potentiels impliqués**

- ✓ *Résistance à l'insuline*

Douze semaines de consommation d'un régime HL (60%) chez des rats mâles Wistar induit (en plus d'un surpoids et d'une augmentation des taux d'insuline plasmatique) une diminution de la phosphorylation du récepteur à l'insuline et d'IRS-1 (substrat de l'activation du récepteur) dans l'hippocampe, ainsi qu'une diminution de la phosphorylation d'Akt dans l'hippocampe suite à l'application d'insuline (Pratchayasakul *et al*, 2011). (Pintana *et al*, 2012). On remarque également une diminution de la capacité de l'insuline à induire une LTD dans le CA1 de l'hippocampe. Ces perturbations (phosphorylation et LTD) ne sont pas retrouvées après 4 et 8 semaines de régime HL suggérant que des atteintes de la voie de signalisation de l'insuline participent aux perturbations de plasticité hippocampique.

✓ *Stress oxydatif*

L'augmentation du stress oxydatif induite par le régime HL induit une diminution de l'expression protéique du BDNF, de la synapsine I et du CREB associés à une perturbation de la mémoire spatiale en piscine de Morris. En effet, un traitement à la vitamine E reverse ces effets suggérant le rôle du stress oxydatif dans la perturbation du cerveau et de la mémoire induite par le régime HL (Wu *et al*, 2004). De manière similaire, la consommation d'un régime HL riche en sucre pendant 6 semaines augmente le stress oxydatif dans l'hippocampe (diminution des taux de superoxyde dismutase et augmentation des taux de glutathion oxydase) et perturbe les performances dans une tâche de labyrinthe radial. Là encore, la supplémentation en vitamine E restaure le déficit de mémoire spatiale (Alzoubi *et al*, 2013).

✓ *Inflammation*

Différentes cytokines pro-inflammatoires (Interleukine-1 ou IL-1, IL-6, TNF- α et MCP-1) sont libérées lors de réponses immunitaires au niveau périphérique mais aussi au niveau cérébral. L'exposition à 2 types de régime HL, l'un composée de 45% et l'autre de 60% de kcal provenant de lipides, pendant 21 semaines induit un surpoids chez la souris. Par contre seul le régime le plus drastique (60%) induit des déficits de mémoire associés à une augmentation des taux de TNF α , d'IL-6 et de MCP-1 et des activations gliales (GFAP, IBA-1) au sein du cortex cérébral (Pistell *et al*, 2010). Ces résultats indiquent que le type de régime HL influence grandement l'inflammation cérébrale associée et pourrait être déterminante dans les déficits mnésiques associés. Le rôle causal entre augmentation des cytokines pro-inflammatoires dans l'hippocampe et déficit de mémoire spatiale/contextuelle a été mis en évidence dans un modèle d'obésité induite par consommation d'un régime HL (Sobesky *et al*, 2014) et un modèle d'obésité génétique (Erion *et al*, 2014).

Une meilleure compréhension de la source des molécules pro-inflammatoires est nécessaire. Une étude récente, utilisant des cellules immunitaires périphériques marquées à la

GFP, montre que les souris consommant un régime HL (60%) pendant 15 semaines présentent une augmentation de 30% de nombres de cellules GFP dans le cerveau (Buckman *et al*, 2014). De manière intéressante, plus de 80% des cellules GFP recrutées présentent des caractéristiques microgliales, principales sources de cytokines (Buckman *et al*, 2014).

✓ *Dysfonctionnement de la barrière hémato-encéphalique (BHE)*

Plusieurs études ont évoqué l'interaction entre le facteur métabolique et nutritionnel et le dysfonctionnement de la BHE. Une étude longitudinale indique que le surpoids et l'obésité peut affecter la perméabilité de la BHE (Gustafson *et al*, 2007). Des études expérimentales ont également confirmé le lien entre la consommation de régime HL, l'obésité et la perturbation de la BHE (Davidson *et al*, 2012; Freeman and Granholm, 2012; Kanoski *et al*, 2010). De manière intéressante, l'exposition au régime HL (40%) engendre des déficits spécifiques de mémoires dépendantes de l'hippocampe associé à une perturbation de la BHE dans l'hippocampe mais pas dans les autres structures suggérant là encore une vulnérabilité accrue de l'hippocampe (Davidson *et al*, 2012).

c. Régimes HL à travers des périodes du développement

Alors que la plupart des études ont évalué les effets de régimes HL consommés par des animaux adultes sur la mémoire, peu d'études ont investigué les effets de la consommation du régime HL pendant les périodes périnatales et adolescentes. Ces périodes sont particulièrement sensibles aux facteurs environnementaux dont l'alimentation fait parti. De plus, ce sont des périodes particulières de maturation pour l'hippocampe, l'amygdale et le cortex frontal, impliquées dans la mise en place des processus cognitifs et émotionnels pour le restant de la vie de l'individu (voir chapitre III).

• **Période périnatale**

La théorie selon laquelle la susceptibilité de développer des maladies à l'âge adulte est programmée durant le développement précoce (Barker, 1990) a orienté l'attention des chercheurs vers les investigations de l'impact de l'environnement périnatal sur la santé mentale de la descendance. Les études épidémiologiques ont rapporté un lien entre l'obésité maternelle et la baisse des performances cognitives de l'enfant (Casas *et al*, 2013; Hinkle *et al*, 2012; Tanda *et al*, 2013).

Quelques études chez l'animal ont étudié les effets du régime maternel et/ou de l'obésité maternelle sur les conséquences cognitives de la descendance. La consommation maternelle d'un régime HL commençant avant l'accouplement et finissant au sevrage (P21) engendre des déficits d'apprentissage et de mémoire spatiaux dépendants de l'hippocampe chez les descendants à 4 semaine d'âge mais pas à l'âge adulte (Lépinay *et al*, 2015; Tozuka

et al., 2010). Même si certaines études rapportent quelques effets comportementaux à l'âge adulte (Page *et al.*, 2014), il semble que les effets délétères du régime HL maternel sur la performance cognitive des descendants soient plus prononcés quand les descendants sont testés de manière précoce après l'arrêt du régime (résumé dans le Tableau 1). Il est à noter que toutes ces études portent sur les fonctions hippocampiques, avec essentiellement des approches comportementales, et que les effets du régime HL maternel sur les fonctions amygdaliennes de la descendance restent à évaluer.

Article	Sex/espèce	Apport calorique	Exposition	Age durant le Test	Tâche	Effet
Bilbo <i>et al.</i> , 2010	M et F Rat SD	Lipide (60%kcal)	Mères exposées 4 sem. avant	P85-95	MWM	pas d'effet
			Accouplement + Gestation-sevrage			
Can <i>et al.</i> , 2012	M Rat SD	Lipide (65%kcal)	Gestation- PN 119	Adulte	MWM	perturbation
Kuang <i>et al.</i> , 2014	M Rat SD	CD + solution sucrose 20%	Gestation 1-21	1 et 2 moi	MWM	perturbation à 1 moi
Lépiney <i>et al.</i> , 2015	M Rat Wistar	Lipide (39%kcal)	Gestation-sevrage	5 mois	MWM	pas d'effet
Mychasiuk <i>et al.</i> , 2015	M et F Rat SD	Lipide (60%kcal) + solution sucrose 20%	Mères exposées 3 sem. avant	P35-45	MWM	perturbation chez F
			Accouplement+Gestation-PN 47			
Page <i>et al.</i> , 2014	M Rat SD	Lipide (45%kcal)	Mères exposées 4 sem. avant	Adulte	MWM	perturbation
			Accouplement+gestation-sevrage			
Peleg-Raibtein <i>et al.</i> , 2012	M et F C57BL/6N	Lipide (60kcal%)	Mères exposées 4 sem. avant	Après P90	Cond. Peur	pas d'effet
			Accouplement + Gestation-sevrage			
Tozuka <i>et al.</i> , 2010	M C57BL/6N	Lipide (57%kcal)	Gestation-lactation J 16	P28 et P77	Barnes Maze	perturb chez ado, pas adulte
White <i>et al.</i> , 2009	M Rat Long Evans	Lipide (60%kcal)	Mères exposées 4 sem. avant	20 semaines	MWM	pas d'effet
			Accouplement + Gestation-sevrage			

Tableau 1. Effets de la consommation de régimes HL périnatal sur la mémoire et l'apprentissage dépendants de l'hippocampe.

- **Période juvénile et adolescente**

Peu d'informations sont disponibles concernant l'impact des régimes alimentaires ou de l'obésité durant l'adolescence sur la cognition chez l'Homme. Une étude épidémiologique récente indique que la consommation d'un régime riche en gras et sucre pendant la pré-adolescence est associée à une baisse des performances durant l'adolescence tardive dans des tâches d'apprentissage et de mémoire visuo-spatiales à long terme (Nyaradi *et al.*, 2014). De même, des jeunes adolescents en surpoids et obèses présentent de moindres performances de mémoire relationnelle dépendante de l'hippocampe mais pas pour une mémoire de reconnaissance simple non-dépendante de l'hippocampe (Khan *et al.*, 2015). De manière

intéressante, les performances dans la tâche de mémoire relationnelle dépendante de l'hippocampe sont inversement corrélées à la quantité de lipides saturés présent dans l'alimentation des adolescents suggérant que la consommation d'un régime riche en lipide saturé *per se* est suffisante pour induire les déficits de mémoire dépendante de l'hippocampe sans développement de l'obésité (Baym *et al*, 2014).

Les études chez l'animal indiquent que la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence a des effets plus drastiques sur les fonctions hippocampiques que la consommation à l'âge adulte. Ainsi au laboratoire NutriNeuro, il a été montré chez la souris mâle C57BL6 que 8-12 semaines de régime HL (45%) commençant au sevrage (P21, et donc couvrant l'adolescence) perturbe la mémoire relationnelle dépendante de l'hippocampe (Etchamendy *et al*, 2003; Mingaud *et al*, 2007) et diminue la neurogénèse hippocampique alors que la même durée de consommation du régime HL démarré à l'âge adulte (P84) n'a pas d'effet (Boitard *et al*, 2012, 2014). De façon similaire, des rats mâle Wistar exposés 8 semaines au régime HL de P21 à l'âge adulte (couvrant l'adolescence) montrent des perturbations de la rétention de la mémoire spatiale à long terme et une augmentation de l'inflammation après un challenge immun spécifiquement au niveau hippocampique alors que la consommation de ce régime chez le rat adulte n'a pas d'effet sur la mémoire et l'inflammation hippocampique (Boitard *et al*, 2012, 2014). D'autres équipes ont montré des effets similaires avec un impact plus importants de la consommation de régime obésogène lors de l'adolescence (HL et/ou sucré), par rapport à l'âge adulte, sur la fonction hippocampique (Hsu *et al*, 2015; Klein *et al*, 2016; Reichelt *et al*, 2015; Valladolid-Acebes *et al*, 2013a; Vinuesa *et al*, 2016).

Il est difficile de discerner si les perturbations de la mémoire sont dues à l'obésité ou au régime lui-même. Cependant, les performances de mémoire sont toujours altérées chez les souris soumises au régime HL (45%) mais avec une restriction alimentaire pour contrôler la prise de poids suggérant que le régime HL plus que l'obésité est responsable des déficits de mémoire (Valladolid-Acebes *et al*, 2013a). De même la consommation d'un régime HL (60%) chez les souris juvéniles pendant une semaine perturbe la performance de la mémoire spatiale en Y-Maze avant que le surpoids s'installe (Kaczmarczyk *et al*, 2013). Collectivement, ces données indiquent que l'hippocampe d'adolescent serait particulièrement vulnérable aux effets de régime obésogène (pour revue voir : (Noble and Kanoski, 2016; Reichelt, 2016)).

Par ailleurs, le laboratoire NutriNeuro a récemment investigué l'impact du régime HL à l'adolescence sur un autre système de mémoire dépendant de l'amygdale. Les performances

de rats mâle Wistar exposés au régime HL (45%) à l'adolescence ou à l'âge adulte ont été évaluées dans l'aversion olfactive conditionnée et le conditionnement de peur au son, deux apprentissages associatifs élémentaires dépendant fortement de l'intégrité du BLA (voir chapitre IV.3.b). Là encore l'exposition juvénile au régime HL a eu un impact important sur la mémoire à long terme de ces apprentissages que n'a pas eu l'exposition adulte (Boitard *et al*, 2012, 2014). Mais, contrairement aux mémoires dépendantes de l'hippocampe, ce n'est pas une perturbation mais une exacerbation des mémoires aversives qui a été mise en évidence après consommation du régime HL à l'adolescence. Cela s'accompagne d'une LTP plus importante au niveau du BLA des rats HL juvénile par rapport aux rats contrôles. Ces changements de plasticité et de comportements sont associés à des altérations de la réactivité de l'axe HPA. Les rats HL juvéniles, mais pas HL adultes, présentent une libération prolongée de GC suite à différents stress et le blocage des GR au niveau du BLA atténue la plus forte mémoire aversive des rats HL juvéniles et normalise la LTP au niveau du BLA (Boitard *et al*, 2012, 2014). Ces résultats indiquent que sur l'exacerbation de la mémoire dépendante de l'amygdale, suite aux régimes HL consommés à l'adolescence, dépend de l'altération des GC au travers d'une action sur les GR du BLA. Il reste maintenant à déterminer si les perturbations de mémoire, en particulier dépendantes de l'hippocampe, par les régimes HL juvéniles dépendent également des GR comme cela a été suggéré récemment dans un modèle génétique d'obésité (Wosiski-Kuhn *et al*, 2014) et si cela pourrait impliquer d'autres acteurs comme le système eCB qui sont affectés par les régimes HL (Massa *et al*, 2010; Rivera *et al*, 2013) et fortement lié aux GC.

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THÈSE

La prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents a triplé dans les 20 dernières années et ne cesse d'augmenter. Ceci est particulièrement inquiétant car l'enfance et l'adolescence sont des périodes de maturation de structures cérébrales comme l'hippocampe et l'amygdale participant à la mise en place des processus cognitifs et émotionnels pour le restant de la vie de l'individu. L'enfance et l'adolescence sont également des périodes sensibles aux facteurs environnementaux, et particulier l'alimentation, et il semble donc primordial de déterminer l'impact de l'exposition aux régimes obésogènes pendant ces périodes développementales sur les fonctions hippocampiques et amygdaliennes.

Il a été montré au laboratoire NutriNeuro sur des modèles rongeurs que la consommation d'un régime obésogène HL lors de l'adolescence a un impact plus important sur la mémoire que la même durée de consommation à l'âge adulte. Cependant les effets dépendent du système de mémoire investigué puisque la consommation de régime HL lors de l'adolescence perturbe la plasticité et la mémoire spatiale/relationnelle dépendantes de l'hippocampe (Boitard *et al.*, 2012, 2014), alors qu'elle augmente la plasticité et la mémoire aversive dépendantes de l'amygdale (Boitard *et al.*, 2015). Par ailleurs certaines études ont également montré que l'exposition périnatale au régime HL avait des conséquences négatives (quoique transitoires) sur les fonctions hippocampiques (résumé dans le Tableau 1). Cependant ces études ont utilisé des approches essentiellement comportementales, et les effets du régime HL périnatal sur les fonctions amygdaliennes de la descendance restaient à évaluer.

Ainsi le premier objectif de ce travail de thèse était de déterminer si l'exposition périnatale au régime HL avait, comme pour l'exposition à l'adolescence, un impact différent sur l'hippocampe et l'amygdale. Nous avons pour cela évalué l'impact d'un régime HL maternel lors de la gestation et la lactation sur la morphologie des neurones de la descendance à l'âge adulte. Nous nous sommes focalisés sur les neurones pyramidaux du CA1 de l'hippocampe et du noyau basolatéral de l'amygdale (BLA) en utilisant un marquage de Golgi. De plus, comme les études comportementales avaient exclusivement portées sur la mémoire dépendante de l'hippocampe, nous avons évalué les effets du régime HL périnatal sur l'aversion olfactive conditionnée, un apprentissage associatif élémentaire dépendant fortement de l'intégrité du BLA (Sevelinges *et al.*, 2009) et pour lequel une exacerbation a été montrée après consommation du régime HL pendant l'adolescence (Boitard *et al.*, 2015).

Suite à la consommation d'un régime obésogène HL lors de l'adolescence, une perturbation de l'axe du stress (HPA) a été mise en évidence au laboratoire, caractérisée par une libération prolongée des GC après un stress. Cette altération a été reliée à l'exacerbation de la mémoire aversive puisque le blocage des GR au niveau du BLA atténue la plus forte mémoire aversive des rats exposés au régime HL et normalise la LTP au niveau du BLA (Boitard *et al.*, 2012, 2014). L'exposition au HL à l'adolescence est également associée à des perturbations de certains types de mémoire non aversives (Boitard *et al.*, 2012, 2014).

Ainsi le second objectif de ce travail de thèse était de déterminer si 1) les altérations des GC intervenaient aussi dans les perturbations de mémoire induites par le régime HL consommé à l'adolescence et 2) si cela impliquait d'autres acteurs comme le système endocannabinoïde (eCB) fortement lié aux GC (pour revues Atsak *et al.*, 2012; Morena and Campolongo, 2014 ; Morena *et al.*, 2016) et modifié par les régimes HL (Massa *et al.*, 2010 ; Rivera *et al.*, 2013). Pour répondre à cette question, nous avons d'abord caractérisé les conditions comportementales engendrant des perturbations de mémoire chez des souris exposées au régime HL du sevrage à l'âge adulte (couvrant l'adolescence) lors d'une tâche non aversive et ne nécessitant aucune récompense alimentaire, le test de reconnaissance d'objet. Nous avons ensuite tenté de relier les conditions comportementales aux niveaux circulants de GC et aux taux hippocampiques d'eCB puis nous avons évalué les effets du blocage systémique des GR et des CB₁ 1) sur la mémoire à long terme et 2) sur les activations cérébrales induites lors de l'acquisition de la tâche en nous focalisant sur l'hippocampe et l'amygdale. Ayant mis en évidence des effets de l'antagoniste CB₁ spécifiquement sur les activations de l'hippocampe, nous avons alors évalué 1) l'impact sur la plasticité hippocampique *in vivo*, évaluée au travers de l'induction de la LTP dans le CA1 dans différentes conditions expérimentales, et 2) les effets bénéfiques de la délétion du CB₁ dans l'hippocampe sur la mémoire à long terme. Enfin une approche de pharmacogénétique (DREADD-Gi) a permis d'évaluer si l'hyperactivité de l'hippocampe des souris consommant le régime HL à l'adolescence participe à leur déficit de mémoire à long terme.

**Chapitre 1 : Impact de la consommation d'un régime HL
maternel sur les fonctions hippocampiques et amygdaliennes**

Perinatal high-fat diet exposure leads to alterations of neuronal morphology in the hippocampus and basolateral amygdala at adulthood

Yottana Janthakhin^{1,2,a}, Marion Rincel^{1,2,a}, Ana-Maria Costa^{1,2}, Muriel Darnaudéry^{1,2,*} and Guillaume Ferreira^{1,2,*,#}

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

^a These authors contributed equally

* These authors share senior authorship

Correspondence to Guillaume Ferreira

guillaume.ferreira@bordeaux.inra.fr

ABSTRACT

Children are currently exposed to calorie-dense food, rich in fat and sugar, contributing to the increasing prevalence of obesity and its associated adverse cognitive and emotional outcomes. It is thus critical to determine the impact of such feeding habits on neurodevelopment. In animals, high-fat diet (HFD) exposure during perinatal period impairs hippocampal function in adult offspring, but its impact on hippocampal neuronal morphology is unclear. Moreover, the consequences of perinatal HFD exposure on another system important for emotional memory, the amygdala, remain to be established at both structural and functional levels. Here, we show that perinatal HFD exposure (throughout gestation and lactation), leads to dendritic shrinkage of pyramidal neurons in the CA1 of the hippocampus but also in the basolateral amygdala (BLA) in adult offspring. Interestingly, perinatal HFD exposure specifically impairs conditioned odor aversion based on odor-malaise association, a task highly dependent on BLA function, without affecting olfactory or malaise processing. Taken together, our results suggest that perinatal HFD exposure alters hippocampal and amygdala neuronal morphology, leading to long-term functional impairments at adulthood.

Keywords: maternal diet, dendritic length, spine density, Golgi-cox, obesity, memory.

INTRODUCTION

The increased prevalence of obesity has been attributed to the excessive intake of calorie-dense food, in particular high-fat diet (HFD), associated with reduced physical activity (Andersen, 2000). Recent data indicate that a large proportion of childbearing women are obese (Ogden et al., 2012) suggesting that the majority of children have been exposed to calorie-dense food in utero and during their early postnatal development. Although few studies have explored this issue, clinical data suggest that maternal obesity might be associated with poor cognitive function in children (Brion et al., 2011; Casas et al., 2013; Hinkle et al., 2012; Neggers et al., 2003; Tanda et al., 2013).

Experimental studies in rodents have also reported cognitive changes in offspring of dams fed HFD during gestation and lactation, in particular alterations of hippocampal-dependent spatial memory (Page et al., 2014; Tozuka et al., 2010). In line with these studies, we have recently demonstrated that perinatal HFD exposure increases hippocampal vulnerability to the adverse effects of post-weaning HFD consumption on spatial memory (Lépinay et al., 2015). In addition to these effects on hippocampal function, one study indicates that maternal obesity transiently decreases dendritic arborization of newborns neurons in the hippocampal dentate gyrus of juvenile, but not adult, offspring (Tozuka et al., 2010). However it remains to be determined whether perinatal HFD exposure could have longer lasting effect on other hippocampal subfields such as CA1, necessary for spatial memory. One form of structural plasticity in neurons is the remodeling of dendrites and spines and these morphological changes have been proposed as an important mechanism supporting memory (Bailey and Kandel, 1993; Maletic-Savatic et al., 1999; Yang et al., 2008). One aim of the present study was therefore to investigate the effects of perinatal HFD exposure on morphology and spine density of hippocampal CA1 pyramidal neurons.

Dramatic structural changes occur in the basolateral amygdala (BLA) throughout postnatal development (Chareyron et al., 2012; Escobar and Salas, 1993; Rubinow et al., 2009; Ryan et al., 2016). The BLA is critical for the processing of emotional memories and the production of appropriate emotional responses (LeDoux, 2007, 2000; McGaugh, 2004). Previous studies indicate that perinatal high fat diet alters anxiety and glucocorticoid signaling in the amygdala (Sasaki et al., 2014), but the effects on the neuronal morphology of the (BLA) and on cognitive processes dependent of amygdala are unknown.

In the present study, we aimed at determining the impact of perinatal exposure to HFD (throughout gestation and lactation) on morphology and spine density of hippocampal and BLA pyramidal neurons at adulthood. We also investigated the impact of perinatal HFD exposure on BLA-dependent function. We focused on conditioned odor aversion (COA), based on odor-malaise pairing, as it is highly dependent on BLA integrity (Bermúdez-Rattoni et al., 1986; Sevelinges et al., 2009).

METHODS

Animals and diets

All experiments were approved by the Bioethical committee of our University (N°50120186-A) and région Aquitaine Veterinary Services (Direction Départementale de la Protection des Animaux, approval ID: A33-063-920) according to the European legislation (Directive 2010/63/EU, 2010 September 22th). Thirty six nulliparous female and eighteen male Wistar rats aged 11-week-old (Janvier, Le Genest, Saint-Isle, France) were used for these experiments.

After mating (one male for two females), pregnant females were individually housed and assigned to either control diet (CD; D12450K from Research Diets, New Brunswick, NJ; 3.85 kcal/g, 10% of energy from fat, 20% from proteins and 70% from carbohydrates with 0% sucrose) or high-fat diet (HFD; D12451 from Research Diets, New Brunswick, NJ; 4.7 kcal/g, 45% of energy from lard fat, 20% from proteins and 35% from carbohydrates, with half from sucrose). Dams were maintained under these diets from the first day of gestation to postpartum day 21. At postnatal day (PND)1, litters were culled to 8-12 pups with equilibrated sex ratios. On PND21, offspring were weaned onto standard laboratory chow and housed 3 per cage.

Behavioral studies were conducted in 3-5 month-old male rats, with different batch of animals used for each conditioning procedure (n=9-14/group). Morphological analyses was evaluated in another batch of male rats at 7 months (n=4/group). A maximum of 1-2 rats per litter was used to prevent from any litter-effect. Animals were maintained in a 12-h light/12-h dark cycle (lights on at 08:00 h) in a temperature-controlled room (22°C) with *ad libitum* food and water until the beginning of the conditioning procedures or sacrifice for morphological analyses.

Weight and metabolic parameters

7-month-old male rats were weighed before sacrifice. Glycemia and plasma leptin levels were measured in a subset of rats (n=7-10 rats/group) from trunk blood samples obtained at sacrifice. Blood samples were centrifuged at 4°C and plasma was stored at -80°C until processing. Plasma glucose concentration was determined using a commercial glucose assay kit (Calbiochem, Millipore, Fontenay sous Bois, France), and plasma leptin was measured by ELISA according to the manufacturer's instructions (Rat Leptin ELISA Kit, Millipore). Absorbance at 570 and 450 nm (for glucose and leptine, respectively) was measured with a spectrophotometer (VICTOR³V, PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Québec, Canada) and corrected for background. All samples were processed in duplicates. For plasma leptin, detection threshold was 0.08 ng/mL, intra-assay coefficient was below 5% and crossed reactions were insubstantial (<0.1%).

Morphological analyses in hippocampus CA1 and BLA

Golgi-Cox staining. Rats were deeply anesthetized with pentobarbital and sacrificed by decapitation. Four animals per group (CD and HFD) from different litters were used. Brains were processed according to the golgi-cox kit guidelines (FD Rapid Golgi Stain KIT, PK401 FD Neurotechnologies, INC). Briefly, brains were split into two parts by cutting at the level of the optic chiasma and immersed in Golgi-Cox solution for 11 days before deep freezing in isopentane. 200 µm coronal sections containing both the dorsal hippocampus and the BLA (bregma : -2.16 to -3.48 mm, according to Paxinos and Watson, 1986) were collected at -24°C using a cryostat (Leica, Solms, Germany) and mounted on 3% gelatin-coated slides. When slides were totally dry (3 days after) they were stained and coverslipped with Depex. Exposure to light was limited during the whole process.

Structural analysis. Images were obtained at the Bordeaux imaging Center (CNRS-INSERM and Bordeaux University, France BioImaging) and analyzed using the NeuronStudio software (CNIC, Mount Sinai School of Medicine, NY, USA). To minimize bias, the experimenter remained blind to the treatment conditions throughout the procedure. Dendritic arbor complexity and spine number were evaluated in pyramidal neurons of the hippocampal CA1 subfield and the BLA. The criteria used to select pyramidal neurons for reconstruction of both basal and apical trees were those described in (Cerqueira, Taipa, Uylings, Almeida, & Sousa, 2007) :

(a) full impregnation of the neurons along the entire length of the dendritic tree; (b) dendrites without significant truncation of branches; and (c) relative isolation from neighboring impregnated neurons, astrocytes or blood vessels. For each rat, 2-4 neurons fulfilling the criteria were finally selected.

Dendritic morphology. Briefly, NDPI images at X 20 magnification (one image every 4 μ m in the z axis) obtained with a digital slide scanner (Nanozoomer, Hamamatsu Photonics) were converted into TIFF format using the ImageJ software (<http://imagej.nih.gov.gate2.inist.fr/ij/>) and NDPItools plugin (Deroulers et al., 2013) For each selected neuron, all branches of the dendritic tree were manually reconstructed using the Neuronstudio software (Wearne et al., 2005) and total dendritic length as well as the number of dendritic branches were quantified separately for basal and apical trees by a 2D version of Sholl analysis.

Dendritic spine analysis. For each selected neuron, segments (36.9 \pm 0.3 μ m) were randomly selected in basal branches and distal apical branches of pyramidal neurons. Dendritic spines were manually counted in 2 segments of the basal tree and 1-2 segments of the apical tree. Finally, spine density was expressed as the number of spines per 10 μ m.

Behavioral analysis

Conditioned odor aversion (COA). Naive rats individually housed throughout the procedure were water deprived 24h before the start of the protocol and acclimated to a water deprivation regimen. Access to tap water was provided in a graded bottle (with 0.5 mL accuracy) for 15 min/day during 4 days (days 1-4) between 09:00 and 11:00 in the home cage. On the acquisition day (day 5), half of the rats in each group had 15 min access to almond-scented water (composed of 0.01% benzaldehyde, Sigma Aldrich) and the other to banana-scented water (composed of 0.01% isopentyl acetate; Sigma Aldrich). These almond and banana solutions were chosen because previous studies indicated that they are processed by odor, but not taste, cues (Desgranges, Sevelinges, Bonnefond, Levy, Ravel, & Ferreira, 2009; Rusiniak, Hankins, Garcia, & Brett, 1979). After a 30min delay, rats received an intra-peritoneal (i.p.) injection of a low dose of the emetic drug lithium chloride (LiCl, 0.075M, 1% of bodyweight, 30mg/kg; Sigma Aldrich), in order to induce the COA. For the next 2 days (days 6 and 7), rats had access to odorless tap water for 15 min/day in order to re-establish baseline water intake. COA was

assessed on day 8 by providing access to the odorized water previously used on day 5 for 15 min, immediately followed by 15 min of water. Finally, rats underwent 2 additional days (days 9 and 10) of testing to assess memory extinction. The percentage of odorized water consumption during the 3 days of testing relative to consumption on day 5 (acquisition day) was used as a measure of aversion strength.

Conditioned taste aversion (CTA). The procedure was identical to the one used for COA except that naive rats were exposed to the sweet taste saccharin (Sigma Aldrich), instead of almond and banana odors, mixed in water to a final concentration of 0.1%

Conditioned odor preference (COP). Naive rats individually housed throughout the procedure were water restricted for 24 h and then received 15 min daily access to water for 4 consecutive days (days 1-4). On day 5, half of the animals received almond-scented water and the other half had access to banana-scented water for 15 min (od-). On day 6, rats that previously received almond-scented water on day 5 received banana-scented water mixed with 5% sucrose and *vice versa* (od+) for 15 min. On day 7, rats had access to water for 15 min. Days 8-9 consisted of a two-choice test between banana- and almond-scented water simultaneously. The left/right position of the scented solution was reversed between the two test sessions to eliminate position bias. The quantity consumed for each solution was measured and the ratio of odor+ consumption over total fluid consumption was used as a measure of preference.

Open-field test. The open-field apparatus consisted of a white wooden box (100x100x50 cm) free of bedding and placed in a brightly lit room (60 lux in its center), which constitutes an anxiogenic environment. Each rat was placed facing the wall in a corner of the open-field and allowed to explore the apparatus for 10 min. A camera wired to an automated tracking system (SMART 2.5.20 version, Panlab) was used to quantify the total distance covered and time spent in the center for the open-field.

Statistics

Data are expressed as the mean \pm SEM, and statistical analyses were conducted using Statview software with a threshold for considering statistically significant difference being set up at $p \leq 0.05$. Group differences were analysed using paired or unpaired Student's *t* tests, two-way ANOVA with repeated measures.

Significant interactions were further investigated using Fisher's PLSD *post hoc* tests. For the COP, the preference for odor+ in each group was compared to chance level (50%) using one sample t-tests.

RESULTS

Effect of perinatal HFD exposure on body weight and metabolic parameters

Perinatal HFD exposure did not affect body weight (CD: 549±12.3 g; HFD: 540±13.9 g, $t_{(17)} < 1$, $p = 0.61$) or glycemia at adulthood (CD: 6.5±0.1 mmol/L; HFD: 6.4±0.12 mmol/L, $t_{(12)} < 1$, $p = 0.55$) but significantly increased plasma leptin level (CD: 12.7±0.58 ng/mL; HFD: 16.1±1.14 ng/mL, $t_{(16)} = 2.88$, $p = 0.01$), as previously reported (Bilbo and Tsang, 2010; Lépinay et al., 2015).

Perinatal HFD exposure impairs dendritic complexity of pyramidal neurons in the hippocampus

We first evaluated the effects of perinatal HFD exposure on dendritic complexity and spine density of hippocampal CA1 pyramidal neurons. Figures 1A and 1E show the reconstruction of representative CA1 pyramidal neurons in CD and HFD animals.

At apical arbor, the dendritic length and number of branch points varied with respect to the distance from soma ($F_{(19,532)} = 6.49$, $p < 0.0001$ and $F_{(19,532)} = 7.95$, $p < 0.0001$, respectively) without any effect of perinatal diet ($F_{(1,532)} < 1$, $p = 0.74$ and $F_{(1,532)} < 1$, $p = 0.71$, respectively) or interaction between these factors ($F_{(19,532)} = 1.23$, $p = 0.23$ and $F_{(19,532)} = 1.21$, $p = 0.24$, respectively ; Fig.1B and 1C).

Interestingly, at basal arbor, perinatal HFD exposure markedly affected the dendritic length (distance effect: $F_{(10,270)} = 94.44$, $p < 0.0001$; diet effect: $F_{(1,270)} = 4.28$, $p = 0.04$; diet X distance effect: $F_{(10,270)} = 4.67$, $p < 0.0001$) with a significant decrease between 100 and 140 μm away from soma in HFD group compared to CD group (*post hoc* analysis: $p = 0.03$, $p = 0.006$ and $p = 0.004$ for 100, 120, and 140 μm from soma, respectively; Fig.1F). Moreover, the number of branch points at basal arbor was also significantly decreased by perinatal HFD exposure (distance effect: $F_{(10,270)} = 59.11$, $p < 0.0001$; diet effect: $F_{(1,270)} = 2.41$, $p = 0.13$; diet X distance effect: $F_{(10,270)} = 1.90$, $p = 0.04$) in particular at 100 and 120 μm from soma (*post hoc* analysis: $p = 0.04$ and $p = 0.002$, respectively; Fig.1G).

Dendritic spine density was not affected by perinatal HFD exposure at apical arbor (unpaired t-test, $t_{(30)} < 1$, $p = 0.63$, Fig.1D), but tended to be increased at basal arbor compared with control animals ($t_{(20)} = 1.78$, $p = 0.09$, Fig.1H).

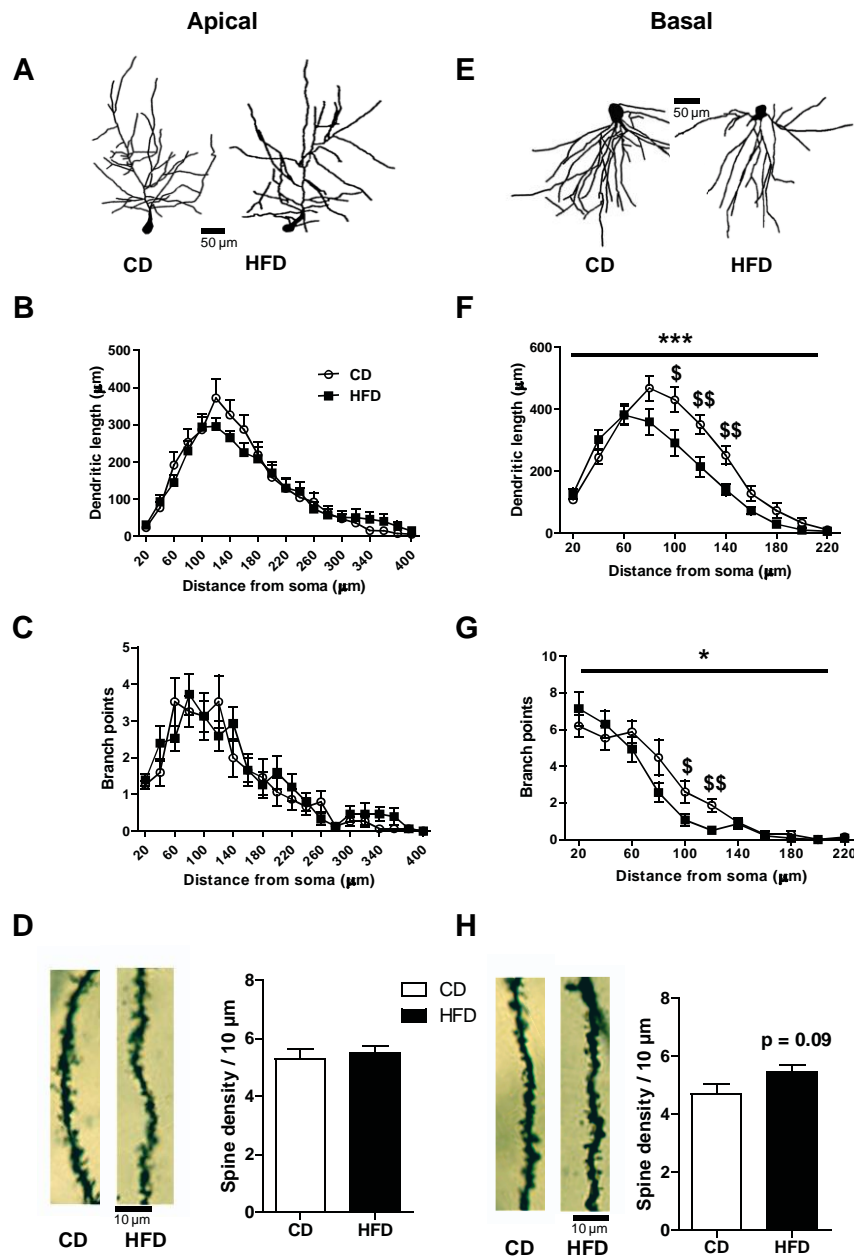


Figure 1. Effects of perinatal HFD exposure on dendritic arborization and spine density in the hippocampal CA1 subregion of adult rats.

(A-D) Apical arbors of hippocampal CA1 pyramidal neurons. (A) Reconstruction of representative pyramidal neurons in each group. (B) Dendritic length (μm) and (C) number of dendritic branch points relative to the distance from soma (CD group: $n = 15$ neurons; HFD

group: n=15 neurons). (D) Representative photomicrographs of dendrite fragments and dendritic spine density (CD group: n=14 neurons; HFD group: n=18 neurons). (E-H) Basal arbors of hippocampal CA1 pyramidal neurons: reconstruction of representative pyramidal neurons (E), dendritic length (F), dendritic branch points (G; CD group: n=15 neurons; HFD group: n=14 neurons), representative photomicrographs of dendrite fragments and dendritic spine density (H; CD group: n=12 neurons; HFD group: n=10 neurons). * $p < 0.05$ and *** $p < 0.0001$ (diet x distance interaction); \$ $p < 0.05$ and \$\$ $p < 0.01$ (*post hoc* analysis).

Perinatal HFD exposure impairs dendritic complexity of pyramidal neurons in the amygdala

We next investigated whether perinatal HFD exposure could induce similar structural changes in the BLA. Figures 2A and 2E show the reconstruction of representative BLA pyramidal neurons.

At apical arbor, the dendritic length and number of branch points varied with respect to the distance from soma ($F_{(18,378)}=24.77$, $p < 0.0001$ and $F_{(18,378)}=11.94$, $p < 0.0001$, respectively) without any effect of perinatal diet ($F_{(1,378)} < 1$, $p = 0.41$ and $F_{(1,378)} < 1$, $p = 0.40$, respectively) or distance X diet interaction ($F_{(18,378)} < 1$, $p = 0.72$ and $F_{(18,378)} = 1.39$, $p = 0.13$, respectively ; Fig. 2B and 2D).

In contrast, at basal arbor, the dendritic length was affected by perinatal diet (distance effect: $F_{(11,264)}=48.08$, $p < 0.0001$; diet effect: $F_{(1,264)}=3.11$, $p = 0.09$; diet X distance effect: $F_{(11,264)}=2.14$, $p = 0.02$) with a decrease of dendritic length 60 μm away from soma in HFD offspring (*post hoc* analysis: $p = 0.055$; Fig. 2F). No effect of perinatal HFD exposure was found for the number of basal branch points (distance effect: $F_{(7,168)}=41.56$, $p < 0.0001$; diet effect: $F_{(1,168)}=2.02$, $p = 0.17$; diet X distance effect: $F_{(7,168)} < 1$, $p = 0.61$; Figure 2G).

Finally, spine density was not altered by perinatal HFD exposure (apical arbor: $t_{(25)} < 1$, $p = 0.52$; basal arbor: $t_{(29)} < 1$, $p = 0.76$; Fig. 2G and 2H).

Perinatal HFD exposure impairs conditioned odor aversion without affecting other behavioral tasks

Conditioned odor aversion

We then explored the effects of perinatal HFD exposure on COA, a procedure based on odor-malaise pairing that requires BLA integrity (Bermudez-Rattoni et al., 1983, 1986; Sevelinges et al., 2009). Both groups showed similar baseline water consumption (CD: 13.4 ± 0.4 ml; HFD: 13.8 ± 0.4 ml; $t_{(17)} < 1$, $p = 0.49$) and odorized water consumption on the day of COA acquisition (CD: 13.2 ± 0.7 ml; HFD: 12.6 ± 0.7

ml; $t_{(17)} < 1$, $p = 0.52$). COA memory was assessed three days after conditioning. Both groups showed reduced consumption of the odorized water (compared with the acquisition day), indicating effective aversion (CD: $t_{(9)} = 5.2$, $p < 0.001$; HFD: $t_{(8)} = 6.2$, $p < 0.001$; Fig. 3A). Remarkably, the aversion was significantly weaker in the HFD group than in the CD group ($t_{(17)} < 1$, $p = 0.04$; Fig. 3A).

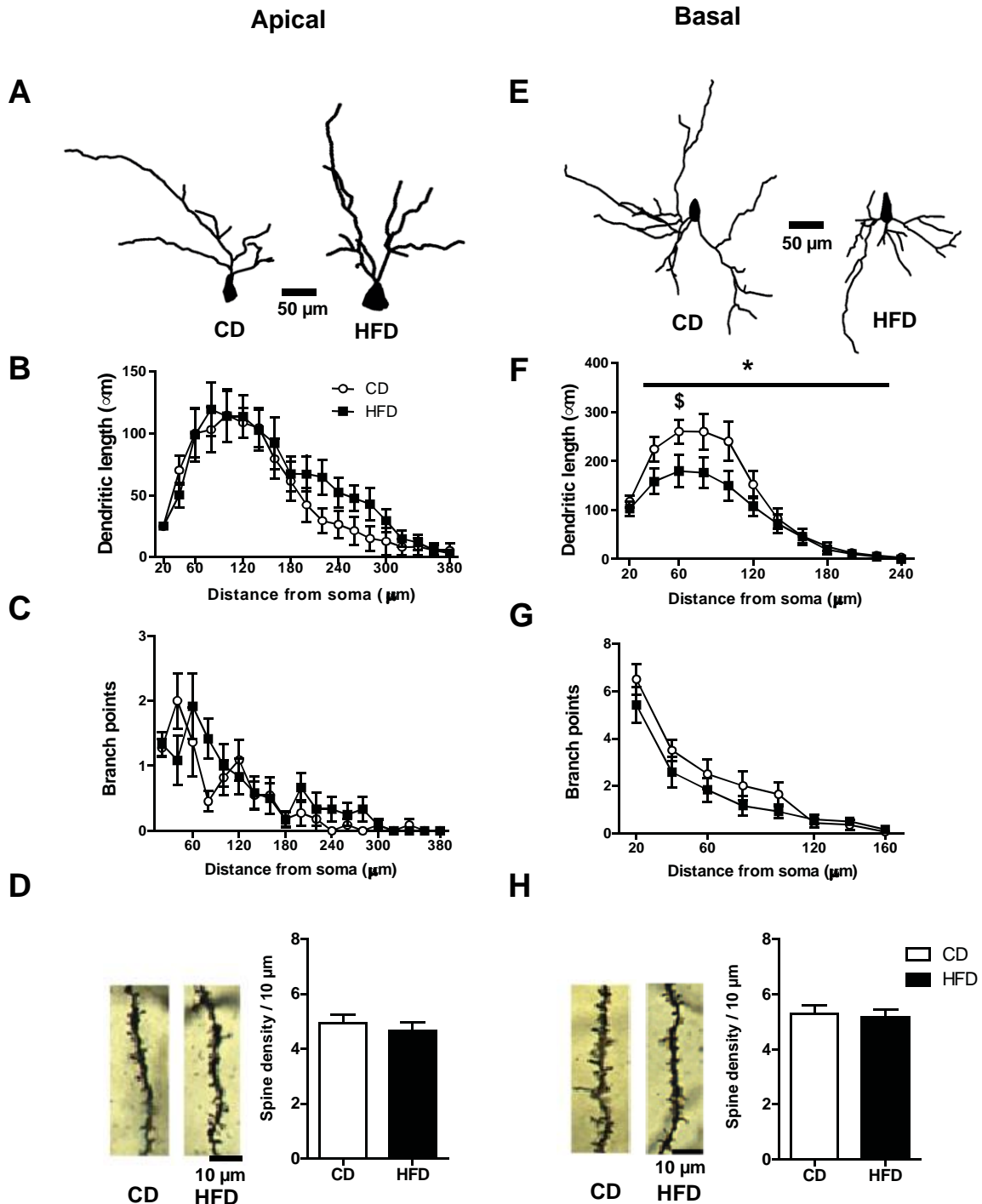


Figure 2. Effects of perinatal HFD exposure on dendritic arborization and spine density in the basolateral amygdala (BLA) in adult rats

(A-D) Apical arbors of BLA pyramidal neurons: reconstruction of representative pyramidal neurons (A), dendritic length (B), dendritic branch points (C; CD group: $n = 11$ neurons;

HFDgroup: n=12 neurons), representative photomicrographs of dendrite fragments and dendritic spine density (D; CD group: n=14 neurons; HFD group: n=12neurons). (E-H) Basal arbors of BLA pyramidal neurons:reconstruction of representative pyramidal neurons (E), dendritic length(F), dendritic branch points (G; CD group: n=15 neurons; HFD group: n=12 neurons), representative photomicrographs of dendrite fragments and dendritic spine density (H;CD group: n=16 neurons; HFD group: n=15neurons). *p<0.05 (diet x distance interaction); §p=0.055 (post-hoc analysis).

This diet effect was not influenced by the odor used (either almond or banana; odor effect: $F_{(1,15)}<1$, $p=0.79$; diet effect: $F_{(1,15)}=4.42$, $p=0.05$; odor X diet interaction: $F_{(1,15)}<1$, $p=0.73$). Together, these data indicate that perinatal HFD exposure impairs conditioned odor aversion. In contrast, memory extinction was not altered by perinatal HFD exposure, as both groups showed parallel increase of odorized water consumption during the next two days of test (time effect: $F_{(2,34)}=92.7$, $p<0.0001$; diet effect: $F_{(1,17)}=4.1$, $p=0.057$; diet X time effect: $F_{(2,34)}<1$, $p=0.91$; Fig. 3A).

Conditioned taste aversion

Both groups displayed similar baseline water consumption (CD: 14.3 ± 0.3 ml; HFD: 14.2 ± 0.4 ml, unpaired t-test, $t_{(24)}<1$, $p=0.98$) and sweet taste consumption during CTA acquisition (CD: 14.2 ± 0.8 ml; HFD: 13.5 ± 0.8 ml, $t_{(24)}<1$, $p=0.54$). During the test, both groups showed effective taste aversion, as they decreased sweet taste consumption (compared with consumption during acquisition; CD: $t_{(12)}= 7.1$, $p< 0.0001$; HFD: $t_{(12)}=7.6$, $p<0.0001$). This decrease was similar in magnitude (unpaired t-test, $t_{(24)}=1.44$, $p=0.17$;Fig. 3B), indicating that perinatal HFD exposure did not affect CTA. During the next two days, both groups increased sweet taste intake demonstrating similar memory extinction (time effect: $F_{(2,48)}=88.7$, $p<0.0001$; diet effect: $F_{(1,24)}=1.7$, $p=0.20$; diet X time effect: $F_{(2,48)}<1$, $p=0.52$; Fig.3B).

In order to directly compare COA and CTA, we performed an analysis on the first test day and found a significant interaction between the diet and the sensory modality (odor vs taste; $F_{(1,41)}=6.08$, $p=0.018$). *Post hoc* analysis revealed similar aversion during COA and CTA test for CD groups ($p=0.54$), whereas COA was significantly weaker than CTA in HFD groups ($p=0.006$; Fig. 3C).

Because this experiment revealed an effect on COA, we conducted other experiments in order to control for an effect on olfactory or malaise processing. For this purpose, we evaluated the effects of perinatal HFD exposure on conditioned taste aversion (CTA), based on taste-malaise pairing, and conditioned odor

preference (COP), based on odor-reward association, which are less dependent on BLA than COA (Bermudez-Rattoni et al., 1983, 1986; Touzani & Sclafani, 2005).

Conditioned odor preference

Both groups showed similar consumption of water at baseline (CD: 13.0±0.5 ml; HFD: 12.9±0.4 ml; $t_{(25)} < 1$, $p = 0.87$), unsweetened odorized water (od-; CD: 12.8±0.5 ml; HFD: 12.7±0.6 ml; $t_{(25)} < 1$, $p = 0.83$) and odorized water mixed with sucrose (od+; CD: 13.9±0.7 ml; HFD: 12.9±0.6 ml; $t_{(25)} = 1.1$, $p = 0.29$) during acquisition. During the two-choice odor tests, both groups preferentially consumed the odorized water that was previously paired with sucrose (compared to 50% chance level using one sample t-test; CD: $t_{(12)} = 3.19$, $p = 0.008$; HFD: $t_{(13)} = 3.47$, $p = 0.004$; Fig.3D) and the preference index was not different between CD and HFD groups ($t_{(25)} < 1$, $p = 0.91$; Fig.3D), indicating that COP is not altered by perinatal HFD exposure.

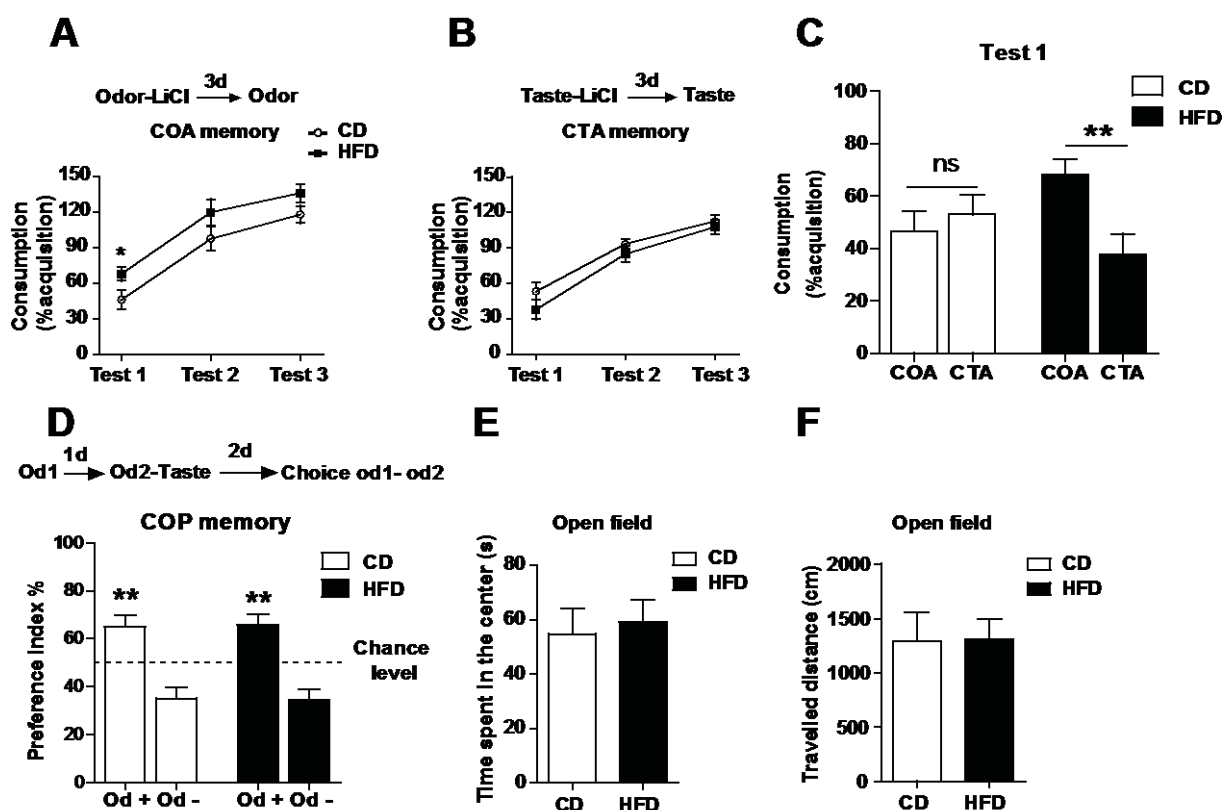


Figure 3. Effect of perinatal HFD exposure on conditioned odor aversion (COA), conditioned taste aversion (CTA), conditioned odor preference (COP) and anxiety-like behavior at adulthood.

Perinatal HFD exposure attenuated COA(A; CD group: n=9; HFD group: n=10)but didnot affect CTA (B;CD group: n=13; HFD group: n=13). COA strengthduring the first test was similar to CTA in CD group but COA was weaker than CTA in HFD group (C).Perinatal HFD

exposure did not affect the preference for the previously rewarded odor (od+) in COP (D; CD group, n=13; HFD group, n=14) and did not change the time spent in the center of the arena (E) and the distance travelled (F) during the open-field test (CD group: n=9; HFD group: n=11).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (group difference in A and C; compared to 50% chance level in D).

Anxiety-like behavior

Time spent in the center and total distance travelled in the open-field were similar in both groups (time: $t_{(18)} < 1$, $p = 0.72$; distance, $t_{(18)} < 1$, $p = 0.95$, Fig.3E-F), suggesting that perinatal HFD exposure does not impact anxiety-like behavior at adulthood.

DISCUSSION

Many studies have reported the deleterious effects of perinatal HFD exposure on hippocampal-dependent memory and function (Lépinay et al., 2015; Page et al., 2014; Tozuka et al., 2010). Here, we demonstrate that perinatal HFD exposure throughout gestation and lactation leads to dendritic shrinkage of pyramidal neurons in the hippocampal CA1 at adulthood. In addition, perinatal HFD exposure also decreases (to a lesser extent) the arborization of pyramidal neurons in the BLA and specifically impairs conditioned odor aversion, a memory task highly dependent on BLA integrity, at adulthood. To our knowledge, these data are the first evidence indicating that early life HFD exposure affects amygdala structure and function.

Previous studies have identified a window during the first postnatal month, especially before weaning, wherein the morphology and physiology of hippocampal and amygdala neurons undergo rapid and pronounced changes (Chareyron et al., 2012; Groen et al., 2014; Moryś et al., 1998; Rubinow et al., 2009). In particular, neurons exhibit soma and dendritic expanding during this period along with significant changes in excitability and sensitivity to synaptic input (Ehrlich et al., 2012; Kobe et al., 2012; Sohya et al., 2007). Interestingly, loss of excitatory GABA input early in development severely limits dendritic arborization complexity (Cancedda et al., 2007). As recent studies indicate that high-fat or high-sucrose diet consumption decreases the density of GABAergic interneurons and GABA concentration in the

hippocampus (Reichelt et al., 2015; Sandoval-Salazar et al., 2016), it would be important to evaluate the contribution of the GABAergic system to hippocampal and amygdala neuronal morphology changes induced by perinatal HFD exposure.

Perinatal HFD exposure induces dendritic shrinkage in CA1 and BLA pyramidal neurons specifically at basal arbor, without affecting apical arbor. A similar specific decrease of basal arborization in the CA1 was reported after perinatal exposure to Bisphenol A (Kimura et al., 2016), which alters hippocampal glucocorticoid receptor (GR) expression (Chen et al., 2015; Poimenova et al., 2010). Interestingly, repeated administration of corticosterone decreases basal arborization in the CA1 (Morales-Medina et al., 2009) and more importantly, perinatal HFD exposure modifies HPA axis function (Page et al., 2014) and increases glucocorticoid receptors expression in both the hippocampus and the amygdala in adult offspring (Sasaki et al., 2013). Altogether, these results suggest that alteration of the HPA axis could participate to the dendritic shrinkage of CA1 and BLA pyramidal neurons induced by perinatal HFD exposure.

We found that perinatal HFD exposure slightly increases dendritic spine density in the CA1 (at basal arbor) but not in the BLA of adult rats. Interestingly, a recent report demonstrated that adult offspring from HFD-fed dams showed a loss of dendritic spines in the somatosensory cortex (Hatanaka et al., 2016), suggesting that dendritic spines in the cerebral cortex could be more sensitive to the effect of perinatal HFD exposure than those of the CA1 and BLA. Regarding CA1, several reports indicate that post-weaning HFD consumption can greatly affect neuronal morphology. Whereas 8 weeks of HFD consumption during adolescence increases dendritic spine density in the CA1, the same duration of HFD intake at adulthood has no effect (Valladolid-Acebes et al., 2013). In contrast, a longer duration of HFD intake at adulthood (>12 weeks) decreases dendritic spine density in the CA1 (Stranahan et al., 2008). Together with our results, these data suggest that the impact of HFD on spine density in the CA1, and possibly the BLA, depends on the developmental stage and the duration of HFD exposure.

Our study reveals that perinatal HFD exposure impairs COA memory, which is highly dependent on BLA integrity in adult animals (Desgranges et al., 2008; Sevelinges et al., 2009). However, perinatal HFD exposure does not affect CTA and COP which are less dependent on the BLA. Indeed, only extensive amygdala lesion, but not restricted manipulation of the BLA, can impair CTA (Bermúdez-Rattoni et al.,

1986; Bermudez-Rattoni et al., 1983) and COP (Gilbert et al., 2003; Touzani and Sclafani, 2005). These results rule out that perinatal HFD exposure have altered gastric malaise processing, olfactory perception or other motor/motivational aspects during the COA experiment and suggest that COA impairment is rather due to disturbance of odor-malaise association and/or memory retention of this specific association.

We recently reported that HFD consumption during adolescence enhanced COA memory and BLA plasticity (Boitard et al., 2015). Together with the present data, these findings indicate that perinatal and adolescent periods constitute critical windows of sensitivity to HFD, with opposite HFD effects on BLA function later in life.

Despite morphological alterations in hippocampus and amygdala neurons, we did not find any effect of perinatal HFD exposure on anxiety-like behaviour in the open-field test. In contrast to our results, some studies reported enhanced anxiety-like behavior in adult rat offspring after perinatal HFD exposure (Bilbo and Tsang 2010; Sasaki et al. 2013; Ramírez-López et al. 2015). However, these studies used more drastic HFD conditions (60% kcal from saturated fat, instead of 45% in our study) and/or longer duration of maternal HFD consumption (diet starting before conception), which leads to maternal obesity. Herein, we report that perinatal exposure to a HFD leads to dendritic shrinkage of CA1 and BLA pyramidal neurons. This could explain the impairment of hippocampal-dependent memory reported by previous studies, as well as the deficit of BLA-dependent COA memory reported here. Whether this structural remodeling participates in memory deficit remains to be demonstrated. Overall, our data suggest that hippocampus and amygdala maturation is sensitive to early life environmental factors such as nutrition.

Acknowledgements

This work was supported by the French ANR-IBISS (MD) and the French ANR-15-CE17-0013 OBETEEN (GF). YJ was the recipient of a PhD fellowship from the Ministry of Science and Technology of Thailand (2013-2016). MR was the recipient of a PhD fellowship from the French Ministry of Research and Higher Education (2014-2017). The authors thank V. Nicolas, E. Roudeix and A.L. Lépinay for their help during behavioral experiments, M. Cadet and C. Testa for taking care of the rats and S. Marais of the Bordeaux Imaging Center.

REFERENCES

- Andersen, R.E., 2000. The spread of the childhood obesity epidemic. *CMAJ Can. Med. Assoc. J. J. Assoc. Medicale Can.* 163, 1461–1462.
- Bailey, C.H., Kandel, E.R., 1993. Structural changes accompanying memory storage. *Annu. Rev. Physiol.* 55, 397–426. doi:10.1146/annurev.ph.55.030193.002145
- Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W., Garcia, J., 1986. Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions. *Physiol. Behav.* 38, 503–508.
- Bermudez-Rattoni, F., Rusiniak, K.W., Garcia, J., 1983. Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. *Behav. Neural Biol.* 37, 61–75.
- Bilbo, S.D., Tsang, V., 2010. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 24, 2104–2115. doi:10.1096/fj.09-144014
- Boitard, C., Maroun, M., Tantot, F., Cavaroc, A., Sauvart, J., Marchand, A., Layé, S., Capuron, L., Darnaudery, M., Castanon, N., Coutureau, E., Vouimba, R.-M., Ferreira, G., 2015. Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 4092–4103. doi:10.1523/JNEUROSCI.3122-14.2015
- Brion, M.-J., Zeegers, M., Jaddoe, V., Verhulst, F., Tiemeier, H., Lawlor, D.A., Smith, G.D., 2011. Intrauterine effects of maternal prepregnancy overweight on child cognition and behavior in 2 cohorts. *Pediatrics* 127, e202-211. doi:10.1542/peds.2010-0651
- Cancedda, L., Fiumelli, H., Chen, K., Poo, M., 2007. Excitatory GABA action is essential for morphological maturation of cortical neurons in vivo. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 5224–5235. doi:10.1523/JNEUROSCI.5169-06.2007
- Casas, M., Chatzi, L., Carsin, A.-E., Amiano, P., Guxens, M., Kogevinas, M., Koutra, K., Lertxundi, N., Murcia, M., Rebagliato, M., Riaño, I., Rodríguez-Bernal, C.L., Roumeliotaki, T., Sunyer, J., Mendez, M., Vrijheid, M., 2013. Maternal pre-pregnancy overweight and obesity, and child neuropsychological development: two Southern European birth cohort studies. *Int. J. Epidemiol.* 42, 506–517. doi:10.1093/ije/dyt002
- Chareyron, L.J., Lavenex, P.B., Lavenex, P., 2012. Postnatal development of the amygdala: a stereological study in rats. *J. Comp. Neurol.* 520, 3745–3763. doi:10.1002/cne.23132
- Chen, F., Zhou, L., Bai, Y., Zhou, R., Chen, L., 2015. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity accounts for anxiety- and depression-like behaviors in rats perinatally exposed to bisphenol A. *J. Biomed. Res.* 29, 250–258. doi:10.7555/JBR.29.20140058
- Desgranges, B., Lévy, F., Ferreira, G., 2008. Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res.* 1236, 166–175. doi:10.1016/j.brainres.2008.07.123
- Ehrlich, D.E., Ryan, S.J., Rainnie, D.G., 2012. Postnatal development of electrophysiological properties of principal neurons in the rat basolateral amygdala. *J. Physiol.* 590, 4819–4838. doi:10.1113/jphysiol.2012.237453
- Escobar, C., Salas, M., 1993. Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development: an experimental study in the rat. *Exp. Neurol.* 122, 311–318. doi:10.1006/exnr.1993.1130
- Gilbert, P.E., Campbell, A., Kesner, R.P., 2003. The role of the amygdala in conditioned flavor preference. *Neurobiol. Learn. Mem.* 79, 118–121.
- Groen, M.R., Paulsen, O., Pérez-Garci, E., Nevian, T., Wortel, J., Dekker, M.P., Mansvelder, H.D., van Ooyen, A., Meredith, R.M., 2014. Development of dendritic tonic GABAergic inhibition regulates excitability and plasticity in CA1 pyramidal neurons. *J. Neurophysiol.* 112, 287–299. doi:10.1152/jn.00066.2014
- Hatanaka, Y., Wada, K., Kabuta, T., 2016. Maternal high-fat diet leads to persistent synaptic instability in mouse offspring via oxidative stress during lactation. *Neurochem. Int.* 97, 99–108. doi:10.1016/j.neuint.2016.03.008
- Hinkle, S.N., Schieve, L.A., Stein, A.D., Swan, D.W., Ramakrishnan, U., Sharma, A.J., 2012. Associations between maternal prepregnancy body mass index and child neurodevelopment at 2 years of age. *Int. J. Obes.* 2005 36, 1312–1319. doi:10.1038/ijo.2012.143

- Kimura, E., Matsuyoshi, C., Miyazaki, W., Benner, S., Hosokawa, M., Yokoyama, K., Kakeyama, M., Tohyama, C., 2016. Prenatal exposure to bisphenol A impacts neuronal morphology in the hippocampal CA1 region in developing and aged mice. *Arch. Toxicol.* 90, 691–700. doi:10.1007/s00204-015-1485-x
- Kobe, F., Guseva, D., Jensen, T.P., Wirth, A., Renner, U., Hess, D., Müller, M., Medrihan, L., Zhang, W., Zhang, M., Braun, K., Westerholz, S., Herzog, A., Radyushkin, K., El-Kordi, A., Ehrenreich, H., Richter, D.W., Rusakov, D.A., Ponimaskin, E., 2012. 5-HT7R/G12 signaling regulates neuronal morphology and function in an age-dependent manner. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 2915–2930. doi:10.1523/JNEUROSCI.2765-11.2012
- LeDoux, J., 2007. The amygdala. *Curr. Biol.* CB 17, R868-874. doi:10.1016/j.cub.2007.08.005
- LeDoux, J.E., 2000. Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 155–184. doi:10.1146/annurev.neuro.23.1.155
- Lépinay, A.L., Larrieu, T., Joffre, C., Acar, N., Gárate, I., Castanon, N., Ferreira, G., Langelier, B., Guesnet, P., Brétilon, L., Parnet, P., Layé, S., Darnaudéry, M., 2015. Perinatal high-fat diet increases hippocampal vulnerability to the adverse effects of subsequent high-fat feeding. *Psychoneuroendocrinology* 53, 82–93. doi:10.1016/j.psyneuen.2014.12.008
- Maletic-Savatic, M., Malinow, R., Svoboda, K., 1999. Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science* 283, 1923–1927.
- McGaugh, J.L., 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 1–28. doi:10.1146/annurev.neuro.27.070203.144157
- Morales-Medina, J.C., Sanchez, F., Flores, G., Dumont, Y., Quirion, R., 2009. Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *J. Chem. Neuroanat.* 38, 266–272. doi:10.1016/j.jchemneu.2009.05.009
- Moryś, J., Berdel, B., Kowiański, P., Dziewiatkowski, J., 1998. The pattern of synaptophysin changes during the maturation of the amygdaloid body and hippocampal hilus in the rat. *Folia Neuropathol. Assoc. Pol. Neuropathol. Med. Res. Cent. Pol. Acad. Sci.* 36, 15–23.
- Neggers, Y.H., Goldenberg, R.L., Ramey, S.L., Cliver, S.P., 2003. Maternal prepregnancy body mass index and psychomotor development in children. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 82, 235–240.
- Page, K.C., Jones, E.K., Anday, E.K., 2014. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 306, R527-537. doi:10.1152/ajpregu.00319.2013
- Poimenova, A., Markaki, E., Rahiotis, C., Kitraki, E., 2010. Corticosterone-regulated actions in the rat brain are affected by perinatal exposure to low dose of bisphenol A. *Neuroscience* 167, 741–749. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.02.051
- Ramírez-López, M.T., Vázquez, M., Bindila, L., Lomazzo, E., Hofmann, C., Blanco, R.N., Alén, F., Antón, M., Decara, J., Ouro, D., Orió, L., Suarez, J., Lutz, B., Rodríguez de Fonseca, F., Gómez de Heras, R., 2015. Exposure to a Highly Caloric Palatable Diet During Pregestational and Gestational Periods Affects Hypothalamic and Hippocampal Endocannabinoid Levels at Birth and Induces Adiposity and Anxiety-Like Behaviors in Male Rat Offspring. *Front. Behav. Neurosci.* 9, 339. doi:10.3389/fnbeh.2015.00339
- Reichelt, A.C., Killcross, S., Hambly, L.D., Morris, M.J., Westbrook, R.F., 2015. Impact of adolescent sucrose access on cognitive control, recognition memory, and parvalbumin immunoreactivity. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 22, 215–224. doi:10.1101/lm.038000.114
- Rubinow, M.J., Drogos, L.L., Juraska, J.M., 2009. Age-related dendritic hypertrophy and sexual dimorphism in rat basolateral amygdala. *Neurobiol. Aging* 30, 137–146. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.05.006
- Ryan, S.J., Ehrlich, D.E., Rainnie, D.G., 2016. Morphology and dendritic maturation of developing principal neurons in the rat basolateral amygdala. *Brain Struct. Funct.* 221, 839–854. doi:10.1007/s00429-014-0939-x
- Sandoval-Salazar, C., Ramírez-Emiliano, J., Trejo-Bahena, A., Oviedo-Solís, C.I., Solís-Ortiz, M.S., 2016. A high-fat diet decreases GABA concentration in the frontal cortex and hippocampus of rats. *Biol. Res.* 49. doi:10.1186/s40659-016-0075-6

- Sasaki, A., de Vega, W., Sivanathan, S., St-Cyr, S., McGowan, P.O., 2014. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. *Neuroscience* 272, 92–101. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.04.012
- Sasaki, A., de Vega, W.C., St-Cyr, S., Pan, P., McGowan, P.O., 2013. Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. *Neuroscience* 240, 1–12. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.02.044
- Sevelinges, Y., Desgranges, B., Ferreira, G., 2009. The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 16, 235–242. doi:10.1101/lm.1247609
- Sohya, K., Kitamura, A., Akaneya, Y., 2007. Chronic membrane depolarization-induced morphological alteration of developing neurons. *Neuroscience* 145, 232–240. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.11.045
- Stranahan, A.M., Norman, E.D., Lee, K., Cutler, R.G., Telljohann, R., Egan, J.M., Mattson, M.P., 2008. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus* 18, 1085–1088. doi:10.1002/hipo.20470
- Tanda, R., Salsberry, P.J., Reagan, P.B., Fang, M.Z., 2013. The impact of prepregnancy obesity on children’s cognitive test scores. *Matern. Child Health J.* 17, 222–229. doi:10.1007/s10995-012-0964-4
- Touzani, K., Sclafani, A., 2005. Critical role of amygdala in flavor but not taste preference learning in rats. *Eur. J. Neurosci.* 22, 1767–1774. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04360.x
- Tozuka, Y., Kumon, M., Wada, E., Onodera, M., Mochizuki, H., Wada, K., 2010. Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. *Neurochem. Int.* 57, 235–247. doi:10.1016/j.neuint.2010.05.015
- Valladolid-Acebes, I., Fole, A., Martín, M., Morales, L., Cano, M.V., Ruiz-Gayo, M., Del Olmo, N., 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.* 106, 18–25. doi:10.1016/j.nlm.2013.06.012
- Wearne, S.L., Rodriguez, A., Ehlenberger, D.B., Rocher, A.B., Henderson, S.C., Hof, P.R., 2005. New techniques for imaging, digitization and analysis of three-dimensional neural morphology on multiple scales. *Neuroscience* 136, 661–680.
- Yang, Y., Wang, X., Frerking, M., Zhou, Q., 2008. Spine expansion and stabilization associated with long-term potentiation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 5740–5751. doi:10.1523/JNEUROSCI.3998-07.2008

**Chapitre 2 : Impact de la consommation d'un régime
HL à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques
et mécanismes impliqués**

Adolescent high-fat diet intake impairs recognition memory consolidation through hippocampal endocannabinoid system

Yottana Janthakhin^{1,2,a}, José F. Oliveira da Cruz^{2,3,a}, Arnau Busquets-Garcia^{2,3}, Serge Alfos^{1,2}, Jean-Christophe Helbling^{1,2}, Isabelle Matias^{2,3}, Giovanni Marsicano^{2,3}, and Guillaume Ferreira^{1,2,*,#}

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

²University of Bordeaux, France,

³INSERM, U1215 NeuroCentre Magendie, Bordeaux, France.

^a These authors contributed equally

* These authors share senior authorship

Correspondence to Guillaume Ferreira

guillaume.ferreira@bordeaux.inra.fr

ABSTRACT

Obesity is associated with adverse cognitive outcomes. Its growing prevalence during adolescence is alarming since it is a period of neurocognitive shaping. In rodent models, it was recently shown that adolescence is particularly vulnerable to the effect of high-fat diet (HFD)-induced obesity leading to altered glucocorticoid system and impaired non-aversive memory. However, the mechanisms underlying these cognitive deficits remain elusive. The endocannabinoid (eCB) system is modified by HFD and was recently considered as primary route mediating the effects of glucocorticoids. We therefore assessed in mice whether the effects of adolescent HFD consumption on memory function are dependent on eCB system. We first show that adolescent HFD consumption impaired long-term, but not short-term, object recognition memory in training condition inducing high circulating corticosterone and enhanced hippocampal eCB levels (anandamide in particular) in HFD-fed mice. Systemic post-training blockade of glucocorticoid receptors (GR) or cannabinoid receptors type 1 (CB1R) prevented HFD-induced memory deficits and normalized c-Fos over-activation in HFD group specifically in hippocampus. Indeed, hippocampal CB1R deletion fully rescued memory in HFD-fed mice and we identified *in vivo* hippocampal synaptic plasticity as a mechanism impaired by HFD after training through CB1R activation. Finally, chemogenetic inhibition of hippocampal glutamatergic cells improved memory in HFD group similarly to CB1R deletion or blockade suggesting CB1R-dependent activation/disinhibition of these neurons in HFD-fed mice. Together these results support the conclusion that high-fat diet consumption during adolescence alters the hippocampal eCB system leading to impairment of hippocampal synaptic plasticity and deficit in memory consolidation.

Keywords: obesity, high-fat, adolescence, endocannabinoids, glucocorticoids, memory, consolidation, hippocampus, plasticity, mice

INTRODUCTION

Obesity has doubled worldwide in the last thirty years, becoming pandemic. The major causes are an imbalanced caloric intake with consumption of energy-dense food, such as a high-fat diet (HFD), and a reduced physical activity (Ervin and Ogden, 2013). In addition to cardiovascular diseases and diabetes, obesity is associated with cognitive impairment. Clinical and experimental studies indicate that learning and memory functions that depend on the integrity of the hippocampus is particularly compromised in obese subjects (for reviews: (Francis and Stevenson, 2013; Gómez-Pinilla, 2008; Kanoski and Davidson, 2011). The prevalence of obesity during adolescence is also growing at an alarming rate (Hedley *et al*, 2004) and this is particularly worrisome since it is a period of neurocognitive shaping required for life (Spear, 2000) that is particularly sensitive to environmental challenges (Andersen, 2003). We and others recently demonstrated in animal models that HFD consumption during adolescence has a more drastic impact on memory than similar exposure at adulthood suggesting it is indeed a vulnerable period to HFD effect on memory (for reviews: (Noble and Kanoski, 2016; Reichelt, 2016). In particular we showed that 8-12 weeks of HFD intake during adolescence, but not at adulthood, impaired hippocampal-dependent memories (Boitard *et al*, 2012, 2014) and enhanced amygdala-dependent aversive memories and amygdala plasticity (Boitard *et al*, 2015). This memory enhancement involved alteration of the glucocorticoid (GC) system leading to protracted GC release after stressful events (Boitard *et al*, 2015). There is also evidence in a genetic mouse model of obesity that GC, and their receptors (GR) in hippocampus, played an important role in obesity-induced memory impairment (Stranahan *et al*, 2008; Wosiski-Kuhn *et al*, 2014). Indeed if stress and GC contribute to memorizing important life events (McGaugh, 2000), they can also impair memory (Lupien *et al*, 2007). However, the cellular mechanisms underlying the memory impairment induced by HFD consumption remain unclear.

Stress and GC quickly modify the endocannabinoid (eCB) system in the brain making this system a rapid mediator of responses to stress and GC, in particular in structures such as hippocampus and amygdala (Atsak *et al*, 2012; Busquets-Garcia *et al*, 2016; Hill *et al*, 2010a; Morena *et al*, 2014; Wang *et al*, 2012). The main eCBs expressed in the brain are anandamide (AEA) and 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) and they represent primarily ligands of the cannabinoid receptor subtype 1 (CB₁R) which is highly expressed in the brain (Katona *et al*, 1999; Kawamura *et al*, 2006; Marsicano

and Lutz, 1999; Tsou *et al*, 1999). AEA and 2-AG are short-lived retrograde messengers synthesized on demand and released from postsynaptic neurons (Piomelli, 2003). They bind to CB₁R at presynaptic sites to negatively control neurotransmitter release (Kano *et al*, 2009). Interestingly, there are ample evidences now indicating that eCBs regulate stress and GC effects on memory, as for instance blockade of CB₁R prevents GC-induced memory modulation (Atsak *et al*, 2012, 2015, Campolongo *et al*, 2009, 2012, 2013; Morena *et al*, 2016; de Oliveira Alvares *et al*, 2006, 2010).

Moreover, it is well known that the eCB system is overactive in obesity in all brain and peripheral organs involved in the control of energy balance such as the hypothalamus (for review: (Di Marzo, 2008). More recently it was shown that the eCB is also overactive in hippocampus after HFD-induced obesity suggesting this could influence cognitive processes (Massa *et al*, 2010; Rivera *et al*, 2013). However, there is no data about the role played by eCBs in HFD-induced memory alterations.

Therefore, according to the close interaction between GC and eCB systems during memory processes in lean animals (Atsak *et al*, 2012, 2015, Campolongo *et al*, 2009, 2012, 2013; Morena *et al*, 2016; de Oliveira Alvares *et al*, 2006, 2010) and the fact the dysregulation of GC participates in obesity-induced memory changes (Boitard *et al*, 2015; Wosiski-Kuhn *et al*, 2014), we further investigated whether the eCB system could contribute to non-aversive memory impairment induced by adolescent HFD consumption. For this purpose we used a simple non-aversive task, the object recognition memory (ORM) task, for which stress/emotional arousal during training can be easily manipulate using context novelty (Okuda *et al*, 2004; Roozendaal *et al*, 2006).

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Procedures were performed in accordance with French (Directive 87/148, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) and international (Directive 86/609; November 24, 1986; European Community) legislation and were approved by the local ethical committee (agreement number 5012047-A). All experiments were performed during the first part of the light phase (from 9am to 1pm).

Animals and Diets

Male wild-type C57BL/6N mice (Janvier, France) or male CB1R-floxed mice (obtained, maintained and genotyped as described in Marsicano et al., 2003; Monory et al., 2006) aged 3 weeks at arrival were housed in groups of 8 individuals per cage in a climatized room ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) maintained under a 12 h light/dark cycle (lights on at 8:00 A.M., lights off at 8:00 P.M.). Food provided since their arrival was either standard laboratory chow, control diet (CD; A04 SAFE, Augy, France; offering 2.9 kcal/g consisting of 60% carbohydrate mostly from starch, and 3% fat), or HFD [D12451, Research Diets, New Brunswick, NJ; offering 4.7 kcal/g consisting of 24% fat (45% kcal), mostly saturated fat from lard, and 41% carbohydrate (35% kcal), with half coming from sucrose]. Mice had *ad libitum* access to water and food (either CD or HFD) during 12 weeks before starting the experiments. All the mice were regularly weighed from weaning until sacrifice and EchoMRI was used in a subset of mice (CD: n= 30; HFD: n= 29) to measure fat mass before sacrifice.

Drugs

The CB1R antagonist Rimonabant (0.5 and 1 mg/kg; Cayman Chemical, Michigan, USA) and the GR antagonist mifepristone (RU486, 15 mg/kg; Sigma-Aldrich) were dissolved in a mixture of 4% ethanol, 4% Cremophor-EL and 92% of saline (NaCl 0.9%). The exogenous DREADD ligand clozapine-N-oxide (CNO, 3 mg/kg; Tocris Bioscience, Bristol, UK) was dissolved in saline (NaCl 0.9%). A mixture of 4% ethanol, 4% Cremophor-EL and 92% of saline or saline alone served as vehicle injection. All drugs were injected intraperitoneally (i.p.) in a volume of 10 ml/kg.

Novel object recognition task

The experimental apparatus used for the object recognition task was an open-field box (40 cm x 40 cm) with 16 cm high walls made of gray-painted wood, placed in the

center of experimental room (light intensity of 15 Lux). The objects to be discriminated were Lego[®] brick towers, lab bottles, culture flasks or cylinders.

Mice were handled once per day for 3 consecutive days in their home-cage room before starting the experiment. They were not habituated to the experimental room and apparatus used for the object recognition task before training (Novel context condition) except some mice that were repeatedly habituated to the experimental room and the experimental apparatus before training (Familiar context condition). During this habituation, mice were allowed to freely explore the apparatus in the absence of objects 5 min per day for 6 consecutive days.

Object recognition task was performed as recently described in mice in (Leger *et al*, 2013). On the training trial, mice were placed in the experimental apparatus, facing the wall, at the opposite end from the objects. They were allowed to explore two identical objects (A1 and A2) which were placed 8 cm from the walls and ~13 cm apart until they reached a criterion of 20 seconds of exploration of both objects ((Leger *et al*, 2013)). Time spent exploring each object was recorded. A maximum cutoff of 10 minutes was established, and animals that did explore the objects for 20 seconds in 10 minutes were excluded from the analysis. Exploration time was manually quantified by a trained experimenter outside the experimental room. Exploration of an object was defined as pointing the nose to the object at a distance of <1 cm and/or touching it with the nose. Turning around or sitting on an object was not considered as exploration. A video tracking system (Smart, Panlab, Barcelona, Spain) recorded the exact track of each mouse as well as total distance travelled (cm). After training, mice were removed from the apparatus and returned to their home cage. To avoid the presence of olfactory trails, the objects and arena of open-field were roughly cleaned with 70% ethanol after each mouse.

Object recognition memory (ORM) was tested either 3 hours (short-term memory) or 24 hours (long-term memory) after the training trial. One copy of the familiar object (A3) and a new object (B) were placed in the same location as stimuli during the training trial. All combinations and locations of objects were used in a counterbalanced manner to reduce potential biases due to preference for particular location or objects. Mice were placed in the same arena and were left to explore both objects until they reached a criterion of 20 seconds ((Leger *et al*, 2013)). Time spent exploring each object was recorded and a similar cutoff of 10 min was established.

Some animals received an i.p. injection of vehicle, GR antagonist (15 mg/kg) or CB1R antagonist (0.5 or 1 mg/kg) immediately after ORM training in Novel context condition and were tested 24 hours later.

Plasma corticosterone measurement

Blood was quickly collected from the facial vein at the beginning of the inactive phase (9:00-12:00a.m.) either from home-cage animals, to obtain basal corticosterone level, or 45 minutes after ORM training (8 minutes) in Novel context or Familiar context conditions. Blood was quickly collected into microtubes containing 10% EDTA. The blood was centrifuged at 10000 rpm for 10 min to obtain plasma samples. After absolute ethanol steroid extraction from plasma samples, total corticosterone was measured by competition between cold corticosterone and 3H-labeled corticosterone for a specific anti-corticosterone antibody provided by Dr. H Vaudry (University of Rouen, France). Sensitivity of the technique was 0.3 µg/dl with 10% variability intra- and inter-assay (described in Richard et al., 2010).

Hippocampal endocannabinoid quantification

Two cohorts of mice were used for the measurement of eCB levels in the hippocampal tissue at different time points after ORM training for both CD and HFD groups. Hippocampal tissues were rapidly isolated, weighed and frozen immediately (first cohort), 30 minutes and 60 minutes (second cohort) after ORM training (8 minutes) in Novel context condition. The training duration was similar for all mice in order to standardize environmental stimulations and to give sufficient time to investigate both objects for at least 20 seconds. Home-cage mice from CD and HFD groups were added to each cohort.

The extraction and quantification of the main eCB, N-arachidonoyl ethanolamine (anandamide; AEA) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG), from hippocampus were performed as described previously (Dubreucq *et al*, 2012). First, for each mouse, both hippocampi were homogenized and lipids extracted with chloroform /methanol /Tris-HCl 50 mM pH 7.5 (2: 1: 1, v/v) containing internal deuterated standards. Samples were then analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Mass spectral analyses were performed on a TSQ Quantum triple quadrupole instrument (Thermo-Finnigan, San Jose, CA, USA) equipped with an atmospheric pressure chemical ionization source and operating in positive ion mode.

A sensitive and specific LC-MS/MS method was developed and validated for AEA and 2-AG, the quantification of which was achieved by isotope dilution using a calibration curve. AEA and 2-AG levels after ORM training were expressed as % of their internal home-cage control as recently reported (Busquets-Garcia *et al*, 2016).

Brain imaging

C-Fos immunoreactivity. Mice were given injections of a lethal dose of pentobarbital sodium (1 ml, i.p.) 90 minutes after ORM training (8 minutes) in Novel context condition immediately followed by i.p. injection of vehicle, GR antagonist (15 mg/kg) or CB1R antagonist (1 mg/kg). They were then quickly perfused with 4% paraformaldehyde (PFA) in PBS. Brain were removed and stored at 4°C in 4% PFA for 24 h to allow postfixation. The next day, they were submerged in 30% sucrose solution at 4°C for 48 h to allow cryoprotection. Finally, brains were stored at -80°C. For c-Fos immunoreactivity, coronal sections of 40 µm were incubated in PBS containing 3% bovine serum albumin (BSA) and 0.3% Triton 100X (blocking buffer) to block nonspecific binding sites and to facilitate antibody penetration. The sections were also saturated with 0.3% hydrogen peroxide for 30 min to eliminate endogenous peroxidase. Section were then incubated with the primary anti c-Fos antibody (anti c-Fos Rabbit polyclonal antibody diluted 1: 1000 in blocking buffer; Santa Cruz Biotechnology) for 24 h at 4°C and for 2 h with the biotinylated secondary antibody (goat anti-rabbit antibody, diluted 1:1000 in PBS; Vector Laboratories) at room temperature, followed by 1 h incubation in the avidin–biotin–peroxydase complex solution (Vectastain, diluted 1:1000 in PBS; Vector Laboratories). Between each treatment, sections were thoroughly rinsed with PBS. The peroxydase complex was visualized after incubation for 9 min in a mix containing diaminobenzidine, ammonium chloride, ammonium sulfate, sodium acetate, glucose, and glucose oxydase. Sections were incubated in sodium acetate to stop the enzymatic reaction, rinsed in PBS, mounted on gelatin-coated slides, dehydrated, and coverslipped. Labeling was quantified bilaterally on three to four sections spaced 240 µm apart and chosen to cover the basolateral amygdale (BLA), the perirhinal cortex (PRH) and the different hippocampal subfield, CA1, CA3 and dentate gyrus (DG; 1.46-2.18 mm posterior to bregma according to Paxinos and Franklin, 2001). Each section was photographed using Nikon-ACT-1 software, and labeled cells were counted with

ImageJ software on a surface representing 0.57 mm². Results were expressed for mm².

In vivo recording in hippocampal CA1 region of anesthetized mice

Mice were anesthetized in a box containing 5% Isoflurane (VIRBAC, France) 15-20 minutes after being taken from home-cage or after ORM training (8 minutes in Novel context condition) immediately followed for some animals by i.p. injection of vehicle, GR antagonist (15 mg/kg) or CB1R antagonist (1 mg/kg). They were then placed in a stereotaxic frame (Model 900, Kopf instruments, CA, USA) in which 1.0% to 1.5% of Isoflurane was continuously supplied via an anesthetic mask during the complete duration of the experiment. The body temperature was maintained at ~36.5°C using a homeothermic system (model 50-7087-F, Harvard Apparatus, MA, USA) and the complete state of anesthesia was assured through a mild tail pinch. Before surgery, 100 µl of the local anesthetic lurocaine (vetoquinol, France) was injected in the scalp region. Surgical procedure started with a longitudinal incision of 1.5 cm in length aimed to expose Bregma and Lambda. After ensuring correct alignment of the head, two holes were drilled in the skull to place for electrode placement. Recordings of field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) were made from stratum radiatum in CA1 region of the right hippocampal hemisphere in response to stimulation of the Schaffer collateral /commissural pathway. A glass recording electrode, inserted in the CA1 stratum radiatum, and one concentric bipolar electrode (Model CBARC50, ME, USA) in the CA3 region using the following coordinates: 1) CA1 stratum radiatum: 1.5 mm posterior, 1.0 mm lateral and 1.20 mm below Bregma according to Paxinos and Franklin, 2001; CA3: 2.2 mm posterior, 2.8 lateral and 1.3 mm below Bregma (20° insertion angle). The recording electrode (tip diameter = 1–2 µm, 4–6 MΩ) was filled with a 2% pontamine sky blue solution in 0.5M sodium acetate. At first the recording electrode was slowly lowered by hand until it reached the surface of the brain and then to the final depth using a hydraulic micropositioner (Model 2650, KOPF instruments, CA, USA). The stimulation electrode was placed in the correct area by hand using a standard manipulator. Both electrodes were adjusted to find the area with maximum response, i.e. when the appearance of a negative deflecting fEPSP with a latency of approximately 10 ms was observed. *In vivo* recordings of evoked fEPSPs were amplified 1000 times and filtered (low-pass at 1Hz and high-pass 3000Hz) by a DAGAN 2400A amplifier (DAGAN Corporation, MN, USA). fEPSPs

were digitized and collected on-line using a laboratory interface and software (CED 1401, SPIKE 2; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Test pulses were generated through an Isolated Constant Current Stimulator (DS3, Digitimer, Hertfordshire, UK) triggered by the SPIKE 2 output sequencer via CED 1401 and collected every 2 seconds at a 10 kHz sampling frequency and then averaged every 180 seconds. Test pulse intensities were typically between 40-250 μ A with a duration of 50 μ seconds. Basal stimulation intensity was adjusted to 30-50% of the current intensity that evoked a maximum field response. All responses were expressed as percent from the average responses recorded during the 15 minutes before high frequency stimulation (HFS). HFS was induced by applying 3 trains of 100 Hz (1 second each), separated by 20 seconds interval. fEPSP were then recorded for a period of 60 minutes. In the end of each experiment, the position of the electrodes was marked (recording area: iontophoretic infusion of the recording solution during 180s at -20 μ A; stimulation area: continuous current discharge over 20 seconds at +20 μ A) and histological verification was performed *ex vivo*.

Surgery and viral injection

CB1R deletion.

After 8 weeks of HFD consumption (i.e. 11 weeks-old mice), LoxP-flanked CB_1R transgenic mice (CB_1R -floxed) were anesthetized by intraperitoneal injection of a mixture of ketamine (100mg/kg, Imalgene 500®, Merial, France) and Xylazine (10mg/kg, Rompun, Bayer, France) and placed into a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, France) with mouse adaptor and lateral ear bars. Specific hippocampal deletion of the CB_1R gene were obtained by bilateral injection of adeno-associated viruses expressing the Cre recombinase (AAV-CRE and its control AAV-GFP) into the hippocampus (2 injections of 1 μ l per side). AAV vectors (2 injections of 1 μ l per side) were injected with the help of a microsyringe attached to a pump (UMP3-1, World Precision Instruments) at the following coordinates: 2 mm posterior, 1.5 mm lateral, 2 mm (1st injection) and 1.5 mm (2nd injection), below Bregma according to Paxinos and Franklin, 2001. GFP and CRE constructs were prepared as previously described (Monory et al., 2006). These AAV were of a mixed serotype AAV1/AAV2 and were generated by Calcium Phosphate transfection of HEK 293T cells and purified as described before (Monory et al., 2006). Animals remained on HFD after surgery until sacrifice. ORM training in Novel context condition with test at

24 hours was performed 5 weeks after injections in order to get an optimal CB1R deletion in hippocampus.

DREADDs experiment.

In order to inactivate hippocampal glutamatergic neurons, wild-type C57BL/6N mice under CD or HFD consumption for 8 weeks since weaning were anesthetized, placed into a stereotaxic apparatus and received bilateral injections of AAV8-CAMKII α -mcherry-hM4Di (UNC Gene Therapy Center, USA; viral titer: 3.3×10^{12}) into the hippocampus as described above. Animals remained on the same diet after surgery and were used for ORM training (in Novel context condition with test at 24 hours) 5 weeks after injections in order to get an optimal expression of the inhibitory DREADD in the hippocampus.

Immunofluorescent image acquisition.

In order to verify hippocampal GFP and mcherry expression mice were given injections of a lethal dose of pentobarbital sodium (1 ml, i.p.) and quickly perfused with 4% paraformaldehyde (PFA) in PBS as described previously. Coronal sections of 40 μ m were rinsed four times in Tris-NaCl 0.05M (30 min each rinse) to eliminate cryoprotector solution. The sections were then mounted on slides with mounting medium to preserve fluorescence-stained tissue sections (Calbiochem, Billerica, MA, USA) and coverslipped. The sections were visualized with fluorescent microscope Nikon Eclipse E400 at 10x magnification and were photographed using NIS-Element AR 3.2 software.

Statistics

Data were expressed as the mean \pm SEM, and statistical analyses were conducted using Statview software with a threshold for considering statistically significant difference being set up at $p \leq 0.05$. The results were analysed using paired or unpaired Student's t-tests or two-way ANOVA (with repeated measures when appropriate). The interactions were further investigated using *post hoc* Fisher's PLSD tests. Moreover, during ORM task, the time spent exploring each object during training or the novel object during test was compared to chance level (10 seconds) using one sample t-tests.

RESULTS

Adolescent HFD consumption enhances weight gain and fat mass.

We previously reported morphometric and metabolic changes induced by adolescent HFD consumption in mice (Boitard *et al*, 2012). Here we only verified in a subset of mice (CD: n= 30; HFD: n= 29) that HFD consumption for 12 weeks from weaning to adulthood, i.e. covering adolescence, enhanced body weight (CD: 28.0 ± 0.3 g; HFD: 32.7 ± 0.5 g; unpaired t-test: $t_{(57)}= 6.28$, $p < 0.0001$) and fat mass few days before sacrifice (CD: 3.5 ± 0.2 g; HFD: 8.3 ± 0.6 g; $t_{(57)}= 8.30$, $p < 0.0001$).

HFD-induced memory impairment depends on context novelty during training.

This experiment examined whether adolescent HFD consumption affects ORM and whether it is influenced by the context novelty during training. We first investigated the effects of HFD consumption on long-term ORM assessed 24 hours after training in mice that had no prior habituation to experimental context, i.e. Novel context condition. During training, there was no difference between CD and HFD groups in the latency to reach the 20 seconds of total exploration (CD: 383 ± 42 s; HFD: 365 ± 41 s; unpaired t-test: $t_{(20)} < 1$, $p = 0.75$) or the time spent exploring each object indicating there was no spatial bias (one sample t-test: CD: $t_{(9)} < 1$, $p = 0.41$; HFD: $t_{(11)} < 1$, $p = 0.86$). During the test performed 24 hours later, CD group spent more time exploring the novel object than of the familiar one whereas HFD group did not (one sample t-test: CD: $t_{(9)} = 2.60$, $p = 0.03$; HFD: $t_{(11)} < 1$, $p = 0.88$; Figure 1A). Moreover, HFD group was faster than CD group to reach the 20 seconds criterion during the test trial (CD: 375 ± 29 s; HFD: 236 ± 26 s; $t_{(20)} = 3.56$, $p = 0.002$).

We next evaluated whether short-term ORM was also affected in mice trained in Novel context condition. During training, there was no difference between groups in the latency to reach the 20 seconds of total exploration (CD: 330 ± 36 s; HFD: 310 ± 42 s; $t_{(19)} < 1$, $p = 0.73$) or the time spent exploring each object (one sample t-test: CD: $t_{(9)} = 1.56$, $p = 0.15$; HFD: $t_{(10)} = 1.40$, $p = 0.19$). During the test performed 3 hours later, both CD and HFD groups spent more time exploring the novel object (one sample t-test: CD: $t_{(9)} = 5.95$, $p = 0.0002$; HFD: $t_{(10)} = 4.40$, $p = 0.0013$; Figure 1B) and the latency to reach the criterion did not differ between groups (CD: 363 ± 31 s; HFD: 312 ± 44 s; $t_{(19)} < 1$, $p = 0.36$). These findings indicate that adolescent HFD

consumption impairs long-term but not short-term ORM suggesting a specific impairment of ORM consolidation in Novel context condition.

Interestingly, it has been shown in lean animals that the modulating effects of GC on ORM consolidation depends on context novelty stress during training (Okuda *et al*, 2004; Roozendaal *et al*, 2006). HFD-induced ORM impairment could thus be directly related to the novelty stress during training. To evaluate this, we evaluated long-term ORM in mice extensively habituated to the context (experimental room and apparatus without objects) before training. ANOVA with repeated measures revealed a significant decrease of travelled distance over 6 days of habituation (time effect: $F_{(5,100)} = 19.1$, $p < 0.0001$) that was not different between groups (time X diet effect: $F_{(5,100)} < 1$, $p = 0.65$) indicating that both groups were habituated to the context. During training, HFD group was faster than CD group to reach the 20 seconds criterion (CD: 270 ± 25 s; HFD: 195 ± 25 s; $t_{(20)} = 2.04$, $p = 0.05$) there was no difference between CD and HFD groups in the time spent exploring each object (one sample t-test: CD: $t_{(8)} < 1$, $p = 0.43$; HFD: $t_{(12)} = 1.77$, $p = 0.10$). During the test at 24 hours, both groups spent more time exploring the novel object (one sample t-test: CD: $t_{(8)} = 2.82$, $p = 0.02$; HFD: $t_{(12)} = 5.00$, $p = 0.0003$; Figure 1C) and again HFD group was faster than CD group to reach the criterion during the test (CD: 323 ± 38 s; HFD: 142 ± 15 s; $t_{(20)} = 5.05$, $p < 0.0001$). This indicates that extensive habituation to the experimental context prior to training prevented the detrimental effects of adolescent HFD intake on long-term ORM.

HFD-induced enhancement of glucocorticoid release after training in novel context is prevented by extensive habituation.

We then wonder whether the differential effect of HFD on long-term ORM in novel and familiar context could be related to GC release after training in these different experimental conditions. Adolescent HFD consumption did not affect basal level of plasma corticosterone ($t_{(38)} < 1$, $p = 0.25$). However, the increase of corticosterone level 45 min after ORM training depends on the diet and the familiarity of the experimental context as indicated a significant interaction (diet X habituation effect: $F_{(1,36)} = 8.02$, $p = 0.0075$). Post hoc analysis revealed that in Novel context condition, HFD group showed a higher level of corticosterone compared to that of CD group ($p < 0.0001$; Figure 1D) whereas the level of corticosterone did not differ between groups after habituation, i.e. Familiar context condition ($p = 0.16$; Figure 1D). These results

indicate that HFD-induced ORM impairment in novel context is associated with higher GC release after training. In contrast, extensive habituation to the context prior to training normalized GC levels and prevented HFD-induced ORM impairment.

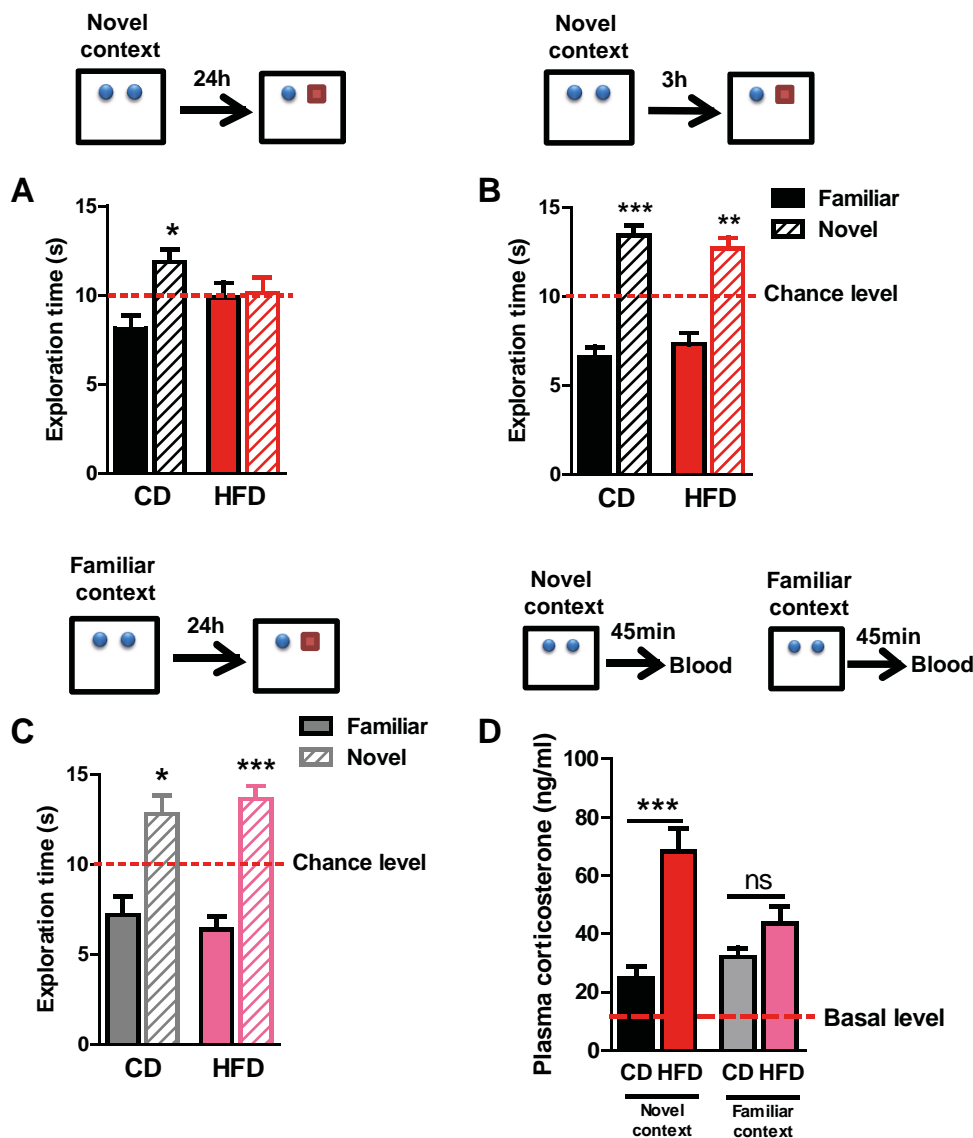


Figure 1. HFD exposure impairs consolidation of object recognition memory in condition of high circulating corticosterone after training. HFD exposure impairs long-term (A; CD: n= 10; HFD: n= 12) but not short-term (B; CD: n= 10; HFD: n= 11) object recognition memory in Novel context condition associated with high plasma corticosterone levels (D; CD: n= 10; HFD: n= 10). Extensive habituation to the context prior to training normalizes plasma corticosterone levels (D; CD: n= 10; HFD: n= 10) and prevents HFD-induced impairment of long-term object recognition memory (C; CD: n= 9; HFD: n= 13). *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 (A-C: one-sample t-test; D: *post hoc* Fisher test).

HFD intake enhances hippocampal endocannabinoid levels after training.

As GC rapidly alter eCB signaling in the brain and particularly in the hippocampus (Atsak *et al*, 2012; Hill *et al*, 2010b), we investigated whether ORM training in Novel context condition affects hippocampal eCB levels at different time points after training

and whether it is modulated by the diet. In home-cage animals hippocampal levels of eCBs did not differ between groups (AEA: CD: 33.8 ± 1.5 pmol/g; HFD: 32.5 ± 2.1 pmol/g; 2-AG: CD: 9.9 ± 0.7 nmol/g; HFD: 11.1 ± 0.8 nmol/g; $t_{(42)} < 1$, $p > 0.2$).

After training, the hippocampal AEA content immediately post training was decreased in HFD group, but not in CD group, compared to their home-cage levels (one-sample t-test: HFD: $t_{(11)} = 3.34$, $p = 0.0066$; CD: $t_{(11)} < 1$, $p = 0.56$) whereas it was greatly increase in both groups 30 and 60 minutes after training ($p < 0.0001$ for each comparison; Figure 4A). Two-way ANOVA revealed significant time effect ($F_{(2,78)} = 93.78$, $p < 0.0001$), diet effect ($F_{(1,78)} = 6.12$, $p = 0.015$) and more importantly diet X time effect ($F_{(2,78)} = 3.73$, $p = 0.028$). *Post hoc* analysis indicated that the AEA level was higher in HFD group than in CD group 30 minutes after training ($p = 0.0012$) and tended to be higher 60 minutes after training ($p = 0.08$; Figure 2A). Regarding hippocampal 2-AG content, there was no significant difference between groups (diet effect: $F_{(1,77)} < 1$, $p = 0.76$; time effect: $F_{(2,77)} = 1.48$, $p = 0.23$; diet X time interaction: $F_{(2,77)} < 1$, $p = 0.95$) indicating that neither training nor diet influenced hippocampal 2-AG levels (Figure 2B). Altogether, these results indicate that HFD potentiates training-induced enhancement of AEA levels.

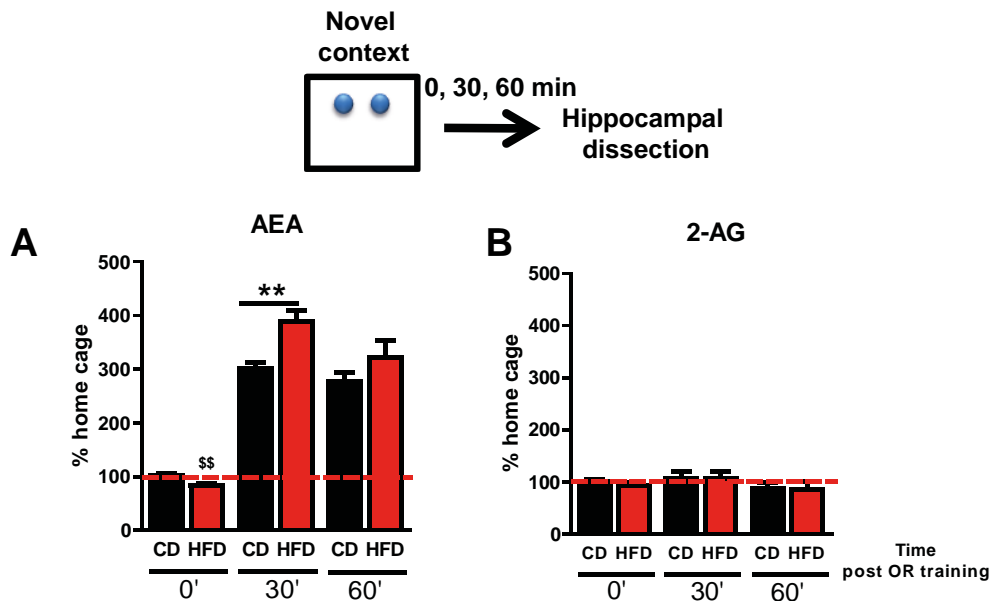


Figure 2. Adolescent HFD intake enhances hippocampal anandamide, but not 2-AG, levels after training. Object recognition training increases AEA but not 2-AG in the hippocampus and this enhancement was stronger in HFD groups ($n = 12-16$ per group). \$\$ < 0.01 (one-sample t-test), ** $p < 0.01$ (*post hoc* Fisher test)

Blockade of GR and CB₁R improves HFD-induced impairment of object recognition memory.

We then wondered whether post-training blockade of GR or CB1R could alleviate HFD-induced ORM deficit in Novel context condition.

During training, there was no interaction between diet and treatment for the latency to reach the criterion ($F_{(1,101)} = 1.81$, $p = 0.18$; mean \pm SEM for all groups: 232 ± 9 s) or the time spent exploring each object (one sample t-test: $p > 0.09$ for all groups). During the test performed 24 hours after training and treatment, there was again no interaction between diet and treatment for the latency to reach the criterion ($F_{(1,101)} < 1$, $p = 0.97$; mean \pm SEM for all groups: 248 ± 14 s). As expected CD-vehicle showed preference for the novel object whereas HFD-vehicle did not (one-sample t test: CD-vehicle: $t_{(13)} = 3.47$, $p = 0.0041$; HFD-vehicle: $t_{(12)} < 1$, $p = 0.94$; Figure 3A). In CD groups, GR antagonist and the low dose of CB₁R antagonist (0.5 mg/kg) did not affect ORM but the higher dose of Rimonabant (1 mg/kg) impaired it (CD-RU: $t_{(11)} = 3.94$, $p = 0.0023$; CD-Rim0.5: $t_{(19)} = 2.48$, $p = 0.02$; CD-Rim1: $t_{(10)} < 1$, $p = 0.42$; Figure 2A). In HFD groups, the low dose of CB₁R antagonist did not improve ORM but the GR antagonist and the higher dose of CB₁R antagonist rescued ORM performance (HF-RU: $t_{(9)} = 3.29$, $p = 0.0094$; HFD-Rim0.5: $t_{(10)} < 1$, $p = 0.93$; HFD-Rim1: $t_{(13)} = 2.97$, $p = 0.01$; Figure 3A). These results indicate that blockade of GR or CB₁R immediately after training prevented HFD-induced ORM impairment.

Blockade of GR or CB₁R normalizes training-induced hippocampal over-activation in HFD-fed mice.

In order to identify which brain structure(s) could be involved in the beneficial effect of GR or CB1R blockade, we used c-Fos as a marker of neuronal activity in CD and HFD-fed mice 90 minutes after training in Novel context condition. We focused on the basolateral amygdala (BLA), the perirhinal cortex (PRH) and the different subfield of the hippocampus (DG, CA1 and CA3). In home-cage animals and mice trained in Familiar context condition, there was low c-Fos expression in all these structures and more importantly no difference between CD and HFD groups (data not shown).

After training in Novel context condition, two-way ANOVA for c-Fos immunoreactivity revealed a significant diet X treatment effect in the CA3 ($F_{(1,44)} = 9.09$, $p = 0.0043$; diet effect: $F_{(1,44)} < 1$, $p = 0.48$; treatment effect: $F_{(1,44)} = 1.19$, $p = 0.28$). *Post hoc* analysis indicated that CD-Rim group and HFD-vehicle group showed a higher number of Fos+ cells than the four other groups ($p < 0.05$; Figure 3B) which did not differ from each other ($p > 0.4$). A trend toward a diet X treatment effect was revealed in the

perirhinal cortex ($F_{(1,42)} = 3.64$, $p = 0.06$; diet effect: $F_{(1,42)} = 1.52$, $p = 0.22$; treatment effect: $F_{(1,42)} < 1$, $p = 0.70$) which was due to a tendency for a higher number of Fos+ cells in HFD-vehicle group than CD-vehicle group ($p = 0.068$; data not shown).

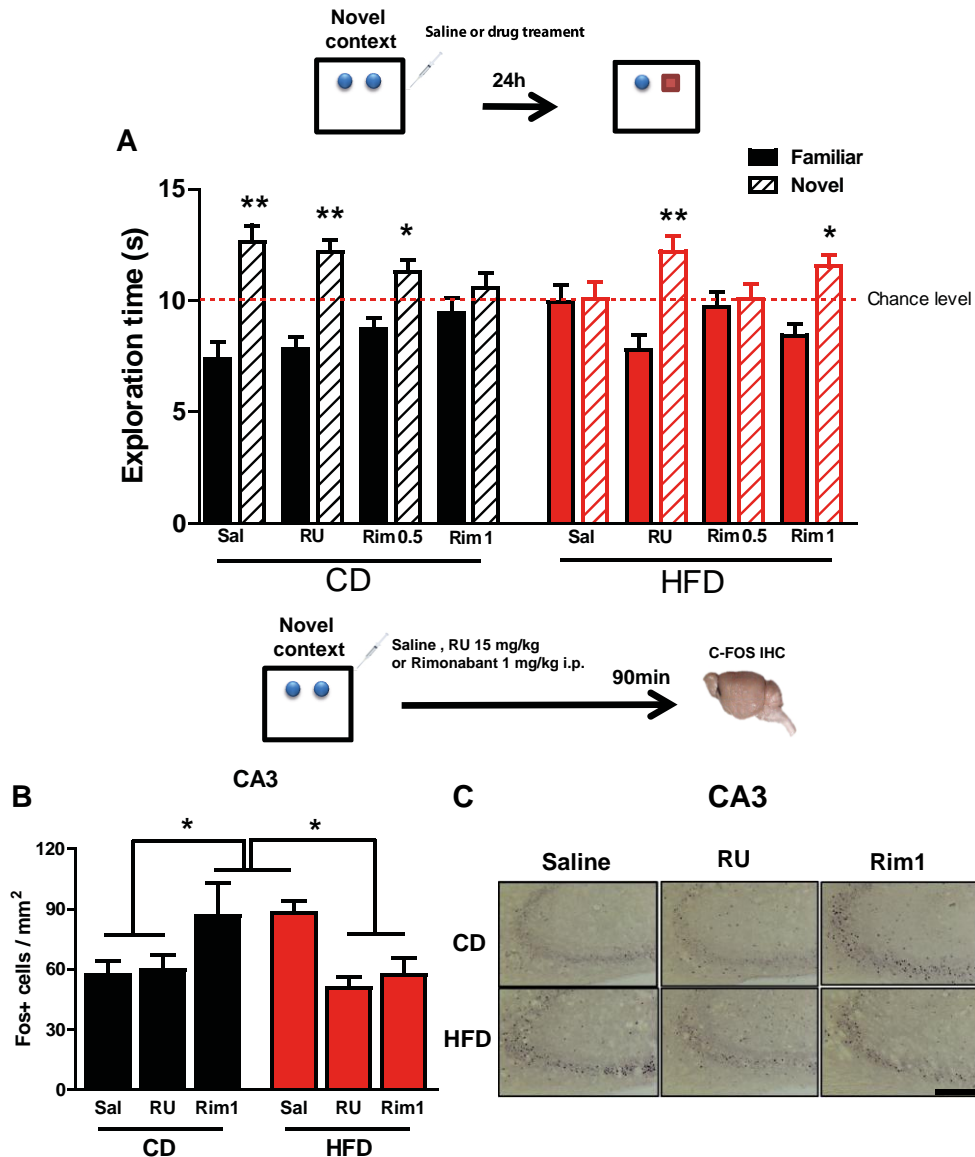


Figure 3. GR and CB₁R blockade prevents HFD-induced recognition memory impairment and c-Fos over-activation after training. Systemic blockade of GR (RU 15 mg/kg) and CB₁R (Rimonabant; Rim0.5: 0.5 mg/kg, Rim1: 1 mg/kg) prevents HFD-induced impairment of long-term object recognition memory assessed 24h after training (A; n = 10-20 per group). In hippocampal CA3, systemic GR and CB₁ blockade normalizes the higher c-Fos expression of HFD group (B; n = 7-8 per group). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (A: one-sample t-test; F: *post hoc* Fisher test).

Moreover, there was no significant diet X treatment effect in the BLA ($F_{(1,43)} = 2.65$, $p = 0.11$), the DG ($F_{(1,43)} = 1.06$, $p = 0.31$) and the CA1 ($F_{(1,44)} = 2.01$, $p = 0.16$). Therefore, GR or CB₁R blockade normalizes training-induced c-Fos over-expression in CA3 in

HFD-fed mice. On the contrary, in CD group, CB1R blockade after training enhanced c-Fos activation in the CA3 which paralleled their ORM impairment.

Hippocampal CB₁R deletion improves long-term ORM in HFD-fed mice.

We then evaluated the specific role of hippocampal CB1R in HFD-induced ORM impairment. We virally infused the Cre recombinase (AAV-CRE) in hippocampus of HFD-fed CB₁R floxed mice to locally delete the expression of CB₁R. GFP-expressing adeno-associated virus was injected in the hippocampus of other CB1R floxed mice fed HFD (AAV-GFP; Figure 4A). During training, there was no difference in the latency to reach the criterion (HFD-GFP: 314 ± 45 s; HFD-CRE: 299 ± 54.9 s, unpaired t-test, $t_{(18)} < 1$, $p = 0.84$) or the time spent exploring each object (HFD-GFP: $t_{(9)} < 1$, $p = 0.69$; HFD-CRE: $t_{(9)} < 1$, $p = 0.96$). During the test performed 24 hours later, there was no difference for the latency to reach the criterion (HFD-GFP: 276 ± 30 s; HFD-CRE: 324 ± 32 s; $t_{(18)} = 1.08$, $p = 0.29$). HFD-GFP group did not show ORM (one-sample t-test: $t_{(9)} < 1$, $p = 0.87$) but HFD-CRE group exhibited a clear preference for the novel object ($t_{(9)} = 2.91$, $p = 0.017$; Figure 4B). This finding indicates that specific deletion of hippocampal CB₁R prevents ORM deficit in HFD-fed mice.

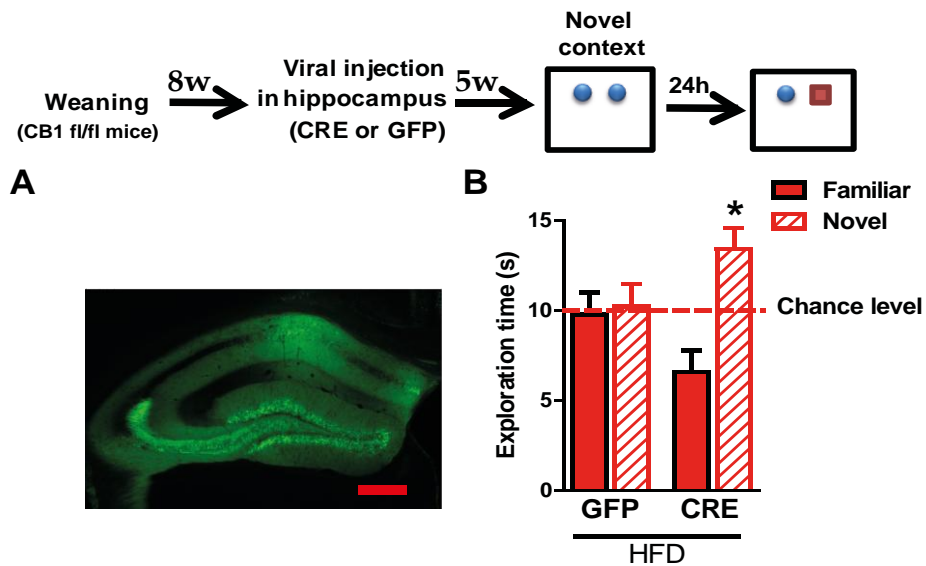


Figure 4. Deletion of hippocampal CB₁R improves long-term object recognition memory in HFD-fed mice. GFP immunofluorescence in the hippocampus of HFD-fed CB₁R floxed mice injected with AAV-GFP (A; scale bar represents 250 μm). Specific deletion of hippocampal CB₁R (CRE) prevents HFD-induced recognition memory deficit (B; n = 10 mice per group). * $p < 0.05$ (one-sample t-test).

Blockade of CB₁R normalizes the effect of training on *in vivo* hippocampal synaptic plasticity.

Synaptic plasticity and in particular long-term potentiation is proposed as a cellular model of long-term memory in the hippocampus (Malenka and Nicoll, 1999; Martin *et al*, 2000). We thus wondered whether HFD consumption since weaning altered *in vivo* LTP in the CA1 through CB1R activation.

We first investigated HFD effects on hippocampal LTP in home cage animals. Baseline amplitude before high-frequency stimulation (HFS) did not differ between groups ($t_{(13)} = 1.20$, $p = 0.25$). Two-way ANOVA with repeated measures on the post-stimulation recording showed a significant time effect ($F_{(19,247)} = 2.75$, $p = 0.0002$) but no effect of diet ($F_{(1,13)} < 1$, $p = 0.80$) or diet X time interaction ($F_{(19,247)} < 1$, $p = 0.99$; Figure 5A). One sample t-test for the levels of potentiation 1 hour after HFS revealed that both groups showed LTP when comparing to the baseline level (paired t-test: CD: $t_{(8)} = 4.11$, $p = 0.003$; HFD: $t_{(5)} = 3.19$, $p = 0.02$) which did not differ (unpaired t-test, $t_{(13)} < 1$, $p = 0.98$; Figure 5D). These results indicate that adolescent HFD consumption does not affect CA1 LTP in home-cage mice.

Because LTP can be affected by exposure to novel objects (Clarke *et al*, 2010) or novel context (Motanis and Maroun, 2010; Sacchetti *et al*, 2002), we then investigated the impact of object recognition training in Novel context condition on LTP in CD and HFD groups. Baseline amplitude before HFS did not differ between groups ($t_{(9)} < 1$, $p = 0.79$). Post-stimulation recording showed a significant effect of time ($F_{(18,162)} = 3.32$, $p < 0.0001$) but more importantly an almost significant effect of diet ($F_{(1,9)} = 4.60$, $p = 0.6$) without significant diet X time interaction ($F_{(18,162)} < 1$, $p = 0.92$; Figure 5B). The levels of potentiation 1 hour after HFS revealed LTP occlusion in trained CD-fed mice ($t_{(5)} < 1$, $p = 0.85$) whereas HFD-fed mice still exhibited LTP ($t_{(4)} = 2.88$, $p = 0.04$; Figure 5D) but only a trend toward a significant group effect was detected ($t_{(9)} < 1$, $p = 0.09$; Figure 5D). Therefore training exposure impairs LTP maintenance in CD group but not in HFD group. This suggests that training triggered hippocampal plasticity able to interfere with HFS-induced LTP only in CD group.

Finally, we wondered whether CB₁R blockade after training could improve training-induced plasticity in HFD-fed mice and consequently occlude LTP. The treatment did not affect baseline amplitude before HFS ($t_{(13)} = 1.26$, $p = 0.22$). Post-stimulation recording showed a significant effect of time ($F_{(18,234)} = 3.32$, $p < 0.0001$) but more importantly of treatment ($F_{(1,13)} = 7.70$, $p = 0.015$) without treatment X time interaction ($F_{(18,234)} < 1$, $p = 0.92$; Figure 5C). The levels of potentiation 1 hour after HFS revealed that HFD-fed mice treated with vehicle still had LTP ($t_{(9)} = 3.79$, $p = 0.004$) whereas

LTP was completely occluded in HFD-fed mice receiving CB₁R antagonist after training ($t_{(4)} < 1$, $p = 0.85$; Figure 5D) with a significant difference between groups ($t_{(13)} = 2.48$, $p = 0.027$; Figure 5D). Post-training injection of CB₁R antagonist improves training-induced plasticity in HFD-fed mice indicating that CB₁R activation impairs hippocampal plasticity induced by training which is not able to interfere with HFS-induced LTP.

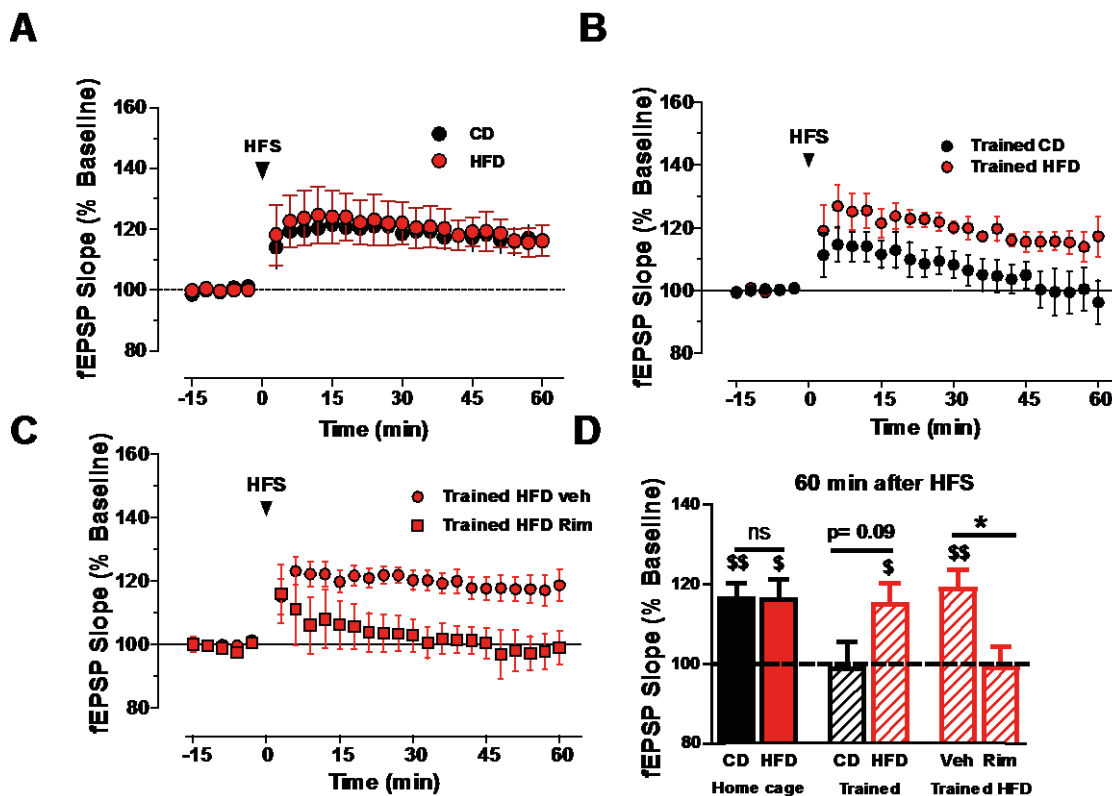


Figure 5. Adolescent HFD consumption blocks training-induced changes of *in vivo* long-term potentiation in hippocampus through CB₁R activation. Adolescent HFD consumption does not affect hippocampal long-term potentiation (LTP) *in vivo* in home-cage animals (A; CD: $n = 9$; HFD: $n = 6$). LTP maintenance is completely abolished in CD group, but not HFD group, after training (B; CD: $n = 6$; HFD: $n = 5$). Post-training injections of CB₁R antagonist (Rimonabant 1 mg/kg) restores training-induced occlusion of LTP maintenance in HFD-fed mice (C; HFD-vehicle: $n = 10$; HFD-Rim: $n = 5$). All groups present high levels of potentiation 1 hour after induction except CD trained mice and HFD trained mice treated with CB₁R antagonist (D). $^{\$}p < 0.05$ (paired t-test vs baseline) $^*p < 0.05$ (unpaired t-test)

Inactivation of hippocampal glutamatergic neurons prevents long-term ORM deficit in HFD-fed mice.

CB₁R in the hippocampus are largely expressed in GABAergic neurons, where they negatively control inhibitory neurotransmission (Chevalleyre *et al*, 2006). Higher hippocampal AEA levels after training in HFD-fed mice would therefore mainly disinhibit glutamatergic neurons which could explain training-induced hippocampal

over-activation in these mice. We therefore evaluated whether inhibition of hippocampal glutamatergic cells had a beneficial impact on ORM in HFD group. For this we used inhibitory DREADD targeting excitatory glutamatergic neurons thanks to CamKII promoter (Figure 6A). Systemic administration of the DREADD ligand CNO before training did not affect the latency to reach the criterion (mean \pm SEM for all groups: 307 ± 18 s; diet X treatment effect: $F_{(1,33)} < 1$, $p = 0.89$) or the time spent exploring each object (one sample t-test: $p > 0.23$ for all groups). During the test performed 24 hours after training and treatment, there was no difference between groups in the latency to reach the criterion (mean \pm SEM: 311 ± 21 s; diet X treatment effect: $F_{(1,33)} < 1$, $p = 0.35$). As expected, CD-saline showed preference for the novel object whereas HFD-saline did not (one-sample t-test: CD-saline: $t_{(9)} = 3.46$, $p = 0.0072$; HFD-saline: $t_{(8)} < 1$, $p = 0.46$; Figure 6B). CNO injection prior to training rescued preference for the novel object in HFD-fed mice whereas it slightly impaired ORM in CD-fed animals (CD-CNO: $t_{(8)} = 1.65$ $p = 0.14$; HFD-CNO: $t_{(8)} = 2.97$, $p = 0.018$; Figure 6B). This result indicates that temporally inactivation of glutamatergic neurons in the hippocampus prevents HFD-induced ORM impairment in HFD group.

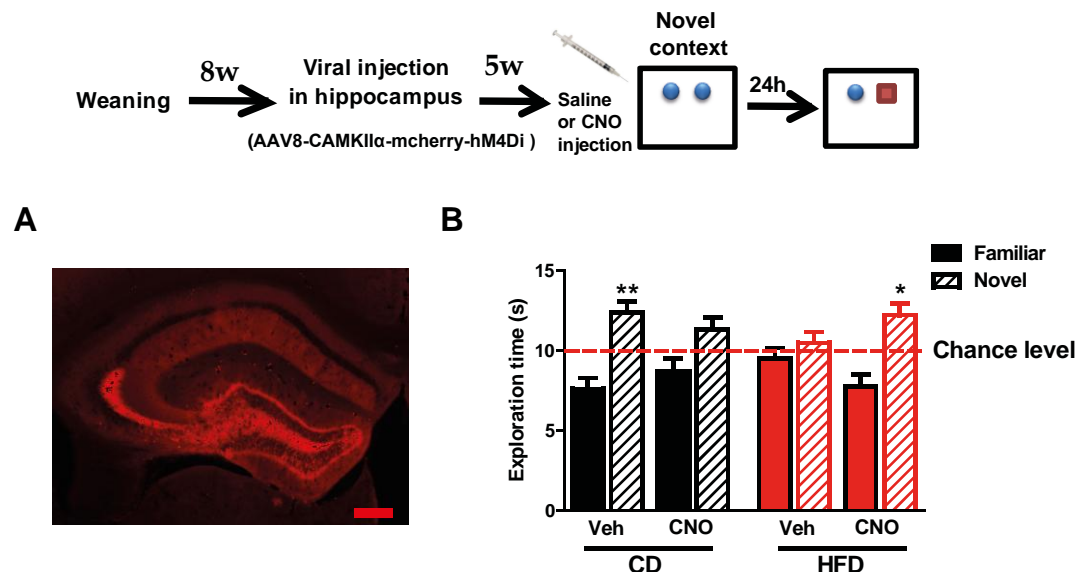


Figure 6. Inactivation of hippocampal glutamatergic neurons improves long-term object recognition memory in HFD-fed mice. Fluorescence for mcherry in the hippocampal brain sections from a HFD-fed mouse bilaterally injected with AAV8-CAMKII α -mcherry-HM4Di (A; scale bar represents 250 μ m). Pre-training injection of CNO improves long-term object recognition memory in HFD-fed mice (B; n = 9-10 per group). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (one-sample t-test).

DISCUSSION

We first demonstrate that the consumption of HFD during 12 weeks since weaning impairs long-term but not short-term ORM when animals were trained in Novel context condition (without prior habituation to the experimental room and apparatus) suggesting that adolescent HFD consumption specifically impairs ORM consolidation. In line with the present study, we previously demonstrated that adolescent, but not adult, HFD intake impaired the consolidation of hippocampal-dependant spatial memory (Boitard *et al*, 2014) but enhanced the consolidation of amygdala-dependent odor aversion memory (Boitard *et al*, 2012, 2014, 2015). Together these results suggest that HFD intake during adolescence specifically affect cellular mechanisms underlying consolidation processes.

HFD consumption impairs ORM through enhancement of training-induced GC release.

An important modulator of memory consolidation is the GC system (McGaugh, 2004). Interestingly, previous reports indicate that obesity is associated with GC system deregulation in humans (Duclos *et al*, 2001; Jessop *et al*, 2001; Pasquali *et al*, 2006), and chronic HFD-induced obesity in animals alters this system resulting in a protracted GC release after stressful events (Boitard *et al*, 2015; Legendre and Harris, 2006; Sharma and Fulton, 2013). Moreover, adolescence is a decisive period for maturation of the GC system (McCormick and Mathews, 2007) and we have recently shown that HFD consumption during adolescence has a more important impact on GC system than similar exposure at adulthood (Boitard *et al*, 2015). Consistent with this observation, in the present study, we demonstrate that exposure to novel objects in a novel environment (i.e. ORM training) enhances GC secretion in adolescent HFD-fed mice. Previous studies demonstrated in lean animals that the effects of GC on ORM consolidation depend on emotional arousal levels during training (Okuda *et al*, 2004; Roozendaal *et al*, 2006) and that extensive prior habituation to the experimental context attenuates such stress/emotional arousal during training (Okuda *et al*, 2004). Indeed, repeated exposure to experimental room and apparatus in the absence of objects decreased GC levels after training and prevented long-term ORM impairment in adolescent HFD-fed mice. Moreover, systemic blockade of GR immediately after training in Novel context condition improved long-term ORM indicating that adolescent HFD exposure impairs the

consolidation of ORM through enhancement of training-induced GC release. Interestingly, in a genetic mouse model of obesity, memory deficits including ORM task, were alleviated by lowering circulating GC (Stranahan *et al*, 2008; Wosiski-Kuhn *et al*, 2014).

Hippocampal eCB system mediates HFD-induced ORM impairment.

Previous studies indicate that stress and GC affect eCB levels in different brain regions (Gray *et al*, 2015; Hill *et al*, 2009; Wang *et al*, 2012). In particular, stress or corticosterone injection rapidly enhanced eCBs levels in hippocampus making this system a rapid mediator of responses to stress and GC (Atsak *et al*, 2012; Busquets-Garcia *et al*, 2016; Hill *et al*, 2010a; Morena *et al*, 2014; Wang *et al*, 2012). As ORM training in a novel context highly increased plasma GC release in HF-fed mice, we hypothesised they would also exhibit higher levels of eCBs after training in similar condition. In both groups, AEA hippocampal levels were clearly increased 30 and 60 minutes after training whereas 2-AG hippocampal levels were not modified by training suggesting AEA, but not 2-AG, plays a critical role in modulating ORM. Similar increase of AEA, but not 2-AG, levels in different brain areas were recently obtained after highly aversive training in lean animals and proposed to regulate memory consolidation (Morena *et al*, 2014). Consistent with our hypothesis, HFD group showed higher AEA hippocampal levels 30 minutes after training than controls. This finding is consistent with a previous study showing that enhancing the concentration of hippocampal AEA, but not 2-AG, impaired ORM in lean mice (Busquets-Garcia *et al*, 2011). This suggests that a supra-physiological AEA levels after training is associated with ORM impairment, as in the case of HFD-fed mice. It must be mentioned that previous studies demonstrated that chronic HFD consumption induced an increase of basal eCB levels in hippocampus, in particular AEA (Massa *et al*, 2010; Rivera *et al*, 2013). However, we did not find any diet effect on basal AEA or 2-AG levels. Among many procedural differences that may account for these differential results, the age of diet exposure is the most striking. HFD consumption started at weaning in our study (to cover adolescence) whereas it started at adulthood in previous studies. The important maturational processes occurring in the eCB system during adolescence (for review: (Dow-Edwards and Silva, 2016) could therefore explain this discrepancy.

In order to evaluate whether alteration of eCB levels played a causal role in HFD-induced memory deficit, we manipulated CB₁R, which are highly expressed in the brain and for which AEA and 2-AG are the major ligands (Katona *et al*, 1999; Kawamura *et al*, 2006; Marsicano and Lutz, 1999; Tsou *et al*, 1999). We first showed that similar to GR blockade, systemic CB₁R blockade immediately after training prevented HFD-induced ORM impairment in a dose-dependent manner. Interestingly, the dose of antagonist that improved ORM in HFD group (1 mg/kg) impaired ORM in control group. This result corroborates previous studies in lean animals indicating that blocking or stimulating cannabinoid system affect ORM (Busquets-Garcia *et al*, 2011, 2016; Clarke *et al*, 2008; Puighermanal *et al*, 2009) and this effect is greatly influenced by stress/emotional arousal during training (Busquets-Garcia *et al*, 2011, 2016; Clarke *et al*, 2008; Puighermanal *et al*, 2009).

We next revealed that ORM training in Novel context condition induced higher c-Fos expression in the hippocampal CA3 region in HFD-fed mice and systemic blockade of CB₁R (or GR) immediately after training normalized c-Fos expression in CA3. This was not the case for the other brain structures investigated such as perirhinal cortex and BLA. In CD group, CB₁R blockade after training enhanced c-Fos activation in the CA3. This parallels behavioral results obtained with similar treatment indicating that, whatever the diet, CA3 over-activation after training is associated with ORM impairment. These c-Fos results also strongly suggest that CB₁R activation specifically in the hippocampus contributes to HFD-induced ORM impairment. Indeed, hippocampal CB₁R deletion was sufficient to prevent long-term ORM deficit in HFD-fed mice. Similar findings were recently reported in lean mice : post-training stress impaired ORM consolidation and blockade of hippocampal CB₁R prevented stress-induced ORM impairment (Busquets-Garcia *et al*, 2011, 2016; Clarke *et al*, 2008; Puighermanal *et al*, 2009). Again this underlies the tight interactions between stress/GC and eCB system.

HFD consumption impairs training-induced hippocampal synaptic plasticity through CB₁R activation.

We then wondered what could be the cellular basis of such hippocampal alteration in HFD-fed mice. Synaptic plasticity and in particular LTP is proposed as a cellular model of long-term memory in the hippocampus (Malenka and Nicoll, 1999; Martin *et al*, 2000). However, *in vivo* LTP in CA3-CA1 pathway was not affected by

adolescent HFD consumption in basal condition. It was demonstrated in lean mice that exposure to novel objects is followed by an enhancement of synaptic efficacy in CA3-CA1 synapses (Clarke *et al*, 2010). Moreover, experimental saturation of this pathway before training hindered long-term ORM indicating that ORM relied on CA3-CA1 synaptic functionality (Clarke *et al*, 2010). We therefore evaluated LTP after training in our condition. Training in novel context occluded LTP maintenance in CD group. Similar LTP occlusion was also reported after novel context exposure (Motanis and Maroun, 2010; Sacchetti *et al*, 2002). Altogether these results suggest that, in our condition, training triggered hippocampal plasticity able to interfere with subsequent HFS-induced LTP in CD group. In HFD-fed mice, training in novel context did not affect LTP maintenance indicating that training did not induce optimal hippocampal plasticity to occlude HFS-induced LTP. Notably, CB₁R blockade immediately after training allowed hippocampal LTP occlusion in HFD-fed mice suggesting CB₁R antagonist improved training-induced hippocampal plasticity. Therefore, these results indicate that adolescent HFD consumption impaired hippocampal plasticity induced by training through CB₁R activation.

Overactivation of hippocampal glutamatergic neurons is responsible for HFD-induced ORM deficit.

In the hippocampus, CB₁R are abundantly expressed on GABAergic terminals and to a minor extent on glutamatergic terminals where they negatively control neurotransmission (Katona *et al*, 1999; Kawamura *et al*, 2006; Marsicano and Lutz, 1999; Tsou *et al*, 1999). Higher hippocampal AEA levels after training in HFD-fed mice would therefore mainly inhibit GABAergic neurons, disinhibiting glutamatergic cells. This would lead to greater hippocampal activation in HFD group after training and impaired long-term ORM. Indeed, chemogenetic inhibition of hippocampal glutamatergic cells improved ORM in HFD group similarly to CB₁R deletion or blockade suggesting CB₁R-dependent disinhibition of hippocampal glutamatergic neurons in HFD-fed mice.

Several studies have proposed a model of how GC might recruit the eCB system to influence the release of some neurotransmitters, such as glutamate in the hippocampus, in order to regulate memory consolidation (Atsak *et al*, 2012, 2015, Campolongo *et al*, 2009, 2012, 2013; Morena *et al*, 2016; de Oliveira Alvares *et al*, 2006, 2010). Adapting this model to HFD-fed mice during adolescence, we propose

that exposure to novel objects in a novel environment induces an exaggerated plasma GC release. In the hippocampus, GC stimulates membrane-associated GR in neurons which increased AEA levels (Di *et al*, 2009; McEwen *et al*, 2015). Higher hippocampal AEA levels after training stimulate CB₁R on GABAergic neurons decreasing GABA release. Disinhibition of glutamatergic cells leads to greater hippocampal activation and consequently non-optimal hippocampal plasticity disrupting memory consolidation processes.

Acknowledgements

This work was supported by the French ANR-15-CE17-0013 OBETEEN (to G.F.) and ANR-16-CE37-0010 ORUPS (to G.M. and G.F.). Y.J. was the recipient of a PhD fellowship from the Thai Ministry of Science and Technology and J.F.O.C. from the Fondation pour la Recherche Medicale (FDT20160435664). A.B.-G. was recipient of a postdoctoral fellowship from FP7-PEOPLE-2013-IEF-623638 and French ANR-10-IDEX-03-02. The authors thank all the personnel of the animal facility of the NutriNeuro lab for mouse care.

REFERENCE

- Andersen SL (2003). Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* **27**: 3–18.
- Atsak P, Hauer D, Campolongo P, Schelling G, Fornari RV, Roozendaal B (2015). Endocannabinoid signaling within the basolateral amygdala integrates multiple stress hormone effects on memory consolidation. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **40**: 1485–1494.
- Atsak P, Hauer D, Campolongo P, Schelling G, McGaugh JL, Roozendaal B (2012). Glucocorticoids interact with the hippocampal endocannabinoid system in impairing retrieval of contextual fear memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: 3504–3509.
- Boitard C, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Layé S, *et al* (2014). Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain Behav Immun* **40**: 9–17.
- Boitard C, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, *et al* (2012). Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* **22**: 2095–2100.
- Boitard C, Maroun M, Tantot F, Cavaroc A, Sauvant J, Marchand A, *et al* (2015). Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **35**: 4092–4103.
- Busquets-Garcia A, Gomis-González M, Srivastava RK, Cutando L, Ortega-Alvaro A, Rühle S, *et al* (2016). Peripheral and central CB1 cannabinoid receptors control stress-induced impairment of memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**: 9904–9909.
- Busquets-Garcia A, Puighermanal E, Pastor A, Torre R de la, Maldonado R, Ozaita A (2011). Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. *Biol Psychiatry* **70**: 479–486.
- Campolongo P, Morena M, Scaccianoce S, Trezza V, Chiarotti F, Schelling G, *et al* (2013). Novelty-induced emotional arousal modulates cannabinoid effects on recognition memory and adrenocortical activity. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **38**: 1276–1286.
- Campolongo P, Ratano P, Manduca A, Scattoni ML, Palmery M, Trezza V, *et al* (2012). The endocannabinoid transport inhibitor AM404 differentially modulates recognition memory in rats depending on environmental aversiveness. *Front Behav Neurosci* **6**: 11.
- Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Hauer D, Schelling G, McGaugh JL, *et al* (2009). Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 4888–4893.
- Chevalyere V, Takahashi KA, Castillo PE (2006). Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci* **29**: 37–76.
- Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM (2010). Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**: 2652–2657.

- Clarke JR, Rossato JI, Monteiro S, Bevilaqua LRM, Izquierdo I, Cammarota M (2008). Posttraining activation of CB1 cannabinoid receptors in the CA1 region of the dorsal hippocampus impairs object recognition long-term memory. *Neurobiol Learn Mem* **90**: 374–381.
- Di Marzo V (2008). Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov* **7**: 438–455.
- Di S, Maxson MM, Franco A, Tasker JG (2009). Glucocorticoids regulate glutamate and GABA synapse-specific retrograde transmission via divergent nongenomic signaling pathways. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **29**: 393–401.
- Dow-Edwards D, Silva L (2016). Endocannabinoids in brain plasticity: Cortical maturation, HPA axis function and behavior. *Brain Res* doi:10.1016/j.brainres.2016.08.037.
- Dubreucq S, Matias I, Cardinal P, Häring M, Lutz B, Marsicano G, *et al* (2012). Genetic dissection of the role of cannabinoid type-1 receptors in the emotional consequences of repeated social stress in mice. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **37**: 1885–1900.
- 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**: 447–454.
- 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* 1–8.
- Francis H, Stevenson R (2013). The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* **63**: 119–128.
- Gómez-Pinilla F (2008). Brain foods: the effects of nutrients on brain function. *Nat Rev Neurosci* **9**: 568–578.
- Gray JM, Vecchiarelli HA, Morena M, Lee TTY, Hermanson DJ, Kim AB, *et al* (2015). Corticotropin-releasing hormone drives anandamide hydrolysis in the amygdala to promote anxiety. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **35**: 3879–3892.
- Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM (2004). Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA* **291**: 2847–2850.
- Hill MN, Karatsoreos IN, Hillard CJ, McEwen BS (2010a). Rapid elevations in limbic endocannabinoid content by glucocorticoid hormones in vivo. *Psychoneuroendocrinology* **35**: 1333–1338.
- Hill MN, McLaughlin RJ, Morrish AC, Viau V, Floresco SB, Hillard CJ, *et al* (2009). Suppression of amygdalar endocannabinoid signaling by stress contributes to activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **34**: 2733–2745.
- Hill MN, Patel S, Campolongo P, Tasker JG, Wotjak CT, Bains JS (2010b). Functional interactions between stress and the endocannabinoid system: from synaptic signaling to behavioral output. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**: 14980–14986.
- Jessop DS, Dallman MF, Fleming D, Lightman SL (2001). Resistance to glucocorticoid feedback in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* **86**: 4109–4114.

- Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimotodani Y, Uchigashima M, Watanabe M (2009). Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev* **89**: 309–380.
- Kanoski SE, Davidson TL (2011). Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* **103**: 59–68.
- Katona I, Sperl agh B, S ik A, K afalvi A, Vizi ES, Mackie K, *et al* (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **19**: 4544–4558.
- Kawamura Y, Fukaya M, Maejima T, Yoshida T, Miura E, Watanabe M, *et al* (2006). The CB1 cannabinoid receptor is the major cannabinoid receptor at excitatory presynaptic sites in the hippocampus and cerebellum. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 2991–3001.
- Legendre A, Harris RBS (2006). Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **291**: R1288-1294.
- Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P, *et al* (2013). Object recognition test in mice. *Nat Protoc* **8**: 2531–2537.
- Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, Schramek TE (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn* **65**: 209–237.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999). Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* **285**: 1870–1874.
- Marsicano G, Lutz B (1999). Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci* **11**: 4213–4225.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* **23**: 649–711.
- Massa F, Mancini G, Schmidt H, Steindel F, Mackie K, Angioni C, *et al* (2010). Alterations in the hippocampal endocannabinoid system in diet-induced obese mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**: 6273–6281.
- 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**: 220–233.
- McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, *et al* (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nat Neurosci* **18**: 1353–1363.
- McGaugh JL (2000). Memory--a century of consolidation. *Science* **287**: 248–251.
- McGaugh JL (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci* **27**: 1–28.
- Morena M, Patel S, Bains JS, Hill MN (2016). Neurobiological Interactions Between Stress and the Endocannabinoid System. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **41**: 80–102.
- Morena M, Roozendaal B, Trezza V, Ratano P, Peloso A, Hauer D, *et al* (2014). Endogenous cannabinoid release within prefrontal-limbic pathways affects memory consolidation of emotional training. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**: 18333–18338.

- Motanis H, Maroun M (2010). Exposure to a novel context following contextual fear conditioning enhances the induction of hippocampal long-term potentiation. *Eur J Neurosci* **32**: 840–846.
- Noble EE, Kanoski SE (2016). Early life exposure to obesogenic diets and learning and memory dysfunction. *Curr Opin Behav Sci* **9**: 7–14.
- Okuda S, Roozendaal B, McGaugh JL (2004). Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 853–858.
- Oliveira Alvares L de, Engelke DS, Diehl F, Scheffer-Teixeira R, Haubrich J, Freitas Cassini L de, *et al* (2010). Stress response recruits the hippocampal endocannabinoid system for the modulation of fear memory. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **17**: 202–209.
- Oliveira Alvares L de, Genro BP, Vaz Breda R, Pedroso MF, Da Costa JC, Quillfeldt JA (2006). AM251, a selective antagonist of the CB1 receptor, inhibits the induction of long-term potentiation and induces retrograde amnesia in rats. *Brain Res* **1075**: 60–67.
- 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**: 111–128.
- Piomelli D (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* **4**: 873–884.
- Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-Garcia A, Lutz B, Maldonado R, Ozaita A (2009). Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* **12**: 1152–1158.
- Reichelt AC (2016). Adolescent Maturational Transitions in the Prefrontal Cortex and Dopamine Signaling as a Risk Factor for the Development of Obesity and High Fat/High Sugar Diet Induced Cognitive Deficits. *Front Behav Neurosci* **10**: 189.
- Rivera P, Luque-Rojas MJ, Pastor A, Blanco E, Pavón FJ, Serrano A, *et al* (2013). Diet-dependent modulation of hippocampal expression of endocannabinoid signaling-related proteins in cannabinoid antagonist-treated obese rats. *Eur J Neurosci* **37**: 105–117.
- Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL (2006). Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 6741–6746.
- Sacchetti B, Lorenzini CA, Baldi E, Bucherelli C, Roberto M, Tassoni G, *et al* (2002). Time-dependent inhibition of hippocampal LTP in vitro following contextual fear conditioning in the rat. *Eur J Neurosci* **15**: 143–150.
- 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* **37**: 382–389.
- Spear LP (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* **24**: 417–463.
- Stranahan AM, Arumugam TV, Cutler RG, Lee K, Egan JM, Mattson MP (2008). Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons. *Nat Neurosci* **11**: 309–317.

- Tsou K, Mackie K, Sañudo-Peña MC, Walker JM (1999). Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation. *Neuroscience* **93**: 969–975.
- Wang M, Hill MN, Zhang L, Gorzalka BB, Hillard CJ, Alger BE (2012). Acute restraint stress enhances hippocampal endocannabinoid function via glucocorticoid receptor activation. *J Psychopharmacol Oxf Engl* **26**: 56–70.
- Wosiski-Kuhn M, Erion JR, Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CE, Stranahan AM (2014). Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. *Psychoneuroendocrinology* **42**: 165–177.

Discussion générale

Dans les 2 chapitres de cette thèse, nous avons pu montrer que la consommation précoce d'un régime HL perturbe différents systèmes de mémoire chez le rongeur à l'âge adulte. En effet, la consommation d'un régime HL durant la période périnatale induit une perturbation des systèmes hippocampique et amygdalien et la consommation d'un régime HL depuis le sevrage jusqu'à l'âge adulte induit une perturbation du système hippocampique.

Dans le premier chapitre, nous avons mis en évidence que la consommation d'un régime HL maternel (gestation et lactation) chez le rat affecte la morphologie des neurones pyramidaux du CA1 de l'hippocampe et du BLA chez la descendance adulte. Ceci est associé à une perturbation spécifique de la mémoire olfactive aversive dépendante du BLA chez les descendants adultes suggérant les effets délétères d'un régime HL maternel sur la fonction amygdalienne.

Dans le deuxième chapitre de cette thèse, nous mettons en évidence que la consommation d'un régime HL lors de l'adolescence (depuis le sevrage jusqu'à l'âge adulte) induit des déficits de la fonction hippocampique. Plus précisément, la consommation du régime HL induit un déficit de consolidation de la mémoire de reconnaissance d'objet (MRO). Cependant, le déficit de MRO à long-terme dépend du niveau de stress ou d'éveil émotionnel chez le groupe HL induit par la nouveauté du contexte lors de l'apprentissage puisque la MRO est intact quand les animaux sont testés dans un contexte familier. Le déficit de consolidation de la MRO est en effet associé, suite à l'apprentissage, à une plus forte activation de l'axe HPA du stress (conduisant à la plus forte libération de GC). Il en résulte également des changements au sein de l'hippocampe des souris HL : des niveaux plus élevés d'un eCB (l'anandamide), une plus forte activation c-Fos de l'hippocampe (en particulier dans le CA3) et une altération de la plasticité de la voie CA3-CA1. Le blocage des GR et des CB1 juste après l'apprentissage permet de récupérer la MRO à long-terme, de normaliser les activations c-Fos du CA3 mais également la plasticité synaptique CA3-CA1. L'importance de l'hippocampe est confirmée par la délétion des CB1 de l'hippocampe mais également l'inactivation des neurones glutamatergiques de l'hippocampe par à une approche de pharmacogénétique (DREADD-Gi) qui améliorent la MRO à long-terme chez les souris HL.

Impact de la consommation d'un régime HL maternel sur les fonctions hippocampiques et amygdaliennes : mécanismes impliqués

De nombreuses études réalisées chez le rongeur se sont récemment intéressées aux effets l'obésité maternelle ou de la consommation de régimes HL maternelles sur la mémoire dépendante de l'hippocampe de la descendance (Lépinay *et al*, 2015; Niculescu and Lupu, 2009; Tozuka *et al*, 2009, 2010). Si certaines études rapportent quelques effets comportementaux à l'âge adulte, il semble que les effets délétères du régime HL maternel sur les performances de mémoire dépendante de l'hippocampe des descendants soient plus prononcés quand les descendants sont testés rapidement après l'arrêt du régime (Bilbo and Tsang, 2010; Page *et al*, 2014; Lépinay *et al*, 2015; Mychasiuk *et al*, 2015; Tozuka *et al*, 2010; White *et al*, 2009). Il a été proposé que le remodelage de la morphologie neuronale et de la densité des épines dendritiques est l'une des formes de plasticité impliquées dans la formation de la mémoire (pour revues : (McEwen *et al*, 2015; Roozendaal *et al*, 2009). Nous montrons ici que l'exposition à un régime HL périnatal engendre à l'âge adulte une rétraction dendritique au niveau de l'arbre basal des neurones pyramidaux du CA1 suggérant une base cellulaire des changements comportementaux rapportés.

A notre connaissance, nous sommes les premiers à montrer qu'un régime HL périnatal induit des déficits fonctionnels et structuraux de l'amygdale chez l'adulte. Les neurones du BLA du rongeur subissent d'importantes modifications morphologiques, avec une importante croissance de leur soma et de leurs dendrites, s'accompagnant de changements physiologiques durant les premières semaines après la naissance (Chareyron *et al*, 2012; Rubinow *et al*, 2009; Ryan *et al*, 2016). Nous montrons que l'exposition à un régime HL pendant cette période critique affecte à long-terme la morphologie des neurones du BLA. En effet les animaux exposés au régime HL périnatal montrent à l'âge adulte une rétraction dendritique des neurones pyramidaux au niveau de l'arbre basal, mais pas de l'arbre apical, du BLA. La consommation du régime HL maternel n'affecte pas non plus la densité des épines des neurones pyramidaux de l'arbre basal et de l'arbre apical du BLA. Ces résultats indiquent que l'arbre basal est particulièrement sensible aux effets du régime HL maternel.

En parallèle nous montrons que la consommation d'un régime HL périnatal perturbe l'aversion olfactive conditionnée qui nécessite spécifiquement l'intégrité du BLA (Desgranges *et al*, 2008; Sevelinges *et al*, 2009) appuyant le fait que le remodelage de la morphologie neuronale est une des formes de plasticité impliquées dans la formation de la

mémoire (pour revues : (McEwen *et al*, 2015; Roozendaal *et al*, 2009). Des tâches comme l'aversion gustative conditionnée ou la préférence olfactive conditionnée, qui dépendent moins spécifiquement du BLA (Bermúdez-Rattoni, 2004 ; Gilbert *et al*, 2003; Touzani and Sclafani, 2005), ne sont pas affectées indiquant que la consommation d'un régime HL périnatal ne perturbe pas le traitement de l'information olfactive ou de l'information viscérale liée au malaise mais spécifiquement l'association odeur-malaise et/ou la rétention de la mémoire aversive olfactive. De manière intéressante, il a été montré au laboratoire que la consommation d'un régime HL à l'adolescence augmente la mémoire aversive olfactive (Boitard *et al*, 2015). Ces données suggèrent que les périodes périnatales et adolescences sont des périodes critiques et vulnérables aux effets du régime HL mais qu'elles engendrent des effets opposés sur la fonction amygdalienne. Il serait donc particulièrement intéressant **d'évaluer si la consommation d'un régime HL à l'adolescence engendre des effets opposés sur la morphologie des neurones du BLA** et augmente la complexification de l'arbre dendritique et/ou de la densité d'épines comme cela a récemment été montré au niveau du CA1 (Valladolid-Acebes *et al*, 2013).

De manière intéressante, la rétraction dendritique des neurones du BLA chez les rats exposés au régime HL est restreinte à la région proche du soma (40-100 μm). Un effet similaire est observé suite à un stress chronique (Vyas *et al*, 2002) suggérant une implication du système GC. Cette hypothèse est cohérente avec le fait que l'exposition au régime HL périnatal engendre une diminution des niveaux de corticostérone plasmatique ainsi qu'une augmentation d'expression du GR dans l'amygdale (Sasaki *et al*, 2013). Il serait donc intéressant d'évaluer si **les changements de l'axe HPA pourraient participer aux modifications morphologiques des neurones de l'hippocampe et du BLA et des perturbations mnésiques** induites par le régime HL maternel.

La maturation des dendrites durant le développement précoce dépend de la neurotransmission GABAergique excitatrice et qu'une perte de cette neurotransmission engendre une perturbation de la complexité de l'arborisation des dendrites (Cancedda *et al*, 2007). De plus, de récentes études indiquent que la consommation d'un régime HL ou riche en sucrose après le sevrage diminue les concentrations de GABA et la densité des interneurons GABAergiques exprimant la parvalbumine dans le cortex préfrontal et l'hippocampe (Reichelt *et al*, 2015; Sandoval-Salazar *et al*, 2016). Donc, il semblerait intéressant **d'investiguer la contribution du système GABAergique de l'hippocampe et du**

BLA dans les changements morphologiques et le déficit de la mémoire aversive olfactive induits par la consommation d'un régime HL maternel.

Par ailleurs, dans le deuxième chapitre de cette thèse, nous montrons que le système eCB est fortement impliqué dans les perturbations de mémoire induites par la consommation d'un régime HL à l'adolescence. Etant donné que le système eCB a un rôle important dans la modulation des mémoires aversives et le remodelage dendritique des neurones du BLA (Campolongo *et al*, 2009; Hill *et al*, 2011; Morena and Campolongo, 2014), il serait intéressant d'investiguer la contribution du système eCB dans la modification morphologique des neurones du BLA et la perturbation de l'aversion olfactive conditionnée induites par le régime HL maternel. De manière intéressante, une récente étude indique que la consommation d'un régime hyper-calorique pendant les périodes pré-gestationnelles et gestationnelles diminue les taux d'eCB dans l'hypothalamus et l'hippocampe chez les nouveaux nés (Ramírez-López *et al*, 2015). Il serait donc intéressant dans un premier temps d'évaluer les taux d'eCB au sein de l'hippocampe et du BLA chez les rats provenant des mères soumises au régime HL durant les périodes de gestation et lactation. Ensuite nous pourrions **envisager des études chez des souris KO pour le CB₁ afin de voir les conséquences sur les modifications morphologiques des neurones de l'hippocampe et du BLA et des perturbations mnésiques** induites par le régime HL maternel.

Impact de la consommation d'un régime HL à l'adolescence sur les fonctions hippocampiques : mécanismes impliqués

Si les études chez l'homme s'accordent à dire que l'obésité ou la consommation de régimes obésogène à l'adolescence perturbe la mémoire dépendante de l'hippocampe (Nyaradi *et al*, 2014 ; Khan *et al*, 2015 ; Baym *et al*, 2014), la compréhension des mécanismes impliqués nécessite d'utiliser les modèles animaux. Les premières études menées au laboratoire indiquent que la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence a des effets plus délétères sur les fonctions hippocampiques que la consommation à l'âge adulte (Boitard *et al*, 2012, 2014; voir aussi Valladolid-Acebes *et al*, 2013). Il a également été montré au laboratoire que la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence a un impact plus important sur l'axe HPA que la consommation à l'âge adulte avec une sécrétion prolongée de GC suite à un stress chez les animaux exposés au régime HL à l'adolescence (Boitard *et al*, 2015). Ceci est à rapprocher du fait que le rétrocontrôle de l'axe HPA se met en place à l'adolescence (Foilb *et al*, 2011; McCormick and Mathews, 2007; Romeo, 2010). Ici nous montrons que ces modifications de l'axe HPA sont à la base des perturbations mnésiques suite à la consommation du régime HL à l'adolescence comme cela a été montré récemment dans un modèle d'obésité génétique mais qui présente des taux élevés de GC au niveau basal (Wosiski-Kuhn *et al*, 2014).

L'originalité de ce travail réside dans la démonstration que les GC exercent leurs effets perturbateurs sur la mémoire des animaux HL via le système eCB de l'hippocampe. Plus particulièrement nous proposons un schéma explicatif de nos résultats (Figure 24) basé sur des modèles d'interactions GC-eCB lors de la consolidation de la mémoire établis chez des animaux non exposés au régime HL (Atsak *et al*, 2012a, 2015; Busquets-Garcia *et al.*, 2013; Morena and Campolongo, 2014; Puighermanal *et al.*, 2009). L'exposition à de nouveaux objets dans un nouveau contexte induit une libération exagérée de GC chez les souris ayant consommé un régime HL pendant l'adolescence. Les GC, qui traversent facilement la barrière hémato-encéphalique, stimulent au niveau de l'hippocampe les GR membranaires qui augmentent les niveaux d'eCB et en particulier l'anandamide (Di *et al*, 2009; McEwen *et al*, 2015). Ces niveaux élevés d'anandamide stimulent les nombreux CB₁ présents sur les neurones GABAergiques de l'hippocampe et diminuent la libération de GABA. La désinhibition des neurones glutamatergiques qui en résulte augmente l'activité c-Fos de l'hippocampe (en particulier au niveau du CA3). Ceci perturbe la plasticité synaptique (en particulier de la voie CA3-CA1) et en conséquence les processus de consolidation de la MRO.

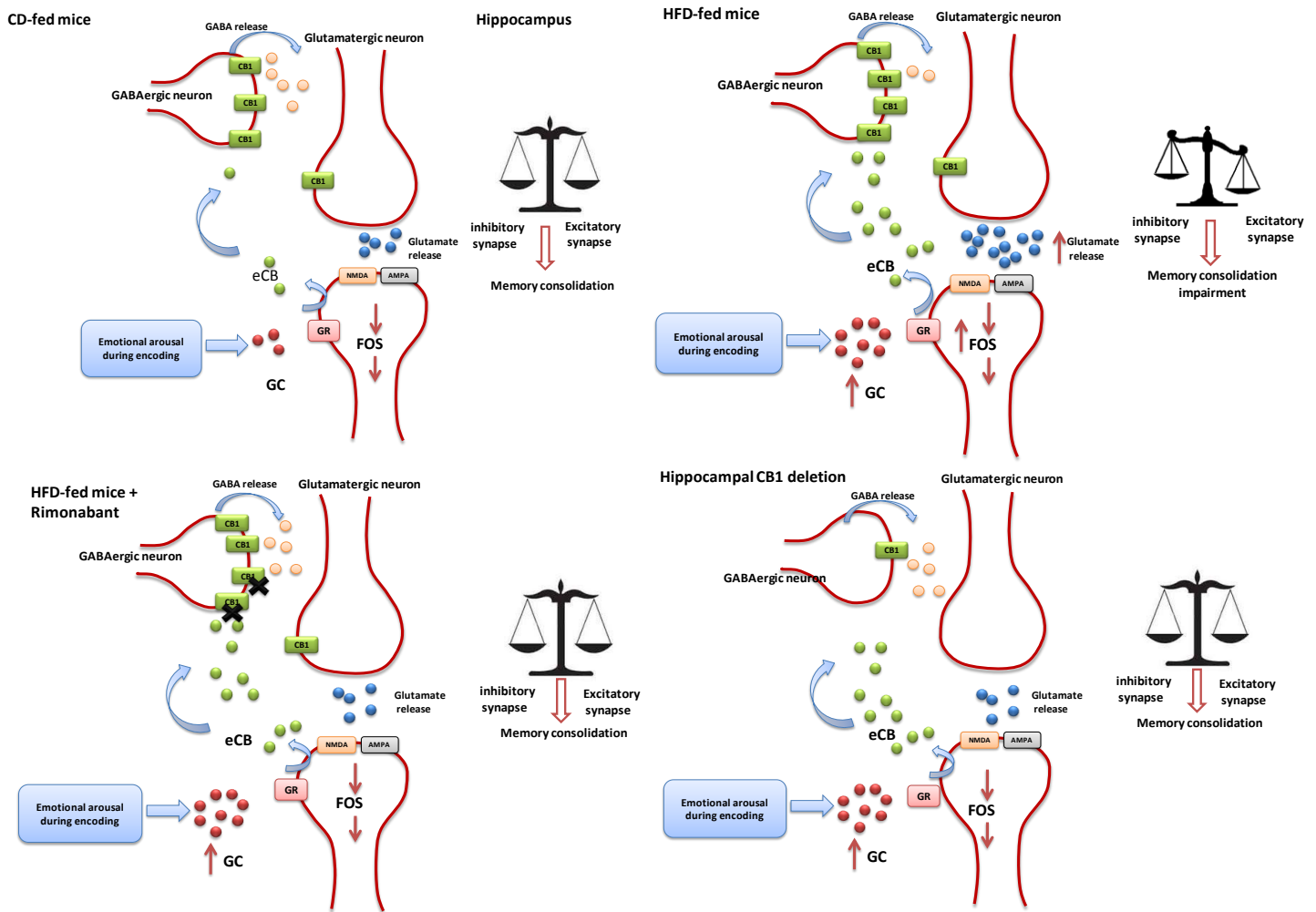


Figure 24. Modèles schématiques illustrant les possibles interactions entre GC et eCB lors de la consolidation de la mémoire. Les interactions GC-eCB participent la consolidation de la mémoire de reconnaissance d'objet chez les animaux contrôles (en haut à gauche) mais perturbent celle des animaux ayant consommés un régime HL pendant l'adolescence (en haut à droite). Le blocage (en bas à gauche) ou la délétion (en bas à droite) des CB1 de l'hippocampe permet de rétablir une mémoire de reconnaissance d'objet normale chez les animaux ayant consommés un régime HL pendant l'adolescence (Adapté de Atsak *et al*, 2012a et Busquets-Garcia *et al.*, 2013).

La tâche de reconnaissance d'objet

Nous avons décidé d'utiliser la MRO, une tâche simple non aversive et ne nécessitant aucune récompense alimentaire, basée sur la tendance naturelle des rongeurs à explorer préférentiellement un nouvel objet par rapport à un objet préalablement rencontré (Ennaceur and Delacour, 1988). Cette tâche présente l'avantage de permettre de faire varier l'état émotionnel des animaux au moment de l'apprentissage en jouant sur le niveau d'habituation au contexte (Okuda *et al*, 2004). La consommation d'un régime HL à l'adolescence perturbe la consolidation de la MRO seulement quand les animaux ne sont pas préalablement habitués au contexte. De manière intéressante, chez des animaux contrôles, l'injection de GC ou d'un

agoniste CB₁ va faciliter la MRO à long terme seulement pour les situations présentant un éveil émotionnel assez important au moment de l'encodage mais pas dans le cas où la situation est peu stressante après une habituation répétée au contexte dans lequel se déroule la tâche (Okuda *et al.*, 2004; Roozendaal *et al.*, 2006; Campolongo *et al.*, 2014). À l'inverse, nous montrons que le blocage des GR ou des CB₁ juste après l'apprentissage dans un nouveau contexte améliore la MRO des animaux exposés au régime HL indiquant qu'une trop forte activation des GR ou des CB₁ perturbe la consolidation de MRO dans notre cas. Si les GC, et par extension les eCB, jouent un rôle clé dans le renforcement de nouvelles traces mnésiques (McGaugh, 2004), il est en effet important de noter qu'ils modulent la mémoire chez l'Homme comme chez l'animal en suivant une courbe en U inversée. La mémoire est optimale avec des taux modérés de GC et d'eCB mais de trop forts ou trop faibles taux de GC et d'eCB perturbent les mémoires dépendantes de l'hippocampe (Busquets-Garcia *et al.* 2013; Puighermanal *et al.*, 2009; Diamond *et al.*, 2007; Kaouane *et al.*, 2012; Lupien *et al.*, 2007; Okuda *et al.*, 2004; Roozendaal, 2002). Dans le cas des souris HL il est évident que l'apprentissage dans un nouveau contexte est suffisamment stressant pour perturber la consolidation de la MRO. Il serait **intéressant d'évaluer si chez des souris habituées au contexte, une injection de GC ou d'agoniste CB₁ juste après l'apprentissage engendre des perturbations chez les souris HL** mais pas chez les souris contrôles.

Glucocorticoïdes, transmission glutamatergique et voies de signalisation

La transmission glutamatergique de l'hippocampe est nécessaire à la formation de la MRO à long-terme chez des animaux non exposés au régime HL (de Lima *et al.*, 2006; Rampon *et al.*, 2000). En utilisant une approche chémo-génétique (DREADD Gi) nous avons pu inactiver de manière transitoire et spécifique les neurones glutamatergiques de l'hippocampe au moment de l'acquisition et ainsi obtenir une MRO à long-terme chez les souris consommant le régime HL à l'adolescence. Ces résultats indiquent que l'hyperactivité des neurones glutamatergiques de l'hippocampe suite à l'apprentissage est impliquée dans la perturbation de la consolidation de la MRO suite à la consommation d'un régime HL à l'adolescence.

Il a été montré que les GC jouent un rôle crucial dans la modulation de la transmission glutamatergique au niveau de l'hippocampe. Les GC modulent le système glutamatergique via l'action rapide non-génomique des GR (Karst *et al.*, 2005b; Musazzi *et al.*, 2010) ainsi que via l'action génomique des GR (Yuen *et al.*, 2011). En particulier les GC modulent la mobilité des récepteurs AMPA au niveau post-synaptique (Groc *et al.*, 2008) et augmentent les

courants post-synaptiques excitateurs miniatures (mEPSC) dans les neurones de l'hippocampe et l'amygdale (Karst *et al*, 2010; Olijslagers *et al*, 2008). Inversement, dans les conditions de stress fort ou prolongé, l'activation du GR présente un effet négatif sur la transmission glutamatergique au travers de l'activation des récepteurs NMDA (Coussens *et al*, 1997). De plus, le stress et les GC engendrent une accumulation du glutamate extracellulaire au sein de l'hippocampe (Abrahám *et al*, 1998; Lowy *et al*, 1993; Moghaddam *et al*, 1994; Stein-Behrens *et al*, 1994; Venero and Borrell, 1999). De façon intéressante, la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence induit des changements du métabolisme et de la neurotransmission glutamatergique au sein de l'hippocampe au niveau basal (Valladolid-Acebes *et al*, 2012). Il serait donc intéressant **d'évaluer la mobilité des récepteurs AMPA et les niveaux de glutamate hippocampique après l'apprentissage de la MRO** afin de savoir s'ils sont modifiés chez les souris HL par rapport aux souris contrôles.

Au niveau moléculaire, l'activation des GR de l'hippocampe facilite la consolidation de la mémoire de peur au contexte ou de l'évitement passif via une activation des voies de signalisation impliquant le BDNF et son récepteur TrKB, la phosphorylation des MAPK dont ERK1/2, de CREB et de CaMKII qui vont au final stimuler la transcription et la phosphorylation des protéines synapsine-Ia/Ib (Chen *et al*, 2012; Revest *et al*, 2005, 2010, 2014). La phosphorylation des protéines synapsine-Ia/Ib à son tour facilite la libération du glutamate des vésicules pré-synaptiques des neurones pyramidaux de l'hippocampe (Chi *et al*, 2003; Jovanovic *et al*, 2000). On peut donc se demander si **l'apprentissage de la MRO engendre des activations différentes des ces voies de signalisation** chez les souris HL.

Le système endocannabinoïde

Nous montrons que la consommation du régime HL du sevrage à l'âge adulte, c'est-à-dire pendant l'adolescence, induit une augmentation des taux d'AEA, l'un des principaux cannabinoïdes endogènes, au sein de l'hippocampe suite à l'apprentissage d'une tâche de reconnaissance d'objet. L'ensemble des résultats obtenus chez l'animal et l'Homme indique que Le système eCB subit également d'importants changements pendant l'adolescence (Ellgren *et al*, 2008; Lee *et al*, 2013; Lee and Gorzalka, 2012; Rubino *et al*, 2015). Il serait donc intéressant **d'évaluer les effets de la consommation du régime HL démarrant au sevrage sur la maturation du système eCB** à différents moments de l'adolescence (avant et après puberté par exemple) notamment au niveau de l'hippocampe.

Au niveau moléculaire, l'activation du CB₁ conduit à la phosphorylation et l'activation des voies de signalisation impliquant MAPK kinase dont ERK 1/2 mais également mTOR dont le blocage permet de prévenir les effets amnésiants du THC sur la consolidation de la MRO (Howlett, 1995; Busquets-Garcia *et al*, 2011; Puighermanal *et al*, 2009, 2013). Donc il sera également intéressant **d'évaluer les patterns d'activation de ces voies de signalisations suite à un apprentissage de la MRO** chez les souris HL.

Enfin, si nous montrons que la délétion des CB₁ au niveau de l'hippocampe améliore la MRO à long-terme suite à la consommation d'un régime HL pendant l'adolescence, nos résultats ne permettent pas d'identifier quels neurones sont réellement impliqués. Même si nous faisons une hypothèse forte sur les CB₁ des neurones GABAergiques, s'agit-il réellement des CB₁ des neurones GABAergiques ou ceux des neurones glutamatergiques jouent-ils un rôle ? De plus il a récemment été mis en évidence que les CB₁ des astrocytes jouaient un rôle important dans la plasticité et la mémoire dépendante de l'hippocampe (Han *et al.*, 2012). Il sera donc important **d'envisager une délétion spécifique des CB₁ exprimés sur les neurones GABAergiques, les neurones glutamatergiques ou les astrocytes au sein de l'hippocampe**. Des injections virales dans l'hippocampe de souris CB₁ floxed permettant d'apporter la Cre recombinase avec des promoteurs spécifiques (AAV-Vgat-CRE, AAV-CamKII-CRE ou AAV-GFAP-CRE) et devraient permettre de répondre à cette question.

L'amygdale et les projections amygdalo-hippocampiques

Il a été montré que l'activation du BLA est nécessaire dans la modulation de la MRO à long-terme (Maroun and Akirav, 2008; Roozendaal *et al*, 2006). Dans ce travail de thèse, il semble également que l'apprentissage de la reconnaissance d'objet (sans habituation au contexte préalable) s'accompagne d'une hyperactivité c-Fos du BLA suite à la consommation du régime HL à l'adolescence qui est annulée par l'antagoniste GR mais pas du tout par l'antagoniste CB₁ (ce qui explique l'absence d'interaction dans l'analyse globale). Cette hyperactivation GR-dépendante du BLA pourrait contribuer à la perturbation de la consolidation de la MRO chez les souris HL. Des études sont en cours afin d'évaluer si **l'inactivation transitoire du BLA, par une approche DREADD Gi, facilite la consolidation de la MRO** suite à la consommation d'un régime HL à l'adolescence.

L'activité noradrénergique du BLA pourrait également être impliquée dans la perturbation de la MRO induite par le régime HL à l'adolescence puisque les effets du GC

dans la modulation de la consolidation de la MRO nécessitent l'activation noradrénergique du BLA (Maroun and Akirav, 2008; Roozendaal *et al*, 2006). De plus, l'action noradrénergique du BLA à son tour module la plasticité synaptique au sein de l'hippocampe et la consolidation de la MRO (McReynolds *et al*, 2014). En effet de nombreuses données indiquent des interactions entre hippocampe et amygdale au niveau anatomique et fonctionnel (Dolcos *et al*, 2004; Huff *et al*, 2006; McGaugh, 2004; McIntyre *et al*, 2005; McReynolds *et al*, 2014; Richardson *et al*, 2004). On peut donc se demander si dans nos conditions la plus forte activation de l'hippocampe est due en partie à l'activation du BLA chez les animaux HL. Il serait donc intéressant d'investiguer les effets de **l'inactivation spécifique des projections amydalo-hippocampiques au moment de l'apprentissage** dans la consolidation de la MRO chez les souris consommant le régime HL à l'adolescence. Nous pourrions pour cela envisager d'utiliser la combinaison d'approches virales utilisant par exemple des DREADD floxés (AAV-DREADD-Gi séquence-inversée) dans le BLA et un virus rétrograde portant la Cre recombinase (CAV-2-CRE) dans l'hippocampe.

Laboratoire d'accueil et collaborations

Cette thèse a été effectuée au laboratoire 'Nutrition et Neurobiologie Intégrée' (NutriNeuroO, INRA UMR 1286 - Université de Bordeaux), dirigée par le Dr. Sophie Layé. Ce travail a été conduit sous l'encadrement du Dr. Guillaume Ferreira.

Certains aspects de ce travail de thèse ont été réalisés en étroite collaboration avec des personnes internes et externes au laboratoire NutriNeuro :

Muriel Darnaudéry et Marion Rincel : étude de la morphologie neuronale (Nutrineuro)

Giovanni Marsicano, José Cruz et Arnau Busquets-Garcia : plasticité synaptique et physiologie du système endocannabinoïde (Magendie, Bordeaux)

Isabelle Matias : dosage des endocannabinoïdes (Magendie, Bordeaux)



Liste des publications

Janthakhin Y., Rincel M., Costa A-M., Darnaudéry M., Ferreira G. Perinatal high-fat diet exposure leads to alterations of neuronal morphology in the hippocampus and basolateral amygdala at adulthood. En cours de soumission.

Janthakhin Y., Cruz JF., Busquets-garcia A., Alfós S., Helbling J-C., Matias I., Marsicano G., Ferreira G. Adolescent high-fat diet intake impairs recognition memory consolidation through hippocampal endocannabinoid system. En préparation.

Tantot F., Naneix F., Glangetas C., Kaufling J., De Smedt-Peyrusse V., Pape JR., **Janthakhin Y.**, Boitard C., Marchand A., Vancassel S., Trifilieff P., Georges F., Coutureau E., Ferreira G. Consumption of high-fat diet sensitizes the mesolimbic dopaminergic system. En preparation.

De medeiros GF., Lafenêtre P., Mehta MM., **Janthakhin Y.**, Cerpa JC., Ducroix-Crepy C, Helbling J-C., Ferreira G., Moisan MP. Corticosteroid binding globulin deficiency specifically impairs hippocampal-dependent memory consolidation. En préparation.

Présentations affichées

Janthakhin Y., Busquet-Garcia A., Tantot F., Biyong E., Helbling JC., Alfós S., Marsicano G., Ferreira G. (2016). Glucocorticoid and endocannabinoid systems are involved in memory consolidation impairment induced by adolescent consumption of obesogenic diet in mice. Journée Bordeaux Neurocampus (Bordeaux, France, 7 Juin 2016)

Rincel M, **Janthakhin Y.**, Nicolas V, Costa AM, Laye S, Darnaudery M and Ferreira G. (2016). Impact of a perinatal high-fat diet on amygdala function in rats. Journée Bordeaux Neurocampus (Bordeaux, France, 7 Juin 2016)

Janthakhin Y., Busquet-Garcia A., Tantot F., Biyong E., Helbling JC., Alfós S., Marsicano G., Ferreira G. (2016). Glucocorticoid and endocannabinoid systems are involved in memory consolidation impairment induced by adolescent consumption of obesogenic diet in mice. GDR NeuroMem (Lacanau, France, 17-20 Mai 2016)

Rincel M, **Janthakhin Y.**, Nicolas V, Costa AM, Laye S, Darnaudery M and Ferreira G. (2016). Impact of a perinatal high-fat diet on amygdala function in rats. GDR NeuroMem (Lacanau, France, 17-20 Mai 2016)

Janthakhin Y., Busquet-Garcia A., Tantot F., Biyong E., Helbling JC., Alfós S., Marsicano G., Ferreira G. (2016). Glucocorticoid and endocannabinoid systems are involved in memory consolidation impairment induced by adolescent consumption of obesogenic diet in mice.

16ème journée scientifique de l'école doctorale science de la vie et de la santé (Arcachon, France, 6 Avril 2016)

Janthakhin Y., Biyong E., Tantot F., Ferreira De Medeiros G., Helbling JC., Moisan MP., Pallet V. & Ferreira G. (2015). Juvenile high-fat diet consumption impairs memory consolidation depending on emotional levels during training. Société Française des Neurosciences (Montpellier, France, 19-22 Mai 2015)

Tantot F., Glandetas C., Kaufling J., **Janthakhin Y.**, Boitard C., Naneix F., De Smedt-Peyrusse V., Pape JR., Marchand A., Laye S., Trifilieff P., Vancassel S., Georges F., Coutureau E. & Ferreira G. (2014). Effect of juvenile high-fat diet consumption on mesolimbic dopaminergic system. Société Française des Neurosciences (Montpellier, France, 19-22 Mai 2015)

Janthakhin Y., Biyong E., Tantot F., Ferreira De Medeiros G., Helbling JC., Moisan MP., Pallet V. & Ferreira G. (2015). Juvenile high-fat diet consumption impairs memory consolidation depending on emotional levels during training. 1st International Symposium on "Mechanisms underlying Memory Storage and Pathological Learning" (Montpellier, France, 19 Mai 2015)

Janthakhin Y., Biyong E., Tantot F., Ferreira G. (2015). Juvenile high-fat diet consumption impairs memory consolidation associated with a decrease of c-fos activation in hippocampal CA3 subregion. Journée Bordeaux Neurocampus (Bordeaux, France, 6 Mai 2015)

Janthakhin Y., Biyong E., Tantot F., Ferreira G. (2015). Juvenile high-fat diet consumption impairs memory consolidation associated with a decrease of c-fos activation in hippocampal CA3 subregion. 15ème journée scientifique de l'école doctorale science de la vie et de la santé (Arcachon, France, 16 Avril 2015)

Janthakhin Y., Tantot F., Boitard C., Nicolas V., Trifilieff P., Darnaudery M. & Ferreira G. (2014). Differential effects of perinatal, juvenile and adult exposures to high-fat diet on odor aversion memory in rodents. GDR NeuroMem (Grasse, France, 13-16 Mai 2014)

Liste des abréviations

AEA	N-arachidonylethanolamide
AGC	aversion gustative conditionnée
AgRP	<i>agouti-related protein</i>
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate
AMPc	adénosine mono-phosphate cyclique
AOC	aversion olfactive conditionnée
ARNm	acide ribonucléique messenger
AVP	arginine vasopressine
BDNF	facteur neuro-trophique cérébral (<i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
BHE	barrière hémato-encéphalique
BLA	noyau basolateral de l'amygdale
CA	corne d'Ammon de l'hippocampe
CB1	récepteurs endocannabinoïdes de type 1
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>)
DG	gyrus denté (<i>dentate gyrus</i>)
DIO	obésité induite par le régime alimentaire (<i>diet-induced obesity</i>)
eCB	endocannabinoïdes
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>)
IL	interleukine
IMC	indice de masse corporelle
Kcal	calories
LPS	lipopolysaccharide
LTD	dépression à long terme (<i>long term depression</i>)
LTP	potentialisation à long terme (<i>long term potentiation</i>)

MR	récepteur des minéralocorticoïdes
MRO	mémoire de reconnaissance d'objet
NMDA	acide N-méthyl-D-aspartique
OMS	organisation mondiale de la santé
PKA	protéine, la kinase A
PVN	noyaux paraventriculaire
THC	tetrahydrocannabinol
TNF	facteur de nécrose tumorale

Liste des figures et tables

Figure 1. Organisation fonctionnelle de l'axe corticotrope.....	12
Figure 2. Structure chimique du cortisol et de la corticostérone.....	19
Figure 3. Biosynthèse de la corticostérone.....	20
Figure 4. Mécanismes d'action des récepteurs au GC : exemple du GR.....	22
Figure 5. La plasticité structurale au sein de l'hippocampe.....	25
Figure 6. La régulation de la libération du glutamate par les glucocorticoïdes.....	27
Figure 7. Distribution du CB ₁ dans le cerveau de la souris adulte.....	38
Figure 8. Structures moléculaires des endocannabinoïdes.....	41
Figure 9. Schéma illustrant le mécanisme de la formation de l'anandamide.....	42
Figure 10. Les voies de la biosynthèse du 2-arachidonoylglycérol (2-AG).....	44
Figure 11. La transduction du signal induite par l'activation du CB ₁	46
Figure 12. Mécanismes d'inhibition de la libération des neurotransmetteurs régulés par les endocannabinoïdes.....	49
Figure 13. Différence périodes de vie : comparaison du développement entre Homme et rongeur.....	57
Figure 14. Décours temporel des processus de la consolidation mnésique.....	65
Figure 15. Classification des systèmes de mémoire selon Henke.....	67
Figure 16. Représentation schématique de l'hippocampe.....	70
Figure 17. La représentation schématique du déroulement de la tâche de reconnaissance d'objet.....	73
Figure 18. Représentation schématique des afférences et des efférences de l'amygdale.....	75
Figure 19. Représentation schématique d'un paradigme du conditionnement aversive.....	77
Figure 20. Représentation schématique d'un paradigme de la préférence	

olfactive conditionnée.....	78
Figure 21. Association entre les taux des GC circulants et la performance mnésique...80	
Figure 22. Représentation schématique des interactions des GC avec le système noradrénergique dans le BLA lors de la consolidation de la mémoire.....81	
Figure 23. Modèle du rôle du GC dans la modulation des effets du système eCB sur la consolidation de la mémoire.....85	
Tableau 1. Effets de la consommation de régimes HL périnatal sur la mémoire et l'apprentissage dépendants de l'hippocampe.....89	
Figure 24. Modèles schématiques illustrant les possibles interactions entre les systèmes GC et eCB lors de la consolidation de la mémoire154	

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abel T, Martin KC, Bartsch D, Kandel ER (1998). Memory suppressor genes: inhibitory constraints on the storage of long-term memory. *Science* **279**: 338–341.
- Aberg MA, Aberg ND, Hedbäck H, Oscarsson J, Eriksson PS (2000). Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **20**: 2896–2903.
- Abrahám I, Juhász G, Kékesi KA, Kovács KJ (1998). Corticosterone peak is responsible for stress-induced elevation of glutamate in the hippocampus. *Stress Amst Neth* **2**: 171–181.
- Abraham WC (2004). Stress-related phenomena. *Hippocampus* **14**: 675–676.
- Abush H, Akirav I (2012). Short- and long-term cognitive effects of chronic cannabinoids administration in late-adolescence rats. *PloS One* **7**: e31731.
- Aggleton JP, Albasser MM, Aggleton DJ, Poirier GL, Pearce JM (2010). Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. *Behav Neurosci* **124**: 55–68.
- Akirav I, Richter-Levin G (2002). Mechanisms of amygdala modulation of hippocampal plasticity. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **22**: 9912–9921.
- Albasser MM, Poirier GL, Aggleton JP (2010). Qualitatively different modes of perirhinal-hippocampal engagement when rats explore novel vs. familiar objects as revealed by c-Fos imaging. *Eur J Neurosci* **31**: 134–147.
- Alger BE (2002). Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog Neurobiol* **68**: 247–286.
- Alzoubi KH, Khabour OF, Salah HA, Hasan Z (2013). Vitamin E prevents high-fat high-carbohydrates diet-induced memory impairment: the role of oxidative stress. *Physiol Behav* **119**: 72–78.
- Amaral DG, Insausti R (1992). Retrograde transport of D-[3H]-aspartate injected into the monkey amygdaloid complex. *Exp Brain Res* **88**: 375–388.
- Andersen SL (2003). Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* **27**: 3–18.

- André A, Gonthier M-P (2010). The endocannabinoid system: its roles in energy balance and potential as a target for obesity treatment. *Int J Biochem Cell Biol* **42**: 1788–1801.
- Andreano JM, Cahill L (2006). Glucocorticoid release and memory consolidation in men and women. *Psychol Sci* **17**: 466–470.
- Arbel I, Kadar T, Silbermann M, Levy A (1994). The effects of long-term corticosterone administration on hippocampal morphology and cognitive performance of middle-aged rats. *Brain Res* **657**: 227–235.
- Ashtari M, Avants B, Cyckowski L, Cervellione KL, Roofeh D, Cook P, *et al* (2011). Medial temporal structures and memory functions in adolescents with heavy cannabis use. *J Psychiatr Res* **45**: 1055–1066.
- Atsak P, Hauer D, Campolongo P, Schelling G, Fornari RV, Roozendaal B (2015). Endocannabinoid signaling within the basolateral amygdala integrates multiple stress hormone effects on memory consolidation. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **40**: 1485–1494.
- Atsak P, Hauer D, Campolongo P, Schelling G, McGaugh JL, Roozendaal B (2012). Glucocorticoids interact with the hippocampal endocannabinoid system in impairing retrieval of contextual fear memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: 3504–3509.

B

- Barker DJ (1990). The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ* **301**: 1111.
- Barker DJP (2004). The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr* **23**: 588S–595S.
- Barrero FJ, Ampuero I, Morales B, Vives F, Dios Luna Del Castillo J de, Hoenicka J, *et al* (2005). Depression in Parkinson's disease is related to a genetic polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1). *Pharmacogenomics J* **5**: 135–141.
- Barros DM, Izquierdo LA, Sant'Anna MK, Quevedo J, Medina JH, McGaugh JL, *et al* (1999). Stimulators of the cAMP cascade reverse amnesia induced by intra-amygdala but not intrahippocampal KN-62 administration. *Neurobiol Learn Mem* **71**: 94–103.
- Baym CL, Khan NA, Monti JM, Raine LB, Drollette ES, Moore RD, *et al* (2014). Dietary lipids are differentially associated with hippocampal-dependent relational memory in prepubescent children. *Am J Clin Nutr* **99**: 1026–1032.
- Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J (2010). The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**: 837–845.

- Beckwith BE, Petros TV, Scaglione C, Nelson J (1986). Dose-dependent effects of hydrocortisone on memory in human males. *Physiol Behav* **36**: 283–286.
- Beinfeld MC, Connolly K (2001). Activation of CB1 cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium-evoked cholecystinin release, a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids. *Neurosci Lett* **301**: 69–71.
- Bell ME, Bhargava A, Soriano L, Laugero K, Akana SF, Dallman MF (2002). Sucrose intake and corticosterone interact with cold to modulate ingestive behaviour, energy balance, autonomic outflow and neuroendocrine responses during chronic stress. *J Neuroendocrinol* **14**: 330–342.
- Bellocchio L, Lafenêtre P, Cannich A, Cota D, Puente N, Grandes P, *et al* (2010). Bimodal control of stimulated food intake by the endocannabinoid system. *Nat Neurosci* **13**: 281–283.
- Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, Maffrand JP, Le Fur G, Oury-Donat F, *et al* (2003). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* **63**: 908–914.
- Berghuis P, Rajnicek AM, Morozov YM, Ross RA, Mulder J, Urbán GM, *et al* (2007). Hardwiring the brain: endocannabinoids shape neuronal connectivity. *Science* **316**: 1212–1216.
- Bermúdez-Rattoni F (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci* **5**: 209–217.
- Bermudez-Silva FJ, Cardinal P, Cota D (2012). The role of the endocannabinoid system in the neuroendocrine regulation of energy balance. *J Psychopharmacol Oxf Engl* **26**: 114–124.
- Bernabeu R, Bevilaqua L, Ardenghi P, Bromberg E, Schmitz P, Bianchin M, *et al* (1997). Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 7041–7046.
- Bilang-Bleuel A, Ulbricht S, Chandramohan Y, De Carli S, Droste SK, Reul JMHM (2005). Psychological stress increases histone H3 phosphorylation in adult dentate gyrus granule neurons: involvement in a glucocorticoid receptor-dependent behavioural response. *Eur J Neurosci* **22**: 1691–1700.

- Bisogno T, Melck D, Bobrov MYu null, Gretskaya NM, Bezuglov VV, De Petrocellis L, *et al* (2000). N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem J* **351 Pt 3**: 817–824.
- Blakemore S-J, Burnett S, Dahl RE (2010). The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp* **31**: 926–933.
- Bliss TV, Lomo T (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* **232**: 331–356.
- Blouin K, Boivin A, Tchernof A (2008). Androgens and body fat distribution. *J Steroid Biochem Mol Biol* **108**: 272–280.
- Blüher M, Engeli S, Klötting N, Berndt J, Fasshauer M, Bátkai S, *et al* (2006). Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes* **55**: 3053–3060.
- Bodnoff SR, Humphreys AG, Lehman JC, Diamond DM, Rose GM, Meaney MJ (1995). Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **15**: 61–69.
- Boitard C, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Layé S, *et al* (2014). Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain Behav Immun* **40**: 9–17.
- Boitard C, Etchamendy N, Sauvant J, Aubert A, Tronel S, Marighetto A, *et al* (2012). Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* **22**: 2095–2100.
- Boitard C, Maroun M, Tantot F, Cavaroc A, Sauvant J, Marchand A, *et al* (2015). Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **35**: 4092–4103.
- Bolla KI, Brown K, Eldreth D, Tate K, Cadet JL (2002). Dose-related neurocognitive effects of marijuana use. *Neurology* **59**: 1337–1343.
- Born JM, Lemmens SGT, Rutters F, Nieuwenhuizen AG, Formisano E, Goebel R, *et al* (2010). Acute stress and food-related reward activation in the brain during food choice during eating in the absence of hunger. *Int J Obes* **34**: 172–181.

- Boukouvelas 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**: 373–382.
- Bowles NP, Hill MN, Bhagat SM, Karatsoreos IN, Hillard CJ, McEwen BS (2012). Chronic, noninvasive glucocorticoid administration suppresses limbic endocannabinoid signaling in mice. *Neuroscience* **204**: 83–89.
- Breuner CW, Orchinik M (2002). Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J Endocrinol* **175**: 99–112.
- Broadbent NJ, Gaskin S, Squire LR, Clark RE (2010). Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **17**: 5–11.
- Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE (2004). Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 14515–14520.
- Brown MW, Xiang JZ (1998). Recognition memory: neuronal substrates of the judgement of prior occurrence. *Prog Neurobiol* **55**: 149–189.
- Brown SM, Wager-Miller J, Mackie K (2002). Cloning and molecular characterization of the rat CB2 cannabinoid receptor. *Biochim Biophys Acta* **1576**: 255–264.
- Brunson KL, Eghbal-Ahmadi M, Bender R, Chen Y, Baram TZ (2001). Long-term, progressive hippocampal cell loss and dysfunction induced by early-life administration of corticotropin-releasing hormone reproduce the effects of early-life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 8856–8861.
- Brunson KL, Kramár E, Lin B, Chen Y, Colgin LL, Yanagihara TK, *et al* (2005). Mechanisms of late-onset cognitive decline after early-life stress. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **25**: 9328–9338.
- Buchanan TW, Lovallo WR (2001). Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* **26**: 307–317.
- Bucherelli C, Baldi E, Mariottini C, Passani MB, Blandina P (2006). Aversive memory reactivation engages in the amygdala only some neurotransmitters involved in consolidation. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **13**: 426–430.
- Buckley NE, McCoy KL, Mezey E, Bonner T, Zimmer A, Felder CC, *et al* (2000). Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice deficient for the cannabinoid CB(2) receptor. *Eur J Pharmacol* **396**: 141–149.
- Buckman LB, Hasty AH, Flaherty DK, Buckman CT, Thompson MM, Matlock BK, *et al* (2014). Obesity induced by a high-fat diet is associated with increased immune cell entry into the central nervous system. *Brain Behav Immun* **35**: 33–42.

- Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, *et al* (2006). Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol* **36**: 485–501.
- Busquets-Garcia A, Gomis-González M, Srivastava RK, Cutando L, Ortega-Alvaro A, Rühle S, *et al* (2016). Peripheral and central CB1 cannabinoid receptors control stress-induced impairment of memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**: 9904–9909.
- Busquets-Garcia A, Puighermanal E, Pastor A, Torre R de la, Maldonado R, Ozaita A (2011). Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. *Biol Psychiatry* **70**: 479–486.
- Butler L, Gerritsen GC (1970). A comparison of the modes of inheritance of diabetes in the Chinese hamster and the KK mouse. *Diabetologia* **6**: 163–167.

C

- Cadogan AK, Alexander SP, Boyd EA, Kendall DA (1997). Influence of cannabinoids on electrically evoked dopamine release and cyclic AMP generation in the rat striatum. *J Neurochem* **69**: 1131–1137.
- Cahill L, Weinberger NM, Roozendaal B, McGaugh JL (1999). Is the amygdala a locus of “conditioned fear”? Some questions and caveats. *Neuron* **23**: 227–228.
- Cameron HA, McKay RD (2001). Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* **435**: 406–417.
- Campolongo P, Ratano P, Manduca A, Scattoni ML, Palmery M, Trezza V, *et al* (2012). The endocannabinoid transport inhibitor AM404 differentially modulates recognition memory in rats depending on environmental aversiveness. *Front Behav Neurosci* **6**: 11.
- Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Hauer D, Schelling G, McGaugh JL, *et al* (2009). Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 4888–4893.
- Cancedda L, Fiumelli H, Chen K, Poo M (2007). Excitatory GABA action is essential for morphological maturation of cortical neurons in vivo. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **27**: 5224–5235.

- Cannich A, Wotjak CT, Kamprath K, Hermann H, Lutz B, Marsicano G (2004). CB1 cannabinoid receptors modulate kinase and phosphatase activity during extinction of conditioned fear in mice. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **11**: 625–632.
- Carlsen J (1988). Immunocytochemical localization of glutamate decarboxylase in the rat basolateral amygdaloid nucleus, with special reference to GABAergic innervation of amygdalostriatal projection neurons. *J Comp Neurol* **273**: 513–526.
- Carlson G, Wang Y, Alger BE (2002). Endocannabinoids facilitate the induction of LTP in the hippocampus. *Nat Neurosci* **5**: 723–724.
- Casas M, Chatzi L, Carsin A-E, Amiano P, Guxens M, Kogevinas M, *et al* (2013). Maternal pre-pregnancy overweight and obesity, and child neuropsychological development: two Southern European birth cohort studies. *Int J Epidemiol* **42**: 506–517.
- Castellano C, Rossi-Arnaud C, Cestari V, Costanzi M (2003). Cannabinoids and memory: animal studies. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* **2**: 389–402.
- Castonguay TW, Dallman MF, Stern JS (1986). Some metabolic and behavioral effects of adrenalectomy on obese Zucker rats. *Am J Physiol* **251**: R923-933.
- Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, *et al* (2000). Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science* **288**: 306–313.
- Chakrabarti A, Onaivi ES, Chaudhuri G (1995). Cloning and sequencing of a cDNA encoding the mouse brain-type cannabinoid receptor protein. *DNA Seq J DNA Seq Mapp* **5**: 385–388.
- Chan PK, Chan SC, Yung WH (1998). Presynaptic inhibition of GABAergic inputs to rat substantia nigra pars reticulata neurones by a cannabinoid agonist. *Neuroreport* **9**: 671–675.
- Chan PK, Yung WH (1998). Occlusion of the presynaptic action of cannabinoids in rat substantia nigra pars reticulata by cadmium. *Neurosci Lett* **249**: 57–60.
- Chandramohan Y, Droste SK, Arthur JSC, Reul JMHM (2008). The forced swimming-induced behavioural immobility response involves histone H3 phospho-acetylation and c-Fos induction in dentate gyrus granule neurons via activation of the N-methyl-D-aspartate/extracellular signal-regulated kinase/mitogen- and stress-activated kinase signalling pathway. *Eur J Neurosci* **27**: 2701–2713.
- Chang G-Q, Gaysinskaya V, Karatayev O, Leibowitz SF (2008). Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons

- that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **28**: 12107–12119.
- Chaouloff F, Groc L (2011). Temporal modulation of hippocampal excitatory transmission by corticosteroids and stress. *Front Neuroendocrinol* **32**: 25–42.
- Chareyron LJ, Lavenex PB, Lavenex P (2012). Postnatal development of the amygdala: a stereological study in rats. *J Comp Neurol* **520**: 3745–3763.
- Chavarría-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, Walss-Bass C, Quezada P, Dassori A, *et al* (2008). Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet Off Publ Int Soc Psychiatr Genet* **147**: 279–284.
- Chavatte-Palmer P, Tarrade A, Lévy R (2012). [Developmental origins of health and disease in adults: role of maternal environment]. *Gynecol Obstet Fertil* **40**: 517–519.
- Cheke LG, Simons JS, Clayton NS (2016). Higher body mass index is associated with episodic memory deficits in young adults. *Q J Exp Psychol* **69**: 2305–2316.
- Chen DY, Bambah-Mukku D, Pollonini G, Alberini CM (2012). Glucocorticoid receptors recruit the CaMKII α -BDNF-CREB pathways to mediate memory consolidation. *Nat Neurosci* **15**: 1707–1714.
- Chen Y, Bender RA, Brunson KL, Pomper JK, Grigoriadis DE, Wurst W, *et al* (2004). Modulation of dendritic differentiation by corticotropin-releasing factor in the developing hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 15782–15787.
- Chen Y, Fenoglio KA, Dubé CM, Grigoriadis DE, Baram TZ (2006). Cellular and molecular mechanisms of hippocampal activation by acute stress are age-dependent. *Mol Psychiatry* **11**: 992–1002.
- Chevaleyre V, Castillo PE (2003). Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* **38**: 461–472.
- Chevaleyre V, Takahashi KA, Castillo PE (2006). Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci* **29**: 37–76.
- Chi P, Greengard P, Ryan TA (2003). Synaptic vesicle mobilization is regulated by distinct synapsin I phosphorylation pathways at different frequencies. *Neuron* **38**: 69–78.
- Citri A, Malenka RC (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **33**: 18–41.

- Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM (2010). Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**: 2652–2657.
- Clayton NS, Dickinson A (1998). Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* **395**: 272–274.
- Cluny NL, Chambers AP, Vemuri VK, Wood JT, Eller LK, Freni C, *et al* (2011). The neutral cannabinoid CB₁ receptor antagonist AM4113 regulates body weight through changes in energy intake in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* **97**: 537–543.
- Cohen SJ, Munchow AH, Rios LM, Zhang G, Asgeirsdóttir HN, Stackman RW (2013). The rodent hippocampus is essential for nonspatial object memory. *Curr Biol CB* **23**: 1685–1690.
- Cohen SJ, Stackman RW (2015). Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behav Brain Res* **285**: 105–117.
- Colley PA, Sheu FS, Routtenberg A (1990). Inhibition of protein kinase C blocks two components of LTP persistence, leaving initial potentiation intact. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **10**: 3353–3360.
- Conrad CD, LeDoux JE, Magariños AM, McEwen BS (1999). Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav Neurosci* **113**: 902–913.
- Cook SC, Wellman CL (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *J Neurobiol* **60**: 236–248.
- Cota D, Marsicano G, Tschöp M, Grübler Y, Flachskamm C, Schubert M, *et al* (2003). The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest* **112**: 423–431.
- Côté M, Matias I, Lemieux I, Petrosino S, Alméras N, Després J-P, *et al* (2007). Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. *Int J Obes* **31**: 692–699.
- Cournot M, Marquié JC, Ansiau D, Martinaud C, Fonds H, Ferrières J, *et al* (2006). Relation between body mass index and cognitive function in healthy middle-aged men and women. *Neurology* **67**: 1208–1214.
- Coussens CM, Kerr DS, Abraham WC (1997). Glucocorticoid receptor activation lowers the threshold for NMDA-receptor-dependent homosynaptic long-term depression in the hippocampus through activation of voltage-dependent calcium channels. *J Neurophysiol* **78**: 1–9.

- Cressman VL, Balaban J, Steinfeld S, Shemyakin A, Graham P, Parisot N, *et al* (2010). Prefrontal cortical inputs to the basal amygdala undergo pruning during late adolescence in the rat. *J Comp Neurol* **518**: 2693–2709.
- Crews F, He J, Hodge C (2007). Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacol Biochem Behav* **86**: 189–199.
- Curran T, DeBuse C, Woroch B, Hirshman E (2006). Combined pharmacological and electrophysiological dissociation of familiarity and recollection. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 1979–1985.
- Cushman JD, Maldonado J, Kwon EE, Garcia AD, Fan G, Imura T, *et al* (2012). Juvenile neurogenesis makes essential contributions to adult brain structure and plays a sex-dependent role in fear memories. *Front Behav Neurosci* **6**: 3.
- Czéh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, Biurrun G de, Kampen M van, *et al* (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 12796–12801.

D

- Dagenais GR, Yi Q, Mann JFE, 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**: 54–60.
- Dallman MF, Fleur SE la, Pecoraro NC, Gomez F, Houshyar H, Akana SF (2004). Minireview: glucocorticoids--food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. *Endocrinology* **145**: 2633–2638.
- Dallman MF, Pecoraro NC, Fleur SE la (2005). Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun* **19**: 275–280.
- 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**: 26–33.
- De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* **19**: 269–301.
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA (2005). Episodic-like memory in mice: simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. *Brain Res Brain Res Protoc* **16**: 10–19.

- Derkinderen P, Toutant M, Kadaré G, Ledent C, Parmentier M, Girault JA (2001). Dual role of Fyn in the regulation of FAK+6,7 by cannabinoids in hippocampus. *J Biol Chem* **276**: 38289–38296.
- Derkinderen P, Valjent E, Toutant M, Corvol J-C, Enslen H, Ledent C, *et al* (2003). Regulation of extracellular signal-regulated kinase by cannabinoids in hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **23**: 2371–2382.
- Desgranges B, Lévy F, Ferreira G (2008). Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res* **1236**: 166–175.
- Després J-P, Golay A, Sjöström L, Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group (2005). Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* **353**: 2121–2134.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, *et al* (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* **258**: 1946–1949.
- Deyama S, Yamamoto J, Machida T, Tanimoto S, Nakagawa T, Kaneko S, *et al* (2007). Inhibition of glutamatergic transmission by morphine in the basolateral amygdaloid nucleus reduces pain-induced aversion. *Neurosci Res* **59**: 199–204.
- Di Marzo V (2011). Endocannabinoid signaling in the brain: biosynthetic mechanisms in the limelight. *Nat Neurosci* **14**: 9–15.
- Di Marzo V, Côté M, Matias I, Lemieux I, Arsenault BJ, Cartier A, *et al* (2009). Changes in plasma endocannabinoid levels in viscerally obese men following a 1 year lifestyle modification programme and waist circumference reduction: associations with changes in metabolic risk factors. *Diabetologia* **52**: 213–217.
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, *et al* (1994). Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* **372**: 686–691.
- Di S, Boudaba C, Popescu IR, Weng F-J, Harris C, Marcheselli VL, *et al* (2005). Activity-dependent release and actions of endocannabinoids in the rat hypothalamic supraoptic nucleus. *J Physiol* **569**: 751–760.
- Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, Tasker JG (2003). Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **23**: 4850–4857.
- Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Halonen J, Zoladz PR (2007). The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological

- basis of stress-induced amnesia, flashbulb and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. *Neural Plast* **2007**: 60803.
- Diamond DM, Fleshner M, Rose GM (1994). Psychological stress repeatedly blocks hippocampal primed burst potentiation in behaving rats. *Behav Brain Res* **62**: 1–9.
- Diamond DM, Park CR, Woodson JC (2004). Stress generates emotional memories and retrograde amnesia by inducing an endogenous form of hippocampal LTP. *Hippocampus* **14**: 281–291.
- Dolcos F, LaBar KS, Cabeza R (2004). Interaction between the amygdala and the medial temporal lobe memory system predicts better memory for emotional events. *Neuron* **42**: 855–863.
- Domenici MR, Azad SC, Marsicano G, Schierloh A, Wotjak CT, Dodt H-U, *et al* (2006). Cannabinoid receptor type 1 located on presynaptic terminals of principal neurons in the forebrain controls glutamatergic synaptic transmission. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 5794–5799.
- Drazen DL, Wortman MD, Schwartz MW, Clegg DJ, Dijk G van, Woods SC, *et al* (2003). Adrenalectomy alters the sensitivity of the central nervous system melanocortin system. *Diabetes* **52**: 2928–2934.
- Du J, Wang Y, Hunter R, Wei Y, Blumenthal R, Falke C, *et al* (2009). Dynamic regulation of mitochondrial function by glucocorticoids. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 3543–3548.
- Dubreucq S, Matias I, Cardinal P, Häring M, Lutz B, Marsicano G, *et al* (2012). Genetic dissection of the role of cannabinoid type-1 receptors in the emotional consequences of repeated social stress in mice. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **37**: 1885–1900.
- Dubrovsky BO, Liguornik MS, Noble P, Gijsbers K (1987). Effects of 5 alpha-dihydrocorticosterone on evoked responses and long-term potentiation. *Brain Res Bull* **19**: 635–638.
- 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**: 447–454.
- Dudai Y (1996). Consolidation: fragility on the road to the engram. *Neuron* **17**: 367–370.
- Dudai Y (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* **55**: 51–86.

- Duffy S, Labrie V, Roder JC (2008). D-serine augments NMDA-NR2B receptor-dependent hippocampal long-term depression and spatial reversal learning. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **33**: 1004–1018.
- Duvarci S, Paré D (2007). Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **27**: 4482–4491.

E

- Eacott MJ, Norman G (2004). Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory? *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **24**: 1948–1953.
- Eichenbaum H (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* **1**: 41–50.
- Eichenbaum H, Schoenbaum G, Young B, Bunsey M (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 13500–13507.
- Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* **30**: 123–152.
- 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 J Int Assoc Study Obes* **27**: 260–268.
- Ellgren M, Artmann A, Tkalych O, Gupta A, Hansen HS, Hansen SH, *et al* (2008). Dynamic changes of the endogenous cannabinoid and opioid mesocorticolimbic systems during adolescence: THC effects. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol* **18**: 826–834.
- Elmquist JK, Coppari R, Balthasar N, Ichinose M, Lowell BB (2005). Identifying hypothalamic pathways controlling food intake, body weight, and glucose homeostasis. *J Comp Neurol* **493**: 63–71.
- Engeli S, Heusser K, Janke J, Gorzelniak K, Bátkai S, Pacher P, *et al* (2008). Peripheral endocannabinoid system activity in patients treated with sibutramine. *Obes Silver Spring Md* **16**: 1135–1137.
- Ennaceur A, Delacour J (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res* **31**: 47–59.
- Erion JR, Wosiski-Kuhn M, Dey A, Hao S, Davis CL, Pollock NK, *et al* (2014). Obesity elicits interleukin 1-mediated deficits in hippocampal synaptic plasticity. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **34**: 2618–2631.

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**: 197–211.

Evanson NK, Tasker JG, Hill MN, Hillard CJ, Herman JP (2010). Fast feedback inhibition of the HPA axis by glucocorticoids is mediated by endocannabinoid signaling. *Endocrinology* **151**: 4811–4819.

F

Faber ES, Callister RJ, Sah P (2001). Morphological and electrophysiological properties of principal neurons in the rat lateral amygdala in vitro. *J Neurophysiol* **85**: 714–723.

Fegley D, Kathuria S, Mercier R, Li C, Goutopoulos A, Makriyannis A, *et al* (2004). Anandamide transport is independent of fatty-acid amide hydrolase activity and is blocked by the hydrolysis-resistant inhibitor AM1172. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 8756–8761.

Felder CC, Briley EM, Axelrod J, Simpson JT, Mackie K, Devane WA (1993). Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**: 7656–7660.

Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, *et al* (1995). Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* **48**: 443–450.

Feldman S, Conforti N (1981). Amygdalectomy Inhibits adrenocortical responses to somatosensory and olfactory stimulation. *Neuroendocrinology* **32**: 330–334.

Fendler K, Karmos G, Telegdy G (1961). The effect of hippocampal lesion on pituitary-adrenal function. *Acta Physiol Acad Sci Hung* **20**: 293–297.

Férézou-Viala J, Roy A-F, Sérougne C, Gripois D, Parquet M, Bailleux V, *et al* (2007). Long-term consequences of maternal high-fat feeding on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **293**: R1056-1062.

Ferry B, Magistretti PJ, Pralong E (1997). Noradrenaline modulates glutamate-mediated neurotransmission in the rat basolateral amygdala in vitro. *Eur J Neurosci* **9**: 1356–1364.

- Fleur SE la (2006). The effects of glucocorticoids on feeding behavior in rats. *Physiol Behav* **89**: 110–114.
- Foilb AR, Lui P, Romeo RD (2011). The transformation of hormonal stress responses throughout puberty and adolescence. *J Endocrinol* **210**: 391–398.
- Fontes MA, Bolla KI, Cunha PJ, Almeida PP, Jungerman F, Laranjeira RR, *et al* (2011). Cannabis use before age 15 and subsequent executive functioning. *Br J Psychiatry J Ment Sci* **198**: 442–447.
- Ford GK, Al-Barazanji KA, Wilson S, Jones DNC, Harbuz MS, Jessop DS (2005). Orexin expression and function: glucocorticoid manipulation, stress, and feeding studies. *Endocrinology* **146**: 3724–3731.
- Foster MT, Warne JP, Ginsberg AB, Horneman HF, Pecoraro NC, Akana SF, *et al* (2009). Palatable foods, stress, and energy stores sculpt corticotropin-releasing factor, adrenocorticotropin, and corticosterone concentrations after restraint. *Endocrinology* **150**: 2325–2333.
- Foy MR, Stanton ME, Levine S, Thompson RF (1987). Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behav Neural Biol* **48**: 138–149.
- Francis H, Stevenson R (2013). The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* **63**: 119–128.
- Freeman LR, Granholm A-CE (2012). Vascular changes in rat hippocampus following a high saturated fat and cholesterol diet. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* **32**: 643–653.
- Freund TF, Katona I, Piomelli D (2003). Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* **83**: 1017–1066.
- Frey S, Bergado-Rosado J, Seidenbecher T, Pape HC, Frey JU (2001). Reinforcement of early long-term potentiation (early-LTP) in dentate gyrus by stimulation of the basolateral amygdala: heterosynaptic induction mechanisms of late-LTP. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: 3697–3703.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988). Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res* **452**: 57–65.

G

- Gao Y, Vasilyev DV, Goncalves MB, Howell FV, Hobbs C, Reisenberg M, *et al* (2010). Loss of retrograde endocannabinoid signaling and reduced adult neurogenesis in diacylglycerol lipase knock-out mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**: 2017–2024.
- Gazzerro P, Caruso MG, Notarnicola M, Misciagna G, Guerra V, Laezza C, *et al* (2007). Association between cannabinoid type-1 receptor polymorphism and body mass index in a southern Italian population. *Int J Obes* **31**: 908–912.
- Gean PW, Huang CC, Lin JH, Tsai JJ (1992). Sustained enhancement of NMDA receptor-mediated synaptic potential by isoproterenol in rat amygdalar slices. *Brain Res* **594**: 331–334.
- Gérard C, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M (1990). Nucleotide sequence of a human cannabinoid receptor cDNA. *Nucleic Acids Res* **18**: 7142.
- Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM (2002). Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat Neurosci* **5**: 446–451.
- Ghetti S, Bunge SA (2012). Neural changes underlying the development of episodic memory during middle childhood. *Dev Cogn Neurosci* **2**: 381–395.
- Gifford AN, Ashby CR (1996). Electrically evoked acetylcholine release from hippocampal slices is inhibited by the cannabinoid receptor agonist, WIN 55212-2, and is potentiated by the cannabinoid antagonist, SR 141716A. *J Pharmacol Exp Ther* **277**: 1431–1436.
- Gilbert PE, Campbell A, Kesner RP (2003). The role of the amygdala in conditioned flavor preference. *Neurobiol Learn Mem* **79**: 118–121.
- Glaser ST, Abumrad NA, Fatade F, Kaczocha M, Studholme KM, Deutsch DG (2003). Evidence against the presence of an anandamide transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 4269–4274.
- Gong J-P, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu Q-R, Tagliaferro PA, Brusco A, *et al* (2006). Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res* **1071**: 10–23.
- Govindarajan A, Rao BSS, Nair D, Trinh M, Mawjee N, Tonegawa S, *et al* (2006). Transgenic brain-derived neurotrophic factor expression causes both anxiogenic and antidepressant effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 13208–13213.
- Gray JM, Vecchiarelli HA, Morena M, Lee TTY, Hermanson DJ, Kim AB, *et al* (2015). Corticotropin-releasing hormone drives anandamide hydrolysis in the amygdala to promote anxiety. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **35**: 3879–3892.

- Greenwood CE, Winocur G (1990). Learning and memory impairment in rats fed a high saturated fat diet. *Behav Neural Biol* **53**: 74–87.
- Griffin G, Tao Q, Abood ME (2000). Cloning and pharmacological characterization of the rat CB(2) cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* **292**: 886–894.
- Grillo CA, Piroli GG, Wood GE, Reznikov LR, McEwen BS, Reagan LP (2005). Immunocytochemical analysis of synaptic proteins provides new insights into diabetes-mediated plasticity in the rat hippocampus. *Neuroscience* **136**: 477–486.
- Grillo CA, Risher M, Macht VA, Bumgardner AL, Hang A, Gabriel C, *et al* (2015). Repeated restraint stress-induced atrophy of glutamatergic pyramidal neurons and decreases in glutamatergic efflux in the rat amygdala are prevented by the antidepressant agomelatine. *Neuroscience* **284**: 430–443.
- Groc L, Choquet D, Chaouloff F (2008). The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation. *Nat Neurosci* **11**: 868–870.
- Grunberg NE, Straub RO (1992). The role of gender and taste class in the effects of stress on eating. *Health Psychol Off J Div Health Psychol Am Psychol Assoc* **11**: 97–100.
- 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**: 222–229.
- Gustafson DR, Karlsson C, Skoog I, Rosengren L, Lissner L, Blennow K (2007). Mid-life adiposity factors relate to blood-brain barrier integrity in late life. *J Intern Med* **262**: 643–650.
- Guzowski JF, McGaugh JL (1997). Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 2693–2698.

H

- Hammond RS, Tull LE, Stackman RW (2004). On the delay-dependent involvement of the hippocampus in object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem* **82**: 26–34.
- Hampson RE, Mu J, Deadwyler SA (2000). Cannabinoid and kappa opioid receptors reduce potassium K current via activation of G(s) proteins in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol* **84**: 2356–2364.
- Han J, Kesner P, Metna-Laurent M, Duan T, Xu L, Georges F, *et al* (2012). Acute cannabinoids impair working memory through astroglial CB1 receptor modulation of hippocampal LTD. *Cell* **148**: 1039–1050.

- Hansson AC, Sommer WH, Metsis M, Strömberg I, Agnati LF, Fuxe K (2006). Corticosterone actions on the hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression are mediated by exon IV promoter. *J Neuroendocrinol* **18**: 104–114.
- Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, *et al* (2001). 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 3662–3665.
- Hanus L, Gopher A, Almog S, Mechoulam R (1993). Two new unsaturated fatty acid ethanolamides in brain that bind to the cannabinoid receptor. *J Med Chem* **36**: 3032–3034.
- Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H (2002). Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci* **5**: 405–414.
- Harrold JA, Elliott JC, King PJ, Widdowson PS, Williams G (2002). Down-regulation of cannabinoid-1 (CB-1) receptors in specific extrahypothalamic regions of rats with dietary obesity: a role for endogenous cannabinoids in driving appetite for palatable food? *Brain Res* **952**: 232–238.
- Hashimoto Y, Ohno-Shosaku T, Kano M (2007). Presynaptic monoacylglycerol lipase activity determines basal endocannabinoid tone and terminates retrograde endocannabinoid signaling in the hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **27**: 1211–1219.
- He J, Crews FT (2007). Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacol Biochem Behav* **86**: 327–333.
- He JC, Neves SR, Jordan JD, Iyengar R (2006). Role of the Go/i signaling network in the regulation of neurite outgrowth. *Can J Physiol Pharmacol* **84**: 687–694.
- Hegoburu C, Sevelinges Y, Thévenet M, Gervais R, Parrot S, Mouly A-M (2009). Differential dynamics of amino acid release in the amygdala and olfactory cortex during odor fear acquisition as revealed with simultaneous high temporal resolution microdialysis. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **16**: 687–697.
- Heng L, Beverley JA, Steiner H, Tseng KY (2011). Differential developmental trajectories for CB1 cannabinoid receptor expression in limbic/associative and sensorimotor cortical areas. *Synap N Y N* **65**: 278–286.
- Henke K (2010). A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nat Rev Neurosci* **11**: 523–532.

- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, Costa BR de, *et al* (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**: 1932–1936.
- Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, *et al* (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* **24**: 151–180.
- 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 Rev Bras Pesqui Médicas E Biológicas Soc Bras Biofísica Al* **45**: 292–298.
- Hill MN, Hillard CJ, McEwen BS (2011a). Alterations in corticolimbic dendritic morphology and emotional behavior in cannabinoid CB1 receptor-deficient mice parallel the effects of chronic stress. *Cereb Cortex N Y N 1991* **21**: 2056–2064.
- Hill MN, Karatsoreos IN, Hillard CJ, McEwen BS (2010). Rapid elevations in limbic endocannabinoid content by glucocorticoid hormones in vivo. *Psychoneuroendocrinology* **35**: 1333–1338.
- Hill MN, McLaughlin RJ, Morrish AC, Viau V, Floresco SB, Hillard CJ, *et al* (2009). Suppression of amygdalar endocannabinoid signaling by stress contributes to activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **34**: 2733–2745.
- Hill MN, McLaughlin RJ, Pan B, Fitzgerald ML, Roberts CJ, Lee TT-Y, *et al* (2011b). Recruitment of prefrontal cortical endocannabinoid signaling by glucocorticoids contributes to termination of the stress response. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **31**: 10506–10515.
- Hill MN, Patel S, Carrier EJ, Rademacher DJ, Ormerod BK, Hillard CJ, *et al* (2005). Downregulation of endocannabinoid signaling in the hippocampus following chronic unpredictable stress. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **30**: 508–515.
- Hinkle SN, Schieve LA, Stein AD, Swan DW, Ramakrishnan U, Sharma AJ (2012). Associations between maternal prepregnancy body mass index and child neurodevelopment at 2 years of age. *Int J Obes 2005* **36**: 1312–1319.
- Hoffman AF, Lupica CR (2000). Mechanisms of cannabinoid inhibition of GABA(A) synaptic transmission in the hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **20**: 2470–2479.

- Hoffman AF, Oz M, Yang R, Lichtman AH, Lupica CR (2007). Opposing actions of chronic Delta9-tetrahydrocannabinol and cannabinoid antagonists on hippocampal long-term potentiation. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **14**: 63–74.
- Holmes A, Wellman CL (2009). Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* **33**: 773–783.
- Howlett AC (1995). Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **35**: 607–634.
- Hsu TM, Konanur VR, Taing L, Usui R, Kayser BD, Goran MI, *et al* (2015). Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. *Hippocampus* **25**: 227–239.
- Huang CC, Hsu KS, Gean PW (1996). Isoproterenol potentiates synaptic transmission primarily by enhancing presynaptic calcium influx via P- and/or Q-type calcium channels in the rat amygdala. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **16**: 1026–1033.
- Huang CC, Lo SW, Hsu KS (2001). Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *J Physiol* **532**: 731–748.
- Huang C-C, Yang C-H, Hsu K-S (2005). Do stress and long-term potentiation share the same molecular mechanisms? *Mol Neurobiol* **32**: 223–235.
- Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, Al-Hayani A, De Petrocellis L, Fezza F, *et al* (2002). An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 8400–8405.
- Huang YY, Colley PA, Routtenberg A (1992). Postsynaptic then presynaptic protein kinase C activity may be necessary for long-term potentiation. *Neuroscience* **49**: 819–827.
- Huang YY, Kandel ER (1995). D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**: 2446–2450.
- Huff NC, Frank M, Wright-Hardesty K, Sprunger D, Matus-Amat P, Higgins E, *et al* (2006). Amygdala regulation of immediate-early gene expression in the hippocampus induced by contextual fear conditioning. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 1616–1623.
- Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL (1966). Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* **153**: 1127–1128.

I

Ikegaya Y, Nakanishi K, Saito H, Abe K (1997). Amygdala beta-noradrenergic influence on hippocampal long-term potentiation in vivo. *Neuroreport* **8**: 3143–3146.

Ishac EJ, Jiang L, Lake KD, Varga K, Abood ME, Kunos G (1996). Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br J Pharmacol* **118**: 2023–2028.

J

Jacobson L (2014). Forebrain glucocorticoid receptor gene deletion attenuates behavioral changes and antidepressant responsiveness during chronic stress. *Brain Res* **1583**: 109–121.

Jamshidi N, Taylor DA (2001). Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. *Br J Pharmacol* **134**: 1151–1154.

Jaworowska A, Blackham T, Davies IG, Stevenson L (2013). Nutritional challenges and health implications of takeaway and fast food. *Nutr Rev* **71**: 310–318.

Jbilo O, Ravinet-Trillou C, Arnone M, Buisson I, Bribes E, Péleraux A, *et al* (2005). The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* **19**: 1567–1569.

Jennings EA, Vaughan CW, Christie MJ (2001). Cannabinoid actions on rat superficial medullary dorsal horn neurons in vitro. *J Physiol* **534**: 805–812.

Jerusalinsky D, Quillfeldt JA, Walz R, Da Silva RC, Medina JH, Izquierdo I (1994). Post-training intrahippocampal infusion of protein kinase C inhibitors causes amnesia in rats. *Behav Neural Biol* **61**: 107–109.

Jessop DS, Dallman MF, Fleming D, Lightman SL (2001). Resistance to glucocorticoid feedback in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* **86**: 4109–4114.

Jj K, Mr F, Rf T (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 4750–4753.

Joëls M (2007). Role of corticosteroid hormones in the dentate gyrus. *Prog Brain Res* **163**: 355–370.

Jovanovic JN, Czernik AJ, Fienberg AA, Greengard P, Sihra TS (2000). Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release. *Nat Neurosci* **3**: 323–329.

K

- Kaczmarczyk MM, Machaj AS, Chiu GS, Lawson MA, Gainey SJ, York JM, *et al* (2013). Methylphenidate prevents high-fat diet (HFD)-induced learning/memory impairment in juvenile mice. *Psychoneuroendocrinology* **38**: 1553–1564.
- Kandel ER (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* **294**: 1030–1038.
- 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 JAD* **21**: 207–219.
- Kaouane N, Porte Y, Vallée M, Brayda-Bruno L, Mons N, Calandreau L, *et al* (2012). Glucocorticoids can induce PTSD-like memory impairments in mice. *Science* **335**: 1510–1513.
- Karin M (1998). New Twists in Gene Regulation by Glucocorticoid Receptor: Is DNA Binding Dispensable? *Cell* **93**: 487–490.
- Karst H, Berger S, Erdmann G, Schütz G, Joëls M (2010). Metaplasticity of amygdalar responses to the stress hormone corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**: 14449–14454.
- Karst H, Berger S, Turiault M, Tronche F, Schütz G, Joëls M (2005a). Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 19204–19207.
- Karst H, Berger S, Turiault M, Tronche F, Schütz G, Joëls M (2005b). Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 19204–19207.
- Katona I, Rancz EA, Acsady L, Ledent C, Mackie K, Hajos N, *et al* (2001). Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: 9506–9518.
- Katona I, Sperlágh B, Sík A, Käfalvi A, Vizi ES, Mackie K, *et al* (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **19**: 4544–4558.
- Kempermann G, Gage FH (1999). New nerve cells for the adult brain. *Sci Am* **280**: 48–53.
- Kempainen S, Pitkänen A (2000). Distribution of parvalbumin, calretinin, and calbindin-D(28k) immunoreactivity in the rat amygdaloid complex and colocalization with gamma-aminobutyric acid. *J Comp Neurol* **426**: 441–467.

- Khan NA, Baym CL, Monti JM, Raine LB, Drollette ES, Scudder MR, *et al* (2015). Central adiposity is negatively associated with hippocampal-dependent relational memory among overweight and obese children. *J Pediatr* **166**: 302–308.e1.
- Kim D, Thayer SA (2001). Cannabinoids inhibit the formation of new synapses between hippocampal neurons in culture. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: RC146.
- Kim H, Yi JH, Choi K, Hong S, Shin KS, Kang SJ (2014). Regional differences in acute corticosterone-induced dendritic remodeling in the rat brain and their behavioral consequences. *BMC Neurosci* **15**: 65.
- 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 Off J Soc Neurosci* **21**: 5222–5228.
- Kim JJ, Song EY, Kosten TA (2006). Stress effects in the hippocampus: synaptic plasticity and memory. *Stress Amst Neth* **9**: 1–11.
- Kim JJ, Yoon KS (1998). Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends Neurosci* **21**: 505–509.
- Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V (2002). Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* **136**: 550–557.
- Kirkwood A, Rioult MC, Bear MF (1996). Experience-dependent modification of synaptic plasticity in visual cortex. *Nature* **381**: 526–528.
- Klein C, Jonas W, Iggena D, Empl L, Rivalan M, Wiedmer P, *et al* (2016). Exercise prevents high-fat diet-induced impairment of flexible memory expression in the water maze and modulates adult hippocampal neurogenesis in mice. *Neurobiol Learn Mem* **131**: 26–35.
- Kloet ER de, Joëls M, Holsboer F (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* **6**: 463–475.
- Kloet ER de, Oitzl MS, Joëls M (1999). Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci* **22**: 422–426.
- Knigge KM (1961). Adrenocortical response to stress in rats with lesions in hippocampus and amygdala. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* **108**: 18–21.
- Knigge KM, Hays M (1963). EVIDENCE OF INHIBITIVE ROLE OF HIPPOCAMPUS IN NEURAL REGULATION OF ACTH RELEASE. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* **114**: 67–69.

- Kondo S, Kondo H, Nakane S, Kodaka T, Tokumura A, Waku K, *et al* (1998). 2-Arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor agonist: identification as one of the major species of monoacylglycerols in various rat tissues, and evidence for its generation through CA2+-dependent and -independent mechanisms. *FEBS Lett* **429**: 152–156.
- Korz V, Frey JU (2003). Stress-related modulation of hippocampal long-term potentiation in rats: Involvement of adrenal steroid receptors. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **23**: 7281–7287.
- Kovačs KJ, Makara GB (1988). Corticosterone and dexamethasone act at different brain sites to inhibit adrenalectomy-induced adrenocorticotropin hypersecretion. *Brain Res* **474**: 205–210.
- Kreitzer AC, Regehr WG (2001). Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron* **29**: 717–727.
- Krugers HJ, Hoogenraad CC, Groc L (2010). Stress hormones and AMPA receptor trafficking in synaptic plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci* **11**: 675–681.
- Kujtan PW, Carlen PL, Kapur BM (1983). delta 9-Tetrahydrocannabinol and cannabidiol: dose-dependent effects on evoked potentials in the hippocampal slice. *Can J Physiol Pharmacol* **61**: 420–426.
- ## L
- Lang EJ, Paré D (1998). Synaptic responsiveness of interneurons of the cat lateral amygdaloid nucleus. *Neuroscience* **83**: 877–889.
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, *et al* (1999). Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* **283**: 401–404.
- Lee TT-Y, Gorzalka BB (2012). Timing is everything: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity across developmental periods. *Neuroscience* **204**: 17–30.
- Lee TT-Y, Hill MN, Hillard CJ, Gorzalka BB (2013). Temporal changes in N-acylethanolamine content and metabolism throughout the peri-adolescent period. *Synap N Y N* **67**: 4–10.
- Legendre A, Harris RBS (2006). Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **291**: R1288-1294.

- Lépinay AL, Larrieu T, Joffre C, Acar N, Gárate I, Castanon N, *et al* (2015). Perinatal high-fat diet increases hippocampal vulnerability to the adverse effects of subsequent high-fat feeding. *Psychoneuroendocrinology* **53**: 82–93.
- Lévénés C, Daniel H, Soubrié P, Crépel F (1998). Cannabinoids decrease excitatory synaptic transmission and impair long-term depression in rat cerebellar Purkinje cells. *J Physiol* **510 (Pt 3)**: 867–879.
- Ligresti A, Morera E, Van Der Stelt M, Monory K, Lutz B, Ortas G, *et al* (2004). Further evidence for the existence of a specific process for the membrane transport of anandamide. *Biochem J* **380**: 265–272.
- Lima MN de, Luft T, Roesler R, Schröder N (2006). Temporary inactivation reveals an essential role of the dorsal hippocampus in consolidation of object recognition memory. *Neurosci Lett* **405**: 142–146.
- Lin C, Shao B, Huang H, Zhou Y, Lin Y (2015). Maternal high fat diet programs stress-induced behavioral disorder in adult offspring. *Physiol Behav* **152**: 119–127.
- Liston C, Miller MM, Goldwater DS, Radley JJ, Rocher AB, Hof PR, *et al* (2006). Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 7870–7874.
- Liu YL, Connoley IP, Wilson CA, Stock MJ (2005). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Int J Obes* **29**: 183–187.
- Llano I, Leresche N, Marty A (1991). Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. *Neuron* **6**: 565–574.
- Lograno MD, Romano MR (2004). Cannabinoid agonists induce contractile responses through Gi/o-dependent activation of phospholipase C in the bovine ciliary muscle. *Eur J Pharmacol* **494**: 55–62.
- Lowy MT, Gault L, Yamamoto BK (1993). Adrenalectomy attenuates stress-induced elevations in extracellular glutamate concentrations in the hippocampus. *J Neurochem* **61**: 1957–1960.
- Lowy MT, Wittenberg L, Yamamoto BK (1995). Effect of acute stress on hippocampal glutamate levels and spectrin proteolysis in young and aged rats. *J Neurochem* **65**: 268–274.

- Lucassen PJ, Naninck EFG, Goudoever JB van, Fitzsimons C, Joels M, Korosi A (2013). Perinatal programming of adult hippocampal structure and function; emerging roles of stress, nutrition and epigenetics. *Trends Neurosci* **36**: 621–631.
- Luine V, Villegas M, Martinez C, McEwen BS (1994). Repeated stress causes reversible impairments of spatial memory performance. *Brain Res* **639**: 167–170.
- Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, Schramek TE (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn* **65**: 209–237.
- 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.
- Lupien SJ, Wilkinson CW, Brière S, Ng Ying Kin NMK, Meaney MJ, Nair NPV (2002). Acute modulation of aged human memory by pharmacological manipulation of glucocorticoids. *J Clin Endocrinol Metab* **87**: 3798–3807.

M

- Maccarrone M, Rossi S, Bari M, De Chiara V, Fezza F, Musella A, *et al* (2008). Anandamide inhibits metabolism and physiological actions of 2-arachidonoylglycerol in the striatum. *Nat Neurosci* **11**: 152–159.
- Maejima T, Hashimoto K, Yoshida T, Aiba A, Kano M (2001). Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron* **31**: 463–475.
- Magariños AM, McEwen BS (1995). Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* **69**: 89–98.
- Magariños AM, Verdugo JM, McEwen BS (1997a). Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 14002–14008.
- Magariños AM, Verdugo JM, McEwen BS (1997b). Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 14002–14008.
- Mailleux P, Vanderhaeghen JJ (1992). Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* **48**: 655–668.
- Makimura H, Mizuno TM, Roberts J, Silverstein J, Beasley J, Mobbs CV (2000). Adrenalectomy reverses obese phenotype and restores hypothalamic melanocortin tone in leptin-deficient ob/ob mice. *Diabetes* **49**: 1917–1923.

- Malcher-Lopes R, Di S, Marcheselli VS, Weng F-J, Stuart CT, Bazan NG, *et al* (2006). Opposing crosstalk between leptin and glucocorticoids rapidly modulates synaptic excitation via endocannabinoid release. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 6643–6650.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999). Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* **285**: 1870–1874.
- 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, Antoniadis CP, Le V, Morris MJ (2016). A diet high in fat and sugar reverses anxiety-like behaviour induced by limited nesting in male rats: Impacts on hippocampal markers. *Psychoneuroendocrinology* **68**: 202–209.
- Maren S, Quirk GJ (2004). Neuronal signalling of fear memory. *Nat Rev Neurosci* **5**: 844–852.
- Maroun M, Akirav I (2008). Arousal and stress effects on consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **33**: 394–405.
- Marsicano G, Lutz B (1999). Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci* **11**: 4213–4225.
- Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC, Bisogno T, Rammes G, Cascio MG, *et al* (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* **418**: 530–534.
- Massa F, Mancini G, Schmidt H, Steindel F, Mackie K, Angioni C, *et al* (2010). Alterations in the hippocampal endocannabinoid system in diet-induced obese mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**: 6273–6281.
- Matias I, Di Marzo V (2007). Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab TEM* **18**: 27–37.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* **346**: 561–564.
- Matsuzawa Y, Nakamura T, Shimomura I, Kotani K (1995). Visceral fat accumulation and cardiovascular disease. *Obes Res* **3 Suppl 5**: 645S–647S.
- 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**: 220–233.

- McDonald AJ (1991). Topographical organization of amygdaloid projections to the caudatoputamen, nucleus accumbens, and related striatal-like areas of the rat brain. *Neuroscience* **44**: 15–33.
- McDonald AJ (1992). Projection neurons of the basolateral amygdala: a correlative Golgi and retrograde tract tracing study. *Brain Res Bull* **28**: 179–185.
- McDonald AJ, Augustine JR (1993). Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala. *Neuroscience* **52**: 281–294.
- McDonald AJ, Mascagni F (2001). Localization of the CB1 type cannabinoid receptor in the rat basolateral amygdala: high concentrations in a subpopulation of cholecystokinin-containing interneurons. *Neuroscience* **107**: 641–652.
- McEwen BS (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* **22**: 105–122.
- McEwen BS (2003). Mood disorders and allostatic load. *Biol Psychiatry* **54**: 200–207.
- McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, *et al* (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nat Neurosci* **18**: 1353–1363.
- McEwen BS, Sapolsky RM (1995). Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* **5**: 205–216.
- McFarland MJ, Porter AC, Rakhshan FR, Rawat DS, Gibbs RA, Barker EL (2004). A role for caveolae/lipid rafts in the uptake and recycling of the endogenous cannabinoid anandamide. *J Biol Chem* **279**: 41991–41997.
- McGaugh JL (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci* **27**: 1–28.
- McIntyre CK, Miyashita T, Setlow B, Marjon KD, Steward O, Guzowski JF, *et al* (2005). Memory-influencing intra-basolateral amygdala drug infusions modulate expression of Arc protein in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 10718–10723.
- McKittrick CR, Magariños AM, Blanchard DC, Blanchard RJ, McEwen BS, Sakai RR (2000). Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites. *Synap N Y N* **36**: 85–94.
- McLaughlin KJ, Gomez JL, Baran SE, Conrad CD (2007). The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms. *Brain Res* **1161**: 56–64.
- McMillen IC, MacLaughlin SM, Muhlhausler BS, Gentili S, Duffield JL, Morrison JL (2008). Developmental origins of adult health and disease: the role of periconceptual and foetal nutrition. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **102**: 82–89.

- McReynolds JR, Anderson KM, Donowho KM, McIntyre CK (2014). Noradrenergic actions in the basolateral complex of the amygdala modulate Arc expression in hippocampal synapses and consolidation of aversive and non-aversive memory. *Neurobiol Learn Mem* **115**: 49–57.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, *et al* (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* **50**: 83–90.
- Mechoulam R, Gaoni Y (1965). A TOTAL SYNTHESIS OF DL-DELTA-1-TETRAHYDROCANNABINOL, THE ACTIVE CONSTITUENT OF HASHISH. *J Am Chem Soc* **87**: 3273–3275.
- Meier MH, Caspi A, Ambler A, Harrington H, Houts R, Keefe RSE, *et al* (2012). Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: E2657-2664.
- Mikuriya TH (1969). Marijuana in medicine: past, present and future. *Calif Med* **110**: 34–40.
- Milner B (1972). Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man. *Clin Neurosurg* **19**: 421–446.
- Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* **20**: 445–468.
- Mingaud F, Le Moine C, Etchamendy N, Mormède 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**: 264–270.
- Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermudez-Rattoni F (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 11417–11422.
- 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 Cold Spring Harb N* **15**: 468–476.
- Misner DL, Sullivan JM (1999). Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **19**: 6795–6805.
- Mitra R, Jadhav S, McEwen BS, Vyas A, Chattarji S (2005). Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 9371–9376.

- Mitra R, Sapolsky RM (2008). Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**: 5573–5578.
- Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T (2003). Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* **119**: 887–897.
- Mockett B, Coussens C, Abraham WC (2002). NMDA receptor-mediated metaplasticity during the induction of long-term depression by low-frequency stimulation. *Eur J Neurosci* **15**: 1819–1826.
- Moghaddam B, Bolinao ML, Stein-Behrens B, Sapolsky R (1994). Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate. *Brain Res* **655**: 251–254.
- Monory K, Massa F, Egertová M, Eder M, Blaudzun H, Westenbroek R, *et al* (2006). The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron* **51**: 455–466.
- Morales-Medina JC, Sanchez F, Flores G, Dumont Y, Quirion R (2009). Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *J Chem Neuroanat* **38**: 266–272.
- Morena M, Campolongo P (2014). The endocannabinoid system: an emotional buffer in the modulation of memory function. *Neurobiol Learn Mem* **112**: 30–43.
- Morena M, Patel S, Bains JS, Hill MN (2016). Neurobiological Interactions Between Stress and the Endocannabinoid System. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **41**: 80–102.
- Morena M, Roozendaal B, Trezza V, Ratano P, Peloso A, Hauer D, *et al* (2014). Endogenous cannabinoid release within prefrontal-limbic pathways affects memory consolidation of emotional training. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**: 18333–18338.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O’Keefe J (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**: 681–683.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **365**: 61–65.
- Musazzi L, Milanese M, Farisello P, Zappettini S, Tardito D, Barbiero VS, *et al* (2010). Acute stress increases depolarization-evoked glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex: the dampening action of antidepressants. *PLoS One* **5**: e8566.
- Myers KP, Sclafani A (2006). Development of learned flavor preferences. *Dev Psychobiol* **48**: 380–388.

N

- Nakao K, Matsuyama K, Matsuki N, Ikegaya Y (2004). Amygdala stimulation modulates hippocampal synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 14270–14275.
- Nakazi M, Bauer U, Nickel T, Kathmann M, Schlicker E (2000). Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB1 receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **361**: 19–24.
- Navarrete M, Araque A (2008). Endocannabinoids mediate neuron-astrocyte communication. *Neuron* **57**: 883–893.
- Niculescu MD, Lupu DS (2009). High fat diet-induced maternal obesity alters fetal hippocampal development. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci* **27**: 627–633.
- Nilsson C, Raun K, Yan F, Larsen MO, Tang-Christensen M (2012). Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin* **33**: 173–181.
- Nilsson L-G, Nilsson E (2009). Overweight and cognition. *Scand J Psychol* **50**: 660–667.
- Noble EE, Kanoski SE (2016). Early life exposure to obesogenic diets and learning and memory dysfunction. *Curr Opin Behav Sci* **9**: 7–14.
- Nogueiras R, Veyrat-Durebex C, Suchanek PM, Klein M, Tschöp J, Caldwell C, *et al* (2008). Peripheral, but not central, CB1 antagonism provides food intake-independent metabolic benefits in diet-induced obese rats. *Diabetes* **57**: 2977–2991.
- Nowicky AV, Teyler TJ, Vardaris RM (1987). The modulation of long-term potentiation by delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat hippocampus, in vitro. *Brain Res Bull* **19**: 663–672.
- Nyaradi A, Foster JK, Hickling S, Li J, Ambrosini GL, Jacques A, *et al* (2014). Prospective associations between dietary patterns and cognitive performance during adolescence. *J Child Psychol Psychiatry* **55**: 1017–1024.

O

- Ohno-Shosaku T, Maejima T, Kano M (2001). Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron* **29**: 729–738.
- Oitzl MS, Kloet ER de (1992). Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav Neurosci* **106**: 62–71.

- Okamoto Y, Wang J, Morishita J, Ueda N (2007). Biosynthetic pathways of the endocannabinoid anandamide. *Chem Biodivers* **4**: 1842–1857.
- Okuda S, Roozendaal B, McGaugh JL (2004). Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 853–858.
- Olijslagers JE, Kloet ER de, Elgersma Y, Woerden GM van, Joëls M, Karst H (2008). Rapid changes in hippocampal CA1 pyramidal cell function via pre- as well as postsynaptic membrane mineralocorticoid receptors. *Eur J Neurosci* **27**: 2542–2550.
- Oliveira Alvares L de, Engelke DS, Diehl F, Scheffer-Teixeira R, Haubrich J, Freitas Cassini L de, *et al* (2010). Stress response recruits the hippocampal endocannabinoid system for the modulation of fear memory. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **17**: 202–209.
- Onaivi ES (2006). Neuropsychobiological evidence for the functional presence and expression of cannabinoid CB2 receptors in the brain. *Neuropsychobiology* **54**: 231–246.
- Oppert J-M, Charreire H (2012). The importance of the food and physical activity environments. *Nestlé Nutr Inst Workshop Ser* **73**: 113–121.
- Orth DN (1995). Cushing's syndrome. *N Engl J Med* **332**: 791–803.
- Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Bátkai S, *et al* (2005). Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest* **115**: 1298–1305.
- O'Sullivan SE (2007). Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br J Pharmacol* **152**: 576–582.

P

- Page KC, Jones EK, Anday EK (2014). Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **306**: R527-537.
- Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R (2006). The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev* **27**: 73–100.
- Paré D, Pape HC, Dong J (1995). Bursting and oscillating neurons of the cat basolateral amygdaloid complex in vivo: electrophysiological properties and morphological features. *J Neurophysiol* **74**: 1179–1191.

- 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**: 111–128.
- Pawlak R, Rao BSS, Melchor JP, Chattarji S, McEwen B, Strickland S (2005). Tissue plasminogen activator and plasminogen mediate stress-induced decline of neuronal and cognitive functions in the mouse hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 18201–18206.
- Pecoraro N, Reyes F, Gomez F, Bhargava A, Dallman MF (2004). Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology* **145**: 3754–3762.
- Pêgo JM, Morgado P, Pinto LG, Cerqueira JJ, Almeida OFX, Sousa N (2008). Dissociation of the morphological correlates of stress-induced anxiety and fear. *Eur J Neurosci* **27**: 1503–1516.
- Perwitz N, Wenzel J, Wagner I, Büning J, Drenckhan M, Zarse K, *et al* (2010). Cannabinoid type 1 receptor blockade induces transdifferentiation towards a brown fat phenotype in white adipocytes. *Diabetes Obes Metab* **12**: 158–166.
- Petrovich GD, Canteras NS, Swanson LW (2001). Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. *Brain Res Rev* **38**: 247–289.
- Pintana H, Apaijai N, Pratchayasakul W, Chattipakorn N, Chattipakorn SC (2012). Effects of metformin on learning and memory behaviors and brain mitochondrial functions in high fat diet induced insulin resistant rats. *Life Sci* **91**: 409–414.
- Piomelli D (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* **4**: 873–884.
- Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, *et al* (2010). Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* **219**: 25–32.
- Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshmati HM, Devin J, Rosenstock J, RIO-North America Study Group (2006). Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* **295**: 761–775.
- Pitkänen 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**: 369–391.

- Pitkänen A, Savander V, LeDoux JE (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci* **20**: 517–523.
- Pitler TA, Alger BE (1992). Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABAA responses in hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **12**: 4122–4132.
- Pope HG, Jacobs A, Mialet JP, Yurgelun-Todd D, Gruber S (1997). Evidence for a sex-specific residual effect of cannabis on visuospatial memory. *Psychother Psychosom* **66**: 179–184.
- Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G (2011). The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci* **13**: 22–37.
- Porter AC, Sauer J-M, Knierman MD, Becker GW, Berna MJ, Bao J, *et al* (2002). Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* **301**: 1020–1024.
- Pratchayasakul W, Kerdphoo S, Petsophonakul P, Pongchaidecha A, Chattipakorn N, Chattipakorn SC (2011). Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone. *Life Sci* **88**: 619–627.
- Puighermanal E, Busquets-Garcia A, Gomis-González M, Marsicano G, Maldonado R, Ozaita A (2013). Dissociation of the pharmacological effects of THC by mTOR blockade. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **38**: 1334–1343.
- Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-Garcia A, Lutz B, Maldonado R, Ozaita A (2009). Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* **12**: 1152–1158.

Q

- Quarta C, Bellocchio L, Mancini G, Mazza R, Cervino C, Braulke LJ, *et al* (2010). CB(1) signaling in forebrain and sympathetic neurons is a key determinant of endocannabinoid actions on energy balance. *Cell Metab* **11**: 273–285.
- Quervain DJ-F de, Aerni A, Schelling G, Roozendaal B (2009). Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Front Neuroendocrinol* **30**: 358–370.
- Quinn HR, Matsumoto I, Callaghan PD, Long LE, Arnold JC, Gunasekaran N, *et al* (2008). Adolescent rats find repeated Delta(9)-THC less aversive than adult rats but display greater residual cognitive deficits and changes in hippocampal protein expression following exposure. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **33**: 1113–1126.

Quirarte GL, Roozendaal B, McGaugh JL (1997). Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 14048–14053.

Quirk GJ, Muller RU, Kubie JL, Ranck JB (1992). The positional firing properties of medial entorhinal neurons: description and comparison with hippocampal place cells. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **12**: 1945–1963.

R

Radley JJ, Rocher AB, Janssen WGM, Hof PR, McEwen BS, Morrison JH (2005). Reversibility of apical dendritic retraction in the rat medial prefrontal cortex following repeated stress. *Exp Neurol* **196**: 199–203.

Radley JJ, Sisti HM, Hao J, Rocher AB, McCall T, Hof PR, *et al* (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* **125**: 1–6.

Ramírez-López MT, Vázquez M, Bindila L, Lomazzo E, Hofmann C, Blanco RN, *et al* (2015). Exposure to a Highly Caloric Palatable Diet During Pregestational and Gestational Periods Affects Hypothalamic and Hippocampal Endocannabinoid Levels at Birth and Induces Adiposity and Anxiety-Like Behaviors in Male Rat Offspring. *Front Behav Neurosci* **9**: 339.

Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, Shimizu E, Kiyin M, Tsien JZ (2000). Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci* **3**: 238–244.

Ravinet Trillou C, Arnone M, Delgorge C, Gonalons N, Keane P, Maffrand J-P, *et al* (2003). Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **284**: R345-353.

Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrié P (2004). CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes* **28**: 640–648.

Reagan LP, Reznikov LR, Evans AN, Gabriel C, Mocaër E, Fadel JR (2012). The antidepressant agomelatine inhibits stress-mediated changes in amino acid efflux in the rat hippocampus and amygdala. *Brain Res* **1466**: 91–98.

- Redgate ES, Fahringer EE (1973). A Comparison of the Pituitary Adrenal Activity Elicited by Electrical Stimulation of Preoptic, Amygdaloid and Hypothalamic Sites in the Rat Brain. *Neuroendocrinology* **12**: 334–343.
- Reichelt AC (2016). Adolescent Maturational Transitions in the Prefrontal Cortex and Dopamine Signaling as a Risk Factor for the Development of Obesity and High Fat/High Sugar Diet Induced Cognitive Deficits. *Front Behav Neurosci* **10**: 189.
- Reichelt AC, Killcross S, Hambly LD, Morris MJ, Westbrook RF (2015). Impact of adolescent sucrose access on cognitive control, recognition memory, and parvalbumin immunoreactivity. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **22**: 215–224.
- Reul JM, Kloet ER de (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* **117**: 2505–2511.
- Revest J-M, Di Blasi F, Kitchener P, Rougé-Pont F, Desmedt A, Turiault M, *et al* (2005). The MAPK pathway and Egr-1 mediate stress-related behavioral effects of glucocorticoids. *Nat Neurosci* **8**: 664–672.
- Revest J-M, Kaouane N, Mondin M, Le Roux A, Rougé-Pont F, Vallée M, *et al* (2010). The enhancement of stress-related memory by glucocorticoids depends on synapsin-Ia/Ib. *Mol Psychiatry* **15**: 1125, 1140–1151.
- Revollo JR, Cidlowski JA (2009). Mechanisms generating diversity in glucocorticoid receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci* **1179**: 167–178.
- Reznikov LR, Grillo CA, Piroli GG, Pasumarthi RK, Reagan LP, Fadel J (2007). Acute stress-mediated increases in extracellular glutamate levels in the rat amygdala: differential effects of antidepressant treatment. *Eur J Neurosci* **25**: 3109–3114.
- Richardson MP, Strange BA, Dolan RJ (2004). Encoding of emotional memories depends on amygdala and hippocampus and their interactions. *Nat Neurosci* **7**: 278–285.
- Riches IP, Wilson FA, Brown MW (1991). The effects of visual stimulation and memory on neurons of the hippocampal formation and the neighboring parahippocampal gyrus and inferior temporal cortex of the primate. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **11**: 1763–1779.
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, *et al* (1994). SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* **350**: 240–244.
- Rivera P, Luque-Rojas MJ, Pastor A, Blanco E, Pavón FJ, Serrano A, *et al* (2013). Diet-dependent modulation of hippocampal expression of endocannabinoid signaling-

- related proteins in cannabinoid antagonist-treated obese rats. *Eur J Neurosci* **37**: 105–117.
- Robbe D, Alonso G, Duchamp F, Bockaert J, Manzoni OJ (2001). Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: 109–116.
- Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ (2002). Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 8384–8388.
- Roberts C, Troop N, Connan F, Treasure J, Campbell IC (2007). The effects of stress on body weight: biological and psychological predictors of change in BMI. *Obes Silver Spring Md* **15**: 3045–3055.
- Robertson D a. F, Beattie JE, Reid IC, Balfour DJK (2005). Regulation of corticosteroid receptors in the rat brain: the role of serotonin and stress. *Eur J Neurosci* **21**: 1511–1520.
- Rolls ET, Miyashita Y, Cahusac PM, Kesner RP, Niki H, Feigenbaum JD, *et al* (1989). Hippocampal neurons in the monkey with activity related to the place in which a stimulus is shown. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **9**: 1835–1845.
- Romeo RD (2010). Adolescence: a central event in shaping stress reactivity. *Dev Psychobiol* **52**: 244–253.
- Roozendaal B (2000). 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* **25**: 213–238.
- Roozendaal B (2002). Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* **78**: 578–595.
- Roozendaal B, Hernandez A, Cabrera SM, Hagewoud R, Malvaez M, Stefanko DP, *et al* (2010). Membrane-associated glucocorticoid activity is necessary for modulation of long-term memory via chromatin modification. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **30**: 5037–5046.
- Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci* **10**: 423–433.
- Roozendaal B, McGaugh JL (1997a). Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiol Learn Mem* **67**: 176–179.

- Roozendaal B, McGaugh JL (1997b). Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* **9**: 76–83.
- Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL (2006). Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 6741–6746.
- Ross RA (2009). The enigmatic pharmacology of GPR55. *Trends Pharmacol Sci* **30**: 156–163.
- Rossato JI, Bevilaqua LRM, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2007). On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **14**: 36–46.
- Rubino T, Prini P, Piscitelli F, Zamberletti E, Trusel M, Melis M, *et al* (2015). Adolescent exposure to THC in female rats disrupts developmental changes in the prefrontal cortex. *Neurobiol Dis* **73**: 60–69.
- Rubino T, Realini N, Braida D, Alberio T, Capurro V, Viganò D, *et al* (2009). The depressive phenotype induced in adult female rats by adolescent exposure to THC is associated with cognitive impairment and altered neuroplasticity in the prefrontal cortex. *Neurotox Res* **15**: 291–302.
- Rubinow MJ, Drogos LL, Juraska JM (2009). Age-related dendritic hypertrophy and sexual dimorphism in rat basolateral amygdala. *Neurobiol Aging* **30**: 137–146.
- Rueda D, Navarro B, Martinez-Serrano A, Guzman M, Galve-Roperh I (2002). The endocannabinoid anandamide inhibits neuronal progenitor cell differentiation through attenuation of the Rap1/B-Raf/ERK pathway. *J Biol Chem* **277**: 46645–46650.
- Russo P, Strazzullo P, Cappuccio FP, Tregouet DA, Lauria F, Loguercio M, *et al* (2007). Genetic variations at the endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) are associated with obesity phenotypes in men. *J Clin Endocrinol Metab* **92**: 2382–2386.
- Ryan SJ, Ehrlich DE, Rainnie DG (2016). Morphology and dendritic maturation of developing principal neurons in the rat basolateral amygdala. *Brain Struct Funct* **221**: 839–854.
- Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson N-O, Leonova J, *et al* (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* **152**: 1092–1101.

S

- Sah P, Faber ESL, Lopez De Armentia M, Power J (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* **83**: 803–834.
- Sainsbury A, Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B (1997). Adrenalectomy prevents the obesity syndrome produced by chronic central neuropeptide Y infusion in normal rats. *Diabetes* **46**: 209–214.
- Saito H, Kaba H, Sato T, Honmura A, Kawakami T, Seto K, *et al* (1989). Influence of electrical stimulation of the limbic structure on adrenocortical steroidogenesis in hypophysectomized rats. *Exp Clin Endocrinol* **94**: 387–390.
- Sakai N, Yamamoto T (2001). Effects of excitotoxic brain lesions on taste-mediated odor learning in the rat. *Neurobiol Learn Mem* **75**: 128–139.
- Salehi B, Cordero MI, Sandi C (2010). Learning under stress: the inverted-U-shape function revisited. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **17**: 522–530.
- Sandi C (2004). Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nat Rev Neurosci* **5**: 917–930.
- Sandoval-Salazar C, Ramírez-Emiliano J, Trejo-Bahena A, Oviedo-Solís CI, Solís-Ortiz MS (2016). A high-fat diet decreases GABA concentration in the frontal cortex and hippocampus of rats. *Biol Res* **49**: .
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS (1986). The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr Rev* **7**: 284–301.
- Sasaki A, Vega WC de, St-Cyr S, Pan P, McGowan PO (2013a). Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. *Neuroscience* **240**: 1–12.
- Sasaki A, Vega WC de, St-Cyr S, Pan P, McGowan PO (2013b). Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. *Neuroscience* **240**: 1–12.
- Saul ML, Helmreich DL, Callahan LM, Fudge JL (2014). Differences in amygdala cell proliferation between adolescent and young adult rats. *Dev Psychobiol* **56**: 517–528.
- Schafe GE, Nadel NV, Sullivan GM, Harris A, LeDoux JE (1999). Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA, and MAP kinase. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **6**: 97–110.
- Schapiro S, Geller E, Eiduson S (1962). Neonatal adrenal cortical response to stress and vasopressin. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* **109**: 937–941.
- Scheen AJ, Finer N, Hollander P, Jensen MD, Van Gaal LF, RIO-Diabetes Study Group (2006). Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet Lond Engl* **368**: 1660–1672.

- Schemmel R, Mickelsen O, Motawi K (1972). Conversion of dietary to body energy in rats as affected by strain, sex and ration. *J Nutr* **102**: 1187–1197.
- Schlicker E, Kathmann M (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci* **22**: 565–572.
- Schneider M, Koch M (2003). Chronic pubertal, but not adult chronic cannabinoid treatment impairs sensorimotor gating, recognition memory, and the performance in a progressive ratio task in adult rats. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **28**: 1760–1769.
- Schweinsburg AD, Brown SA, Tapert SF (2008). The influence of marijuana use on neurocognitive functioning in adolescents. *Curr Drug Abuse Rev* **1**: 99–111.
- Scoville WB, Milner B (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **20**: 11–21.
- Seidenbecher T, Reymann KG, Balschun D (1997). A post-tetanic time window for the reinforcement of long-term potentiation by appetitive and aversive stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 1494–1499.
- Seoane A, Tinsley CJ, Brown MW (2012). Interfering with Fos expression in rat perirhinal cortex impairs recognition memory. *Hippocampus* **22**: 2101–2113.
- Seri B, García-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A (2001). Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: 7153–7160.
- Sevelinges Y, Desgranges B, Ferreira G (2009). The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn Mem Cold Spring Harb N* **16**: 235–242.
- Shen M, Piser TM, Seybold VS, Thayer SA (1996). Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **16**: 4322–4334.
- Shi H, Clegg DJ (2009). Sex differences in the regulation of body weight. *Physiol Behav* **97**: 199–204.
- Shimomura Y, Bray GA, Lee M (1987). Adrenalectomy and steroid treatment in obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Métabolisme* **19**: 295–299.
- Shire D, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, Oustric D, Pessègue B, Bonnin-Cabanne O, *et al* (1996). Molecular cloning, expression and function of the murine CB2 peripheral cannabinoid receptor. *Biochim Biophys Acta* **1307**: 132–136.

- Shors TJ, Dryver E (1994). Effects of stress and long-term potentiation (LTP) on subsequent LTP and the theta burst response in the dentate gyrus. *Brain Res* **666**: 232–238.
- Shors TJ, Seib TB, Levine S, Thompson RF (1989). Inescapable versus escapable shock modulates long-term potentiation in the rat hippocampus. *Science* **244**: 224–226.
- Sjöström PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2003). Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* **39**: 641–654.
- Skaper SD, Buriani A, Dal Toso R, Petrelli L, Romanello S, Facci L, *et al* (1996). The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of excitotoxic death in cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 3984–3989.
- Sobesky JL, Barrientos RM, De May HS, Thompson BM, Weber MD, Watkins LR, *et al* (2014). High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1 β , an effect that can be prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. *Brain Behav Immun* **42**: 22–32.
- Sobotka S, Ringo JL (1993). Investigation of long-term recognition and association memory in unit responses from inferotemporal cortex. *Exp Brain Res* **96**: 28–38.
- Sousa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, Almeida OF, Paula-Barbosa MM (2000). Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience* **97**: 253–266.
- South T, Huang X-F (2008). Temporal and site-specific brain alterations in CB1 receptor binding in high fat diet-induced obesity in C57Bl/6 mice. *J Neuroendocrinol* **20**: 1288–1294.
- Speakman JR, O’Rahilly S (2012). Fat: an evolving issue. *Dis Model Mech* **5**: 569–573.
- Spear LP (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* **24**: 417–463.
- Squire LR (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* **99**: 195–231.
- Squire LR, Zola SM (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 13515–13522.
- Squire LR, Zola SM (1998). Episodic memory, semantic memory, and amnesia. *Hippocampus* **8**: 205–211.
- Stefanko DP, Barrett RM, Ly AR, Reolon GK, Wood MA (2009). Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 9447–9452.

- Stein-Behrens BA, Lin WJ, Sapolsky RM (1994). Physiological elevations of glucocorticoids potentiate glutamate accumulation in the hippocampus. *J Neurochem* **63**: 596–602.
- Stella N, Piomelli D (2001). Receptor-dependent formation of endogenous cannabinoids in cortical neurons. *Eur J Pharmacol* **425**: 189–196.
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D (1997a). A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* **388**: 773–778.
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D (1997b). A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* **388**: 773–778.
- Stewart MG, Davies HA, Sandi C, Kraev IV, Rogachevsky VV, Peddie CJ, *et al* (2005). Stress suppresses and learning induces plasticity in CA3 of rat hippocampus: a three-dimensional ultrastructural study of thorny excrescences and their postsynaptic densities. *Neuroscience* **131**: 43–54.
- Strange BA, Witter MP, Lein ES, Moser EI (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nat Rev Neurosci* **15**: 655–669.
- Stutzmann GE, McEwen BS, LeDoux JE (1998). Serotonin modulation of sensory inputs to the lateral amygdala: dependency on corticosterone. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **18**: 9529–9538.
- Suenaga T, Ichitani Y (2008). Effects of hippocampal administration of a cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 on spontaneous object and place recognition in rats. *Behav Brain Res* **190**: 248–252.
- Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M (2006). Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res* **45**: 405–446.
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, *et al* (1995). 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* **215**: 89–97.
- Surwit RS, Feinglos MN, Rodin J, Sutherland A, Petro AE, Opara EC, *et al* (1995). Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism* **44**: 645–651.
- Symonds ME, Sebert SP, Hyatt MA, Budge H (2009). Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nat Rev Endocrinol* **5**: 604–610.
- Szabo B, Dörner L, Pfreundtner C, Nörenberg W, Starke K (1998). Inhibition of GABAergic inhibitory postsynaptic currents by cannabinoids in rat corpus striatum. *Neuroscience* **85**: 395–403.

T

- Takahashi KA, Linden DJ (2000). Cannabinoid receptor modulation of synapses received by cerebellar Purkinje cells. *J Neurophysiol* **83**: 1167–1180.
- Tam J, Vemuri VK, Liu J, Bátkai S, Mukhopadhyay B, Godlewski G, *et al* (2010). Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. *J Clin Invest* **120**: 2953–2966.
- Tanda R, Salsberry PJ, Reagan PB, Fang MZ (2013). The impact of prepregnancy obesity on children's cognitive test scores. *Matern Child Health J* **17**: 222–229.
- Tanimura A, Yamazaki M, Hashimotodani Y, Uchigashima M, Kawata S, Abe M, *et al* (2010). The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase alpha mediates retrograde suppression of synaptic transmission. *Neuron* **65**: 320–327.
- 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**: E1168-1177.
- Terranova JP, Michaud JC, Le Fur G, Soubrié P (1995). Inhibition of long-term potentiation in rat hippocampal slices by anandamide and WIN55212-2: reversal by SR141716 A, a selective antagonist of CB1 cannabinoid receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **352**: 576–579.
- Thompson RA, Nelson CA (2001). Developmental science and the media. Early brain development. *Am Psychol* **56**: 5–15.
- 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**: 163–178.
- Touzani K, Sclafani A (2005). Critical role of amygdala in flavor but not taste preference learning in rats. *Eur J Neurosci* **22**: 1767–1774.
- Tozuka Y, Kumon M, Wada E, Onodera M, Mochizuki H, Wada K (2010). Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. *Neurochem Int* **57**: 235–247.
- Tozuka Y, Wada E, Wada K (2009a). Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* **23**: 1920–1934.

- Tozuka Y, Wada E, Wada K (2009b). Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* **23**: 1920–1934.
- Treccani G, Musazzi L, Perego C, Milanese M, Nava N, Bonifacino T, *et al* (2014). Stress and corticosterone increase the readily releasable pool of glutamate vesicles in synaptic terminals of prefrontal and frontal cortex. *Mol Psychiatry* **19**: 433–443.
- Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **21**: 1628–1634.
- Tsou K, Mackie K, Sañudo-Peña MC, Walker JM (1999). Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation. *Neuroscience* **93**: 969–975.
- Tsutsumi T, Kobayashi T, Ueda H, Yamauchi E, Watanabe S, Okuyama H (1994). Lysophosphoinositide-specific phospholipase C in rat brain synaptic plasma membranes. *Neurochem Res* **19**: 399–406.
- 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**: 14146–14150.
- Tully T (1997). Regulation of gene expression and its role in long-term memory and synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 4239–4241.
- Turu G, Hunyady L (2010). Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor. *J Mol Endocrinol* **44**: 75–85.

U

- Ueda H, Kobayashi T, Kishimoto M, Tsutsumi T, Okuyama H (1993). A possible pathway of phosphoinositide metabolism through EDTA-insensitive phospholipase A1 followed by lysophosphoinositide-specific phospholipase C in rat brain. *J Neurochem* **61**: 1874–1881.
- Ujike H, Morita Y (2004). New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: cannabinoid receptors and schizophrenia. *J Pharmacol Sci* **96**: 376–381.
- Ulrich-Lai YM, Herman JP (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* **10**: 397–409.

V

- Valladolid-Acebes I, Fole A, Martín M, Morales L, Cano MV, Ruiz-Gayo M, *et al* (2013a). 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* **106**: 18–25.
- Valladolid-Acebes I, Fole A, Martín M, Morales L, Cano MV, Ruiz-Gayo M, *et al* (2013b). 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* **106**: 18–25.
- Valladolid-Acebes I, Merino B, Principato A, Fole A, Barbas C, Lorenzo MP, *et al* (2012). High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **302**: E396-402.
- Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S, RIO-Europe Study Group (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet Lond Engl* **365**: 1389–1397.
- Vandevorde S, Lambert DM (2007). The multiple pathways of endocannabinoid metabolism: a zoom out. *Chem Biodivers* **4**: 1858–1881.
- Vardaris RM, Weisz DJ (1977). delta9-tetrahydrocannabinol and the hippocampus: effects on CA1 field potentials in rats. *Brain Res Bull* **2**: 181–187.
- Venero C, Borrell J (1999). Rapid glucocorticoid effects on excitatory amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *Eur J Neurosci* **11**: 2465–2473.
- Verty ANA, Allen AM, Oldfield BJ (2009). The effects of rimonabant on brown adipose tissue in rat: implications for energy expenditure. *Obes Silver Spring Md* **17**: 254–261.
- Vincent P, Marty A (1993). Neighboring cerebellar Purkinje cells communicate via retrograde inhibition of common presynaptic interneurons. *Neuron* **11**: 885–893.
- Vinuesa A, Pomilio C, Menafrá M, Bonaventura MM, Garay L, Mercogliano MF, *et al* (2016). Juvenile exposure to a high fat diet promotes behavioral and limbic alterations in the absence of obesity. *Psychoneuroendocrinology* **72**: 22–33.
- 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 Off J Soc Neurosci* **22**: 6810–6818.

Vyas A, Pillai AG, Chattarji S (2004). Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience* **128**: 667–673.

W

Wager-Miller J, Westenbroek R, Mackie K (2002). Dimerization of G protein-coupled receptors: CB1 cannabinoid receptors as an example. *Chem Phys Lipids* **121**: 83–89.

Walter L, Dinh T, Stella N (2004). ATP induces a rapid and pronounced increase in 2-arachidonoylglycerol production by astrocytes, a response limited by monoacylglycerol lipase. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **24**: 8068–8074.

Wan H, Warburton EC, Zhu XO, Koder TJ, Park Y, Aggleton JP, *et al* (2004). Benzodiazepine impairment of perirhinal cortical plasticity and recognition memory. *Eur J Neurosci* **20**: 2214–2224.

Wang M, Hill MN, Zhang L, Gorzalka BB, Hillard CJ, Alger BE (2012). Acute restraint stress enhances hippocampal endocannabinoid function via glucocorticoid receptor activation. *J Psychopharmacol Oxf Engl* **26**: 56–70.

Wang M, Yang Y, Dong Z, Cao J, Xu L (2006). NR2B-containing N-methyl-D-aspartate subtype glutamate receptors regulate the acute stress effect on hippocampal long-term potentiation/long-term depression in vivo. *Neuroreport* **17**: 1343–1346.

Watanabe Y, Gould E, McEwen BS (1992). Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* **588**: 341–345.

Wei Q, Lu X-Y, Liu L, Schafer G, Shieh K-R, Burke S, *et al* (2004). Glucocorticoid receptor overexpression in forebrain: a mouse model of increased emotional lability. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 11851–11856.

West DB, Waguespack J, McCollister S (1995). Dietary obesity in the mouse: interaction of strain with diet composition. *Am J Physiol* **268**: R658-665.

Williams CM, Kirkham TC (1999). Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* **143**: 315–317.

Williams KW, Elmquist JK (2012). From neuroanatomy to behavior: central integration of peripheral signals regulating feeding behavior. *Nat Neurosci* **15**: 1350–1355.

Wilson RI, Nicoll RA (2001). Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* **410**: 588–592.

- Wise LE, Thorpe AJ, Lichtman AH (2009). Hippocampal CB(1) receptors mediate the memory impairing effects of Delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* **34**: 2072–2080.
- Witting A, Walter L, Wacker J, Möller T, Stella N (2004). P2X7 receptors control 2-arachidonoylglycerol production by microglial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 3214–3219.
- Wolkowitz OM, Reus VI, Weingartner H, Thompson K, Breier A, Doran A, *et al* (1990). Cognitive effects of corticosteroids. *Am J Psychiatry* **147**: 1297–1303.
- Wong TP, Howland JG, Robillard JM, Ge Y, Yu W, Titterness AK, *et al* (2007). Hippocampal long-term depression mediates acute stress-induced spatial memory retrieval impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 11471–11476.
- Wood GE, Young LT, Reagan LP, Chen B, McEwen BS (2004). Stress-induced structural remodeling in hippocampus: prevention by lithium treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 3973–3978.
- Wosiski-Kuhn M, Erion JR, Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CE, Stranahan AM (2014). Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. *Psychoneuroendocrinology* **42**: 165–177.
- 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**: 1699–1707.

X

- Xiang JZ, Brown MW (1998). Differential neuronal encoding of novelty, familiarity and recency in regions of the anterior temporal lobe. *Neuropharmacology* **37**: 657–676.
- Xu L, Anwyl R, Rowan MJ (1997). Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature* **387**: 497–500.
- Xu L, Holscher C, Anwyl R, Rowan MJ (1998). Glucocorticoid receptor and protein/RNA synthesis-dependent mechanisms underlie the control of synaptic plasticity by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**: 3204–3208.

Y

- Yamasaki M, Hashimoto K, Kano M (2006). Miniature synaptic events elicited by presynaptic Ca²⁺ rise are selectively suppressed by cannabinoid receptor activation in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **26**: 86–95.

- Yang C-H, Huang C-C, Hsu K-S (2004). Behavioral stress modifies hippocampal synaptic plasticity through corticosterone-induced sustained extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase activation. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **24**: 11029–11034.
- Yang C-H, Huang C-C, Hsu K-S (2005). Behavioral stress enhances hippocampal CA1 long-term depression through the blockade of the glutamate uptake. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **25**: 4288–4293.
- Yang C-H, Huang C-C, Hsu K-S (2006). Novelty exploration elicits a reversal of acute stress-induced modulation of hippocampal synaptic plasticity in the rat. *J Physiol* **577**: 601–615.
- Yonelinas AP, Otten LJ, Shaw KN, Rugg MD (2005). Separating the brain regions involved in recollection and familiarity in recognition memory. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* **25**: 3002–3008.
- Yoshino H, Miyamae T, Hansen G, Zambrowicz B, Flynn M, Pedicord D, *et al* (2011). Postsynaptic diacylglycerol lipase mediates retrograde endocannabinoid suppression of inhibition in mouse prefrontal cortex. *J Physiol* **589**: 4857–4884.
- Yuen EY, Liu W, Karatsoreos IN, Feng J, McEwen BS, Yan Z (2009). Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 14075–14079.
- Yuen EY, Liu W, Karatsoreos IN, Ren Y, Feng J, McEwen BS, *et al* (2011). Mechanisms for acute stress-induced enhancement of glutamatergic transmission and working memory. *Mol Psychiatry* **16**: 156–170.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, *et al* (2005). Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet Lond Engl* **366**: 1640–1649.

Z

- Zhou D, Song ZH (2001). CB1 cannabinoid receptor-mediated neurite remodeling in mouse neuroblastoma N1E-115 cells. *J Neurosci Res* **65**: 346–353.
- Zhu XO, McCabe BJ, Aggleton JP, Brown MW (1997). Differential activation of the rat hippocampus and perirhinal cortex by novel visual stimuli and a novel environment. *Neurosci Lett* **229**: 141–143.

Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (1999). Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**: 5780–5785.